

**POTENSI AIR ALKALI TERHADAP PERUBAHAN HISTOLOGIS HEPAR
TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI *HIGH-FAT DIET***

Karya Tulis Ilmiah

**untuk Memenuhi Sebagian Syarat
Memperoleh Derajat Sarjana Kedokteran**

**Program Studi Kedokteran
Program Sarjana**



**Oleh:
Muhammad Hably Hukma Aula
22711085**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2025**

**POTENCY OF ALKALINE WATER ON HEPATIC HISTOLOGICAL CHANGES
OF HIGH FAT DIET-INDUCED WISTAR RATS**

Scientific Writing

As A Requirement for the Degree of Undergraduate Program in Medicine

Undergraduate Program in Medicine



By:

**Muhammad Hably Hukma Aula
22711085**

**FACULTY OF MEDICINE
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2025**

HALAMAN PENGESAHAN

**POTENSI AIR ALKALI TERHADAP PERUBAHAN HISTOLOGIS HEPAR
TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI *HIGH FAT DIET***

Karya Tulis Ilmiah

Disusun dan diajukan oleh:

**Muhammad Hably Hukma Aula
22711085**

**Telah diseminarkan tanggal: 3 Juni 2025
dan telah disetujui oleh:**

Penguji

Pembimbing


**Dr. dr. Ika Fidianingsih, M.Sc
NIK 057110201**


**Dr. dr. Isnatin Miladiyah, M.Kes.
NIK 017110409**

**Ketua Program Studi Kedokteran
Program Sarjana**


**dr. Pariawan Lutfi Ghazali, M.Kes
NIK 017110413**

**Disahkan
Dekan**




**Dr. dr. Isnatin Miladiyah, M.Kes
NIK 017110409**

HALAMAN PERNYATAAN PUBLIKASI

Bismillahirrahmaanirrahiim

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya

Nama : Muhammad Hably Hukma Aula
NIM : 22711085
Judul KTI : Potensi Air Alkali Terhadap Perubahan Histologis Hepar Tikus
Wistar yang Diinduksi High Fat Diet.
Pembimbing : Dr. dr. Isnatin Miladiyah, M.Kes

Dengan ini menyatakan bahwa:
(pilih salah satu dengan memberi tanda centang)

- Memberi Ijin** kepada Perpustakaan FK UII mempublikasikan di repository UII berupa seluruh bagian Laporan KTI (tanpa lampiran).
- Memberi Ijin** kepada Perpustakaan FK UII mempublikasikan di repository UII berupa Abstrak saja karena akan dipublikasikan di jurnal.


Demikian pernyataan ini dibuat dengan sesungguhnya dan dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 28 April 2025

Pembimbing


Dr. dr. Isnatin Miladiyah, M.Kes
NIK 017110409

Yang Menyatakan


Muhammad Hably Hukma Auka
NIM 22711085

HALAMAN PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI

Bismillahirrahmaanirrahiim

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya

Nama : Muhammad Hably Hukma Aula
NIM : 22711085
Judul KTI : Potensi Air Alkali Terhadap Perubahan Histologi Tikus Wistar
Yang Diinduksi *High-Fat Diet*
Pembimbing : Dr. dr. Isnatin Miladiyah, M.Kes.

Dengan ini saya menyatakan bahwa:

1. Karya Tulis Ilmiah ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.
2. ~~Terdapat~~/ Tidak terdapat*) keterlibatan *Artificial Intelligence* (AI) dalam penyelesaian Karya Tulis Ilmiah.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan sesungguhnya dan dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 20 Mei 2025



Muhammad Hably Hukma Aula
NIM 22711085

*) coret yang tidak sesuai

HALAMAN PERNYATAAN KESESUAIAN ROAD MAP PENELITIAN FK UII

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muhammad Hably Hukma Aula
NIM : 22711085

Dengan ini menyatakan bahwa penelitian yang saya lakukan dengan judul Potensi Air Alkali Terhadap Perubahan Histologi Tikus Wistar Yang Diinduksi *High-Fat Diet* telah **SESUAI** dengan *road map* penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dengan topik sebagai berikut:

No	Road Map Penelitian/Pengabdian FK UII	beri centang
1	Inovasi Bidang Kedokteran untuk Meningkatkan Kualitas Sumber Daya dan Pelayanan Kesehatan dengan Pendekatan Kedokteran Holistik	
	a. Pengembangan Pangan Fungsional, Obat dan kosmetik Halal	v
	b. Inovasi teknologi dan metode untuk meningkatkan kualitas dan pelayanan kesehatan	
	c. Bioetik, medikolegal dan Hukum Kesehatan untuk perbaikan kualitas layanan kesehatan	
	d. Studi Neuroscience, Neurobehavior, Neuropsikiatri, dan Penyakit Metabolik Degeneratif	
	e. Perbaikan kualitas lingkungan, perilaku, sistem pendukung untuk peningkatan derajat kesehatan	
f. Inovasi berkelanjutan untuk meningkatkan kualitas sumber daya kesehatan		
2	Pengembangan Herbal Medicine dan Fitofarmaka untuk Pengembangan Kesehatan	
3	Inovasi dalam Upaya Promotif, Preventif, Kuratif dan Rehabilitatif untuk Peningkatan Pelayanan Kesehatan Haji	
	a. Optimalisasi upaya promotif, preventif untuk mencapai kondisi istithaah kesehatan jemaah haji dan umroh	
	b. Peningkatan kualitas layanan jemaah haji di tanah suci	
c. Optimalisasi kesehatan jemaah dan lingkungannya paska haji dan umroh		


Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan dengan sebenar-benarnya, bilamana di kemudian hari ditemukan ketidaksesuaian dengan pernyataan ini, maka saya bersedia diproses sesuai dengan ketentuan yang berlaku.

Yogyakarta, 28 April 2025

Pembimbing


Dr. dr. Isnatin Miladiyah M.Kes
NIK 017110409

Yang Menyatakan


Muhammad Hably Hukma Aula
22711085

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL (BAHASA INDONESIA)	i
HALAMAN JUDUL (BAHASA INGGRIS)	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN PUBLIKASI.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI.....	v
HALAMAN PERNYATAAN KESESUAIAN ROAD MAP PENELITIAN.....	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
KATA PENGANTAR	xii
INTISARI	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Keaslian Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Telaah Pustaka	6
2.1.1 Hiperlipidemia	6
2.1.2 Simvastatin	13
2.1.3 Air Alkali	16
2.2 Keterkaitan dengan Ayat Al Qur'an dan/atau Hadist.....	20
2.3 Kerangka Teori.....	21
2.4 Kerangka Konsep.....	21
2.5 Hipotesis.....	21
BAB III. METODE PENELITIAN	22
3.1 Jenis dan Desain Penelitian	22
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	22
3.3 Subjek Penelitian	22
3.4 Kriteria Inklusi	23
3.5 Kriteria Eksklusi.....	23
3.6 Variabel	23
3.6.1 Variabel Bebas.....	23
3.6.2 Variabel Terikat.....	23
3.6.3 Variabel Kontrol	23
3.7 Definisi Operasional.....	23
3.7.1. Tikus Model Hiperlipidemia	23
3.7.2. Simvastatin.....	24

3.7.3. Air Alkali.....	24
3.7.4. Gambaran Histologis Hepar.....	24
3.8 Instrumen Penelitian	25
3.8.1. Alat Penelitian.....	25
3.8.2. Bahan Penelitian.....	25
3.9 Alur Penelitian.....	25
3.10 Analisis Data	25
3.11 Etika Penelitian.....	26
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	27
4.1 Hasil.....	27
4.1.1 Hasil Pengukuran pH Air	27
4.1.2 Hasil Pengamatan Histologi Hepar	27
4.1.3 Hasil Analisis Intraclass Correlation Coefficient (ICC).....	29
4.1.4 Hasil Analisis Histologi Hepar	29
4.2 Pembahasan.....	30
4.3 Limitasi Penelitian	34
BAB V. SIMPULAN	35
5.1 Simpulan	35
5.2 Saran	35
DAFTAR PUSTAKA.....	36
LAMPIRAN.....	44

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Keaslian Penelitian.....	4
Tabel 2. Distribusi Frekuensi Sel yang Mengalami Edematous Hepatocyte	30
Tabel 3. Hasil Uji Mann Whitney	30

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Jalur metabolisme lipid.....	7
Gambar 2.	Jalur Mevalonate	8
Gambar 3.	Mekanisme HFD dalam Hiperlipidemia	10
Gambar 4.	Mekanisme Degenerasi Hepar	10
Gambar 5.	Gambaran Degenerasi Hepar Akibat Hiperlipidemia.....	12
Gambar 6.	Mekanisme kerja statin	14
Gambar 7.	Mekanisme Patogenik Simvastatin	16
Gambar 8.	Kerangka Teori.....	21
Gambar 9.	Kerangka Konsep	21
Gambar 10.	Alur Penelitian	25
Gambar 11.	Berbagai Gambar Histologi Hepar Tikus.....	28

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. <i>Ethical clearence</i>	44
Lampiran 2. Hasil pengukuran pH air	45
Lampiran 3. Hasil SPSS dan Excel.....	46
Lampiran 4. Komposisi Intervensi Tikus.....	47

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Warahamatullahi Wabarakatuh

Puji syukur kami panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat, hidayah, serta karunia-Nya sehingga kami dapat menyelesaikan penyusunan karya tulis ilmiah ini dengan baik. Shalawat serta salam senantiasa tercurah kepada Nabi Muhammad SAW, yang telah membimbing umatnya menuju kehidupan yang penuh berkah.

Karya tulis dengan judul “Potensi Air Alkali Terhadap Perubahan Histologis Hepar Tikus Wistar yang Diinduksi High Fat Diet” ini merupakan hasil dari perjalanan intelektual dan pengalaman yang saya dapatkan selama menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia. Karya tulis ini ditujukan untuk memenuhi salah satu syarat kelulusan untuk memperoleh gelar sarjana Kedokteran di program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Indonesia.

Dalam proses yang panjang ini, saya ingin mengucapkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan, dukungan, bimbingan, dan motivasi sehingga Karya tulis ilmiah dengan dapat tersusun dengan baik hingga akhir. Dengan ini saya ingin memberikan penghargaan dan terimakasih kepada pihak yang terlibat baik secara langsung maupun tidak langsung, khususnya kepada

1. Dr. dr. Isnatin Miladiyah, M.Kes. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia sekaligus dosen Pembimbing yang telah memberikan bimbingan, arahan, nasihat, serta motivasi.
2. Dr. dr. Ika Fidianingsih, M.Sc. selaku Sekertaris Prodi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia
3. dr. Pariawan Lutfi Ghazali, M.Kes selaku Ketua Program Studi Kedokteran Program Sarjana Universitas Islam Indonesia.
4. dr. Muflihah Rizkawati, M.Biomed. selaku Dosen Pembimbing Akademik (DPA) yang telah memberikan dukungan dan membersamai penulis dari awal hingga akhir masa studi di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia.
5. Kedua orangtua penulis, Bapak Agus Mansur dan Ibu Ulin Ni'mah, yang selalu memberikan doa, kasih sayang, dukungan, serta motivasi terbesar kepada penulis hingga sampai di titik ini untuk mempersembahkan gelar sarjana.
6. Keluarga penulis, Nayla Fauziya Aulia, Muhammad Hanif Annajmutsaqib, Fatma Adzkiya Tsuroya, terkhusus pada Budhe Yana, yang telah memberikan dukungan dalam penulisan karya ilmiah.
7. Laboran Departemen Histologi dan Patologi Anatomi, bu Sri Widayati, A.Md dan mbak Dinda Luki Tiara Isti, A.Md. AK, yang telah memberikan kesempatan untuk mengoperasikan mikroskop di laboratorium selama proses pengamatan preparat dan pengambilan data.
8. Tim penelitian PKM BIOGLASS, Muhammad Rafi Falah yang telah memberikan kesempatan untuk bergabung dalam penelitian ini, Virgi Olivia yang telah banyak membantu dalam proses penelitian, Mitsaqu Ghaliza Abdansyakur, Ilham Mukti Firmansyah, Imadul Aqil Yuwono, Najib Widya Priyangga, dan Vioravanti Anugraheni Gusty Ariant yang telah membersamai dan membantu dalam proses penelitian serta diizinkan untuk menggunakan bahan biologi tersimpan penelitian.

9. Sahabat Liburan: Hayya Bilqiz Ezzana, Muhammad Raihan Hafidz, Dede Syifa Izzatul Aulia yang selalu memberikan dukungan dan semangat belajar selama ini, sekaligus menjadi *second observer* pada penelitian kali ini.
10. Teman-teman “AVICENNA” angkatan 2022 FK UII, tempat kita bertumbuh dan bermetamorfosis bersama. Terkhusus untuk semua admiral yang turut mendukung serta meramaikan kegiatan seminar proposal dan seminar hasil penulis.
11. Teman-teman BPH AORTA; Qola Putrama Muhammad Nashaq, Muhammadiyah Ramadhanisa Wijayanto, Sonia Velsinta Putri Padang, Naura Athiya, Naila Fadya, Arlan Naufal Fadhilarifna, Vera Safira Mutiara Putri, Tsaqifa Kalama, Tsaqif Fattan, Nikolas Kiesa, Azizah Isytisyahdiah, Kayla Emely Lubis, Garda Muhammad Asyfaq Ubaidil Wadud, Lintang Maulidya Maharani.
12. Teman-teman KKN gelokk unit 283; Fauzan, Aufa, Felix, Aul, Indah, Intan, Nisa, Ayu.
13. Teman-teman kelompok tutorial tahun pertama, tahun kedua, dan tahun ketiga yang selalu memberikan dukungan dalam penulisan KTI.
14. Teman-teman *fake doctor* yang telah memberikan dukungan dan telah menghibur penulis.
15. Teman-teman asisten laboratorium anatomi yang telah memberikan suka duka dan sharing ilmu bersama.
16. Organisasi tempat penulis berkembang; BAPIN-ISMKI, SMART FK UII, CMIA FK UII, LEM FK UII yang selalu memberikan dukungan semangat.
17. Seluruh pihak yang telah memberi dukungan dan doa kepada penulis baik dalam proses penelitian, penyusunan karya tulis, dan di kehidupan sehari-hari yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa karya tulis ilmiah ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari berbagai pihak. Akhir kata, penulis berharap karya tulis ilmiah ini dapat memberikan kontribusi bagi perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya dalam bidang kedokteran, dan memberikan keberkahan kepada semua pihak.

Wassalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

Yogyakarta, 12 Mei 2025
Muhammad Hably Hukma Aula
22711085

POTENSI AIR ALKALI TERHADAP PERUBAHAN HISTOLOGIS HEPAR TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI HIGH FAT DIET

Muhammad Hably Hukma Aula¹, Isnatin Miladiyah²

¹Mahasiswa Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Indonesia

²Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Indonesia

Email : hablyhukmaula@gmail.com

INTISARI

Latar Belakang: Gaya hidup modern yang ditandai dengan penurunan aktivitas fisik dan pola makan yang buruk telah menyebabkan peningkatan kasus hiperlipidemia dan *non-alcoholic fatty liver disease* (NAFLD) secara global. Meskipun pemahaman mengenai patogenesis dan epidemiologi NAFLD telah berkembang, hingga saat ini belum tersedia terapi farmakologis yang disetujui. Modifikasi gaya hidup menjadi pendekatan utama, namun kepatuhan pasien relatif rendah. Oleh karena itu, diperlukan alternatif pencegahan baru. Salah satu yang tengah dikaji adalah air alkali hasil distilasi *bioglass*, yang diduga dapat mengurangi akumulasi lemak hati, meskipun bukti ilmiahnya masih terbatas.

Tujuan: Mengetahui efek pemberian air alkali hasil distilasi *bioglass* terhadap perubahan histologis hepar tikus Wistar yang diinduksi dengan diet tinggi lemak (*high-fat diet*/HFD).

Metode: Penelitian ini menggunakan desain eksperimental sejati dengan metode *post-test only randomized control group*. Sebanyak 21 ekor tikus Wistar jantan berusia 12-16 minggu dibagi dalam empat kelompok: (1) kontrol sehat (diberi pakan standar), (2) kontrol negatif (HFD tanpa terapi), (3) perlakuan simvastatin (HFD + simvastatin 0,18 mg/hari), dan (4) perlakuan air alkali (HFD + air alkali 3 mL/hari). Induksi HFD diberikan selama 8 minggu. Pengamatan histologis hepar dilakukan dengan pewarnaan Hematoxylin-Eosin untuk menilai gambaran *edematous hepatocyte*.

Hasil: Hasil menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok ($p = 0,004$). Kelompok kontrol negatif (HFD tanpa terapi) memiliki persentase edema tertinggi (68,73%), sedangkan kelompok perlakuan air alkali menunjukkan persentase edema yang lebih rendah (37,25%), hampir setara dengan kelompok kontrol sehat (39%). Kelompok perlakuan simvastatin menunjukkan penurunan edema hingga 51,18%.

Kesimpulan: Pemberian air alkali hasil distilasi *bioglass* memiliki potensi untuk melindungi hepar dari kerusakan akibat diet tinggi lemak dan dapat menjadi strategi pendukung dalam pencegahan perkembangan NAFLD di masa depan.

Kata kunci: Air alkali, *bioglass*, hiperlipidemia, NAFLD, diet tinggi lemak, tikus wistar, *edematous hepatocyte*.

POTENCY OF ALKALINE WATER ON HISTOLOGICAL CHANGES OF HIGH FAT DIET-INDUCED WISTAR RAT LIVER

Muhammad Hably Hukma Aula¹, Isnatin Miladiyah²

¹*Medical Student, Faculty of Medicine, Universitas Islam Indonesia*

²*Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Universitas Islam Indonesia*

Email : hablyhukmaula@gmail.com

ABSTRACT

Background: Contemporary lifestyles marked by less physical activity and suboptimal dietary habits have resulted in a heightened prevalence of hyperlipidemia and non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) worldwide. Notwithstanding an increasing comprehension of the etiology and epidemiology of NAFLD, there is now no sanctioned pharmacological treatment. Lifestyle change is the primary strategy; nevertheless, patient adherence is frequently inadequate. Consequently, novel preventive alternatives are requisite. Alkaline water derived from bioglass is under investigation for its potential to diminish liver fat storage. However, scientific proof remains scarce.

Objective: To assess the impact of bioglass distilled alkaline water on histological alterations in the livers of Wistar rats subjected to a high-fat diet (HFD).

Method: This study employed a genuine experimental design utilizing a post-test-only randomized control group methodology. Twenty-one male Wistar rats, aged 12 to 16 weeks, were categorized into four groups: (1) healthy control (regular diet), (2) negative control (high-fat diet without intervention), (3) simvastatin treatment (high-fat diet + simvastatin 0.18 mg/day), and (4) alkaline water treatment (high-fat diet + alkaline water 3 mL/day). HFD induction was administered for 8 weeks. Histological examination of hepatic tissue was conducted using hematoxylin-Eosin staining to evaluate edematous hepatocytes.

Result: The findings indicated a statistically significant difference between the groups ($p = 0.004$). The negative control group (HFD without therapy) exhibited the highest edema percentage (68.73%), whereas the alkaline water treatment group demonstrated a reduced edema percentage (37.25%), nearly comparable to the healthy control group (39%). The simvastatin therapy group exhibited a decrease in edema to 51.18%.

Conclusion: Administering alkaline water derived from bioglass may safeguard the liver against damage generated by a high-fat diet. It could serve as a supportive technique in preventing NAFLD progression in the future.

Keywords: *Alkaline water, bioglass, hyperlipidemia, non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), high-fat diet, Wistar rats, edematous hepatocytes.*

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kemajuan teknologi telah memfasilitasi pelaksanaan tugas sehari-hari bagi individu. Dari sini, muncul gaya hidup baru yang ditandai dengan menurunnya tingkat aktivitas fisik, yang biasanya disebut sebagai gaya hidup *sedentary*. Gaya hidup ini tidak hanya berkorelasi dengan rasa malas dalam mengerjakan sesuatu, tetapi juga dapat terjadi pada mereka yang sibuk dengan rutinitas sehari-hari sehingga kurang memiliki kesempatan untuk melakukan aktivitas fisik. Karena pola makan yang tidak seimbang dan berlebihan serta kurangnya aktivitas fisik, saat ini banyak orang memiliki risiko lebih tinggi untuk mengalami peningkatan kadar lemak dan kolesterol dalam pembuluh darah atau yang sering disebut sebagai hiperlipidemia (Mandriyarini, 2017). Peningkatan kolesterol yang menyebabkan hiperlipidemia dapat memicu peningkatan *reactive oxygen species* (ROS). ROS merupakan molekul tidak stabil yang dapat menyebabkan kerusakan sel melalui peroksidasi lipid. Proses ini memulai penurunan aktivitas enzim lipoprotein lipase (LPL) yang menyebabkan peningkatan kadar trigliserida (TG) dalam sel hati, dan pada akhirnya berujung pada akumulasi lemak di sekitar sel hati (Vekic *et al.* 2023).

Hati adalah organ metabolisme penting dalam tubuh manusia dan kerusakan hati jangka panjang menyebabkan kerusakan sel hepatosit (Lee and Lee 2021). Penimbunan lemak melebihi 5% dari total berat hati dapat menyebabkan *fatty liver*. Hal ini disebabkan oleh disregulasi metabolisme di dalam hati yang berakibat meningkatnya kadar asam lemak dan karbohidrat sebagai penyebab utama *fatty liver* (Armanto, 2020). *Fatty liver* merupakan keadaan yang dapat memicu *non-alcoholic fatty liver disease* (NAFLD), *non-alcoholic steatohepatitis* (NASH), sirosis, dan kanker hati (Jahn *et al.* 2019). Kejadian NAFLD diproyeksikan meningkat hingga 56% dalam 10 tahun ke depan sehingga perlu menjadi perhatian. NAFLD merupakan penyebab *hepatocellular carcinoma* (HCC) yang paling cepat berkembang di AS, Prancis, dan Inggris. Secara global, prevalensi HCC terkait NAFLD meningkat seiring dengan obesitas yang semakin bertambah (Huang *et al.* 2021).

Peningkatan prevalensi NAFLD, kemajuan pengetahuan dalam memahami epidemiologi penyakit, patogenesis dan mengidentifikasi target terapeutik, belum disertai dengan perkembangan di bidang terapi. Saat ini, belum ada terapi yang

disetujui FDA untuk penyakit ini. Oleh karena itu diperlukan pendekatan sains ke arah langkah kuratif, terutama dalam memodifikasi gaya hidup (Raza 2021). Hal ini dapat dilakukan dengan menjaga pola makan dan melakukan aktivitas fisik. Modifikasi gaya hidup diharapkan dapat menekan kejadian hiperlipidemia sebagai salah satu penyebab NAFLD. Tetapi modifikasi gaya hidup dengan menjaga pola makan dan aktivitas fisik saja tidak cukup untuk mengarah ke langkah kuratif disebabkan dibutuhkan *compliance* yang tinggi agar mendapatkan efek yang maksimal. Oleh karena itu perlu ada pendekatan lain untuk meningkatkan efikasi dari penjagaan pola makan dan aktivitas fisik (Semmler *et al.* 2021).

Di tengah meningkatnya prevalensi hiperlipidemia, konsumsi air mineral kini telah menjadi budaya masyarakat Indonesia. Hal ini membuat para pebisnis berlomba-lomba untuk menemukan inovasi bisnis air mineral, salah satunya dengan membuat air dengan kandungan pH tinggi (air alkali) (Hidayat *et al.*, 2024). Banyak klaim menyebutkan bahwa air alkali memiliki banyak manfaat, di antaranya dapat mengurangi perlemakan pada liver, akan tetapi hingga saat ini klaim tersebut masih menjadi kontroversi. Hal ini merupakan suatu hal yang wajar terjadi karena profesional kesehatan mempercayai bahwa terapi farmakologis adalah terapi yang terbaik yang dapat diberikan kepada pasien (Siswantoro, 2021).

Literatur yang membuktikan bahwa air alkali dapat mengurangi perlemakan pada liver masih minim, karena selama ini air alkali diketahui bermanfaat hanya sebagai inhibitor hormon *catecholamine* serta penurunan absorpsi kolesterol, lipoprotein densitas rendah, dan trigliserida pada usus (Fasihi *et al.*, 2021; Costa-Vieira, 2019; Todorovic *et al.*, 2023). Mekanisme supresi penghambatan absorpsi kolesterol menggunakan sistem osmolaritas, karena air alkali memiliki kadar ionisasi yang sehingga menyebabkan osmolaritas dalam lumen lebih tinggi, akibatnya penyerapan kolesterol menjadi terhambat (Aslanabadi *et al.* 2014; Hatano *et al.* 2023). Air alkali tidak hanya menurunkan absorpsi saja, namun juga memiliki aktivitas penghambatan eksitasi *asetil-KoA karboksilase* (ACC), asam lemak sintase, dan *peroxisome proliferator-activated receptor-alpha* (PPAR). Protein-protein tersebut bertanggung jawab dalam sintesis *de novo* dan degradasi asam lemak, sehingga berpotensi untuk menurunkan kadar kolesterol dan LDL dalam serum dan dapat menurunkan risiko *fatty liver* (Lee and Lee, 2021).

Salah satu metode pembuatan air alkali adalah menggunakan distilasi *bioglass*. *Bioglass* atau *bioactive glass* kerap kali mendapat banyak sorotan publik

terkait efikasi dan manfaatnya, kadang kala *bioglass* digunakan untuk bisnis *multi-level marketing* (MLM) (Fitri *et al.* 2021). *Bioglass* merupakan kaca bioaktif yang memiliki komposisi seperti silikon dioksida, natrium oksida, kalsium oksida, dan fosfor pentoksida. Dalam dunia medis, *bioglass* digunakan sebagai bahan implan untuk memperbaiki dan mengganti tulang yang rusak. Selain itu *bioglass* juga digunakan sebagai terapi untuk maturisasi dari jaringan kolagen dan bermanfaat sebagai anti korosif pada tulang. Tingkat sitotoksitas *bioglass* rendah sehingga aman untuk digunakan (Benetti *et al.* 2024). *Bioglass* terdiri atas struktur amorf karbonat hidroksiapatit $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})$. Proses distilasi larutan cair dengan *bioglass* menyebabkan pelepasan ion mineral seperti fosfat, kalsium, kalium, natrium, dan silikat yang dapat meningkatkan pH air (Filip *et al.* 2021).

Kemampuan air alkali distilasi *bioglass* dalam meningkatkan pH air guna mencegah perlemakan hati menjadi studi yang menarik untuk menunjang langkah kuratif dari NAFLD. Sampai saat ini belum banyak studi terkait efikasi dari *bioglass* dan dapat menjawab pertanyaan masyarakat terkait klaim tentang efikasi *bioglass* (Fitri *et al.* 2021). Oleh karena itu perlu adanya studi lebih mendalam terkait potensi air alkali distilasi *bioglass* terhadap penurunan perlemakan pada hati. *High-fat diet* digunakan pada penelitian kali ini sebagai salah satu metode intervensi. Penggunaan *high-fat diet* diharapkan dapat membuat tikus mengalami hiperlipidemia dan NAFLD sehingga ketika diberikan air alkali distilasi *bioglass*, dapat diketahui efikasi dan manfaat air suling *bioglass* terhadap NAFLD.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana efek penggunaan air alkali terhadap perubahan histologis hepar tikus wistar yang diinduksi *high-fat diet*?

1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui efek penggunaan air alkali terhadap perubahan histologis hepar tikus wistar yang diinduksi *high-fat diet*.

1.4 Keaslian Penelitian

Tabel 1. Keaslian Penelitian

Judul	Penulis, Tahun Penulisan	Metode	Hasil	Perbedaan	
				Penelitian Dahulu	Penelitian Sekarang
<i>Comparison of the Improvement Effect of Deep Ocean Water with Different Mineral Composition on the High Fat Diet-Induced Blood Lipid and Nonalcoholic Fatty Liver Disease in a Mouse Model.</i>	Chung-Yu Lee dan Chun-Lin Le, 2021	Penelitian eksperimental dengan desain <i>post-test only control group</i> .	DOW termasuk mineral magnesium, kalsium, dan kalium memiliki efek pencegahan kuat pada NAFLD pada model tikus dengan meningkatkan sistem antioksidan dan menghambat biosintesis asam lemak.	<ul style="list-style-type: none"> • Organ yang digunakan: Hepar • Bahan penginduksi : <i>High Fat Diet</i> • Lama perlakuan: 15 minggu • Intervensi: Air Laut 	<ul style="list-style-type: none"> • Organ yang digunakan : Hepar • Bahan penginduksi : <i>High Fat Diet</i> • Lama perlakuan : 8 minggu • Intervensi : Air distilasi <i>bioglass</i>
<i>Deep ocean water alters the cholesterol and mineral metabolism of squid Todarodes pacificus and suppresses its weight loss</i>	Kaito Hatano, et al, 2023	Penelitian eksperimental dengan desain <i>non-equivalent before-after design</i>	Neuropeptida terlibat dalam metabolisme kolesterol dan/atau mineral dan efek fisiologis yang signifikan pada cumi-cumi.	<ul style="list-style-type: none"> • Organ yang digunakan : serum darah • Bahan penginduksi : - • Lama perlakuan: 6 minggu • Intervensi : air laut dalam dan air permukaan laut 	<ul style="list-style-type: none"> • Organ yang digunakan : Hepar • Bahan penginduksi : <i>High Fat Diet</i> • Lama perlakuan : 8 minggu • Intervensi : Air distilasi <i>bioglass</i>
<i>Hypolipidemic activity of a natural mineral water rich in calcium, magnesium, and bicarbonate in hyperlipidemic adults.</i>	Naser Aslanabadi, 2015	Penelitian eksperimental dengan desain <i>randomized control trial</i>	Asupan air mineral satu bulan yang kaya kalsium, magnesium bikarbonat, dan sulfat menurunkan kadar kolesterol dan LDL tetapi tidak menurunkan kadar TG atau HDL pada orang dewasa dengan dislipidemia	<ul style="list-style-type: none"> • Organ yang digunakan: serum darah • Bahan penginduksi : - • Lama perlakuan : 1 bulan • Intervensi: air mineral yang kaya kalsium, magnesium, bikarbonat, dan sulfat 	<ul style="list-style-type: none"> • Organ yang digunakan : Hepar • Bahan penginduksi : <i>High Fat Diet</i> • Lama perlakuan : 8 minggu • Intervensi : Air alkali distilasi <i>bioglass</i>

1.5 Manfaat Penelitian

a. Bagi peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan dan penelitian terkait topik penelitian yang diteliti.

b. Bagi ilmu pengetahuan

Penelitian ini dilakukan secara ilmiah untuk menganalisis upaya baru sebagai tindakan kuratif NAFLD.

c. Bagi masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan wawasan kepada masyarakat mengenai manfaat penggunaan air suling *bioglass* sebagai salah satu upaya prevensi hiperlipidemia sehingga dapat menekan angka prevalensi NAFLD.

d. Bagi institusi

Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan referensi dan bahan pembelajaran untuk peneliti maupun institusi yang akan melakukan penelitian lebih lanjut yang terkait air alkali dan NAFLD.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Telaah Pustaka

2.1.1 Hiperlipidemia

2.1.1.1 Definisi

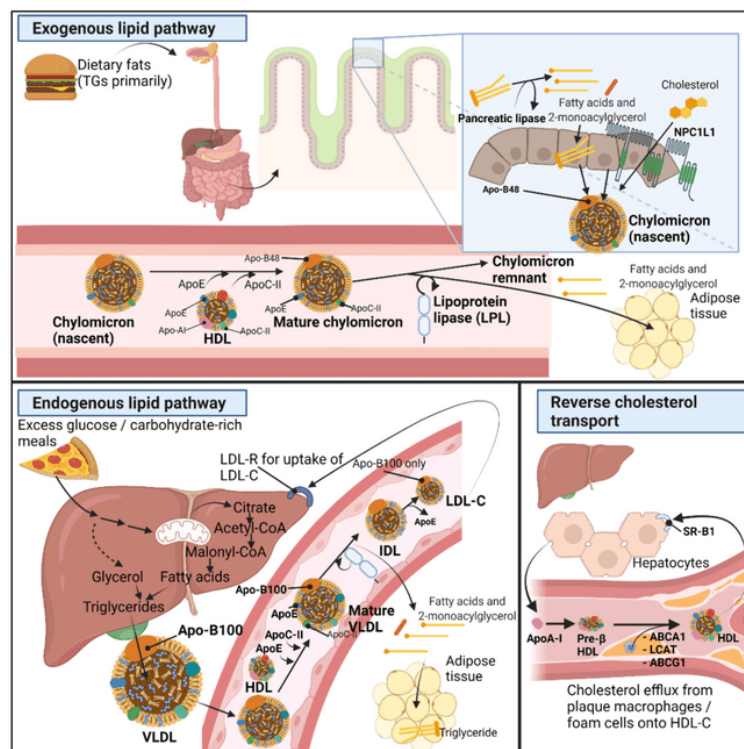
Hiperlipidemia merupakan keadaan disregulasi metabolisme yang ditandai dengan peningkatan kadar lipid dalam sirkulasi pembuluh darah berupa kolesterol dan trigliserida. Kolesterol tubuh dapat dikategorikan ke dalam berbagai bentuk, seperti *Low-Density Lipoprotein* (LDL), *High-Density Lipoprotein* (HDL), dan trigliserida. Hiperlipidemia terjadi ketika terdapat peningkatan LDL dalam tubuh (Mota *et al.* 2016). Hiperlipidemia adalah gangguan metabolik yang sering terjadi dan dikaitkan dengan kondisi kronis seperti penyakit jantung koroner, sindrom metabolik, dan penyakit ginjal kronis. Diagnosis dini sangat penting untuk menghindarkan penderita dari berbagai komplikasi dan kematian. Hiperlipidemia dapat dikategorikan ke dalam dua bentuk berdasarkan penyebabnya. Hiperlipidemia primer disebabkan oleh kelainan genetik yang diwariskan dan hiperlipidemia sekunder disebabkan oleh berbagai penyakit yang memengaruhi metabolisme lipid dan plasma (Rahmawaty *et al.* 2022).

Berdasarkan laporan terbaru tentang penyakit tidak menular (PTM) yang dikeluarkan oleh *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2017, PTM bertanggung jawab atas sebagian besar kematian di seluruh dunia, yaitu sebesar 70% dari semua kematian. Penyakit tidak menular sebagian besar berdampak pada mereka yang berusia di bawah 70 tahun, terhitung 40% dari seluruh kasus. Prevalensi hiperlipidemia secara umum adalah 33,8%. Nilai risiko spesifik untuk berbagai jenis lipid adalah sebagai berikut: trigliserida (TG) memiliki nilai risiko 12,8%, hiperkolesterolemia memiliki nilai risiko 16,1%, dan *Low-Density Lipoprotein* (LDL) memiliki nilai risiko 42,2% (Álvarez Ramírez *et al.* 2020).

2.1.1.2 Patofisiologi Hiperlipidemia

Lipid memiliki beberapa jalur metabolisme di dalam tubuh, yaitu jalur endogen, eksogen dan *reverse transport*, yang dapat dilihat pada Gambar 1. Lipid eksogen mengacu pada lemak makanan yang diserap ke dalam tubuh kita. Lipase pankreas mengubah lipid yang dicerna, khususnya trigliserida (TG), menjadi asam lemak, dan *2-monoasilgliserol* (2-MAG) di dalam lumen usus. Selanjutnya, di dalam enterosit, asam lemak rantai panjang, monoasilgliserol (MAG), kolesterol, dan

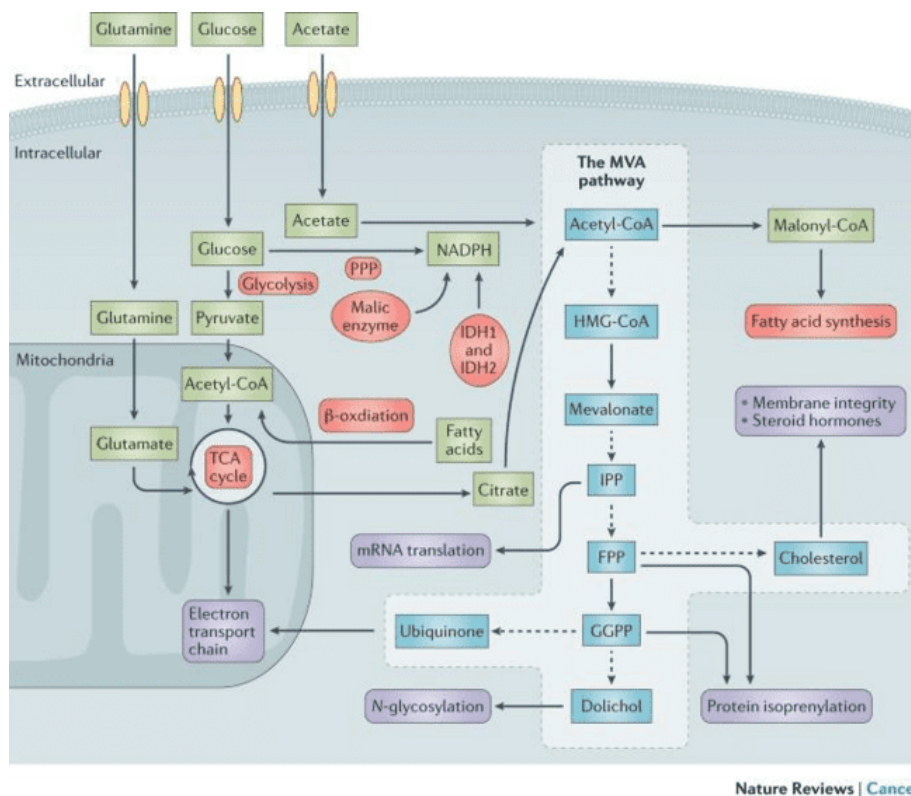
molekul lain yang berasal dari pencernaan lipid mengalami esterifikasi ulang, menghasilkan pembentukan trigliserida (TG), fosfolipid, dan ester kolesterol. Enterosit menggunakan kilomikron apolipoprotein B48-positif (Apo-B48) untuk mengangkut dan melarutkan trigliserida (TG) dan ester kolesterol. Lipid ini kemudian masuk ke dalam getah bening dan sirkulasi. Proses penyerapan kolesterol makanan difasilitasi oleh protein Niemann-Select the C1-like 1 (NPC1L1) sebelum pembuatan dan pengangkutan ester kolesterol ke dalam kilomikron. Kilomikron kemudian diubah menjadi LDL yang berisiko dapat menimbulkan berbagai macam penyakit metabolik (Zwartjes, 2021).



Gambar 1. Jalur metabolisme lipid
(Zwartjes, 2021)

Mengonsumsi diet yang tidak seimbang, khususnya glukosa yang berlebihan, dapat mengganggu metabolisme lipid pada tingkat sel. Gangguan ini terjadi dengan meningkatnya jumlah asetil-koA sebagai prekursor jalur asam mevalonat, yang bertanggung jawab terhadap sintesis kolesterol dalam tubuh. Enzim HMG-CoA reduktase mengatalisis konversi Asetil-CoA menjadi 3-hidroksi-3-metilglutaryl-CoA (HMG-CoA), yang selanjutnya mengalami beberapa tahap pada pembentukan kolesterol. Enzim HMG-CoA ini telah menjadi salah satu target penting untuk mengatasi hiperlipidemia (Mullen *et al.* 2016; Göbel *et al.* 2020).

Mekanisme pembentukan kolesterol dari jalur mevalonat tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2 Jalur Mevalonate
(Mullen *et al.* 2016)

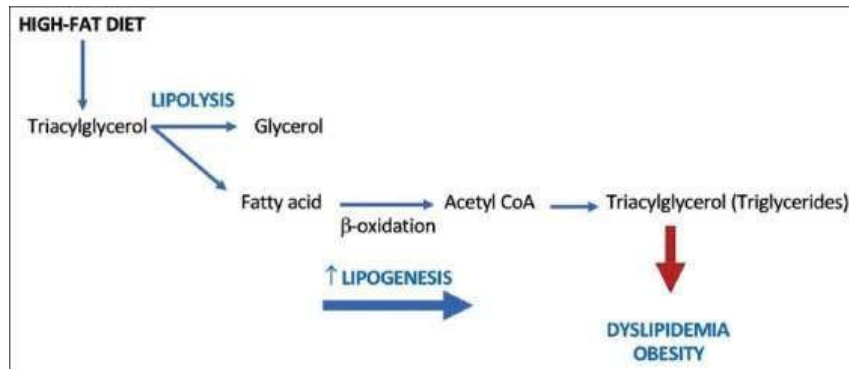
Jalur metabolisme lipid endogen terbentuk di bawah pengaruh kadar insulin yang tinggi. Hepatosit melepaskan trigliserida dan lipid lainnya sebagai lipoprotein densitas sangat rendah (*very low-density lipoprotein/VLDL*). Setelah mengonsumsi makanan kaya karbohidrat dan ketika asupan kalori lebih lanjut terjadi setelah simpanan glikogen hati terisi kembali, kelebihan glukosa diubah menjadi piruvat. Piruvat di dalam mitokondria mengalami konversi menjadi asetil-CoA, yang kemudian memasuki siklus asam sitrat (CAC) dan bergabung dengan oksaloasetat untuk membentuk sitrat. Sitrat kemudian dipindahkan kembali ke dalam sitoplasma karena adanya produksi molekul ATP dan NADH yang tinggi selama asupan kalori yang berlebihan. Hal ini menyebabkan sitrat keluar dari mitokondria dan masuk ke dalam sitoplasma. Sitosol sitrat mengalami transformasi lagi untuk membentuk asetil-KoA, dan dengan bantuan enzim yang diaktifkan oleh insulin, asetil-KoA diubah menjadi malonil-KoA, yang pada akhirnya berubah menjadi asam lemak (Zwartjes, 2021).

Adapun jalur *reverse transport* dimediasi oleh partikel HDL apolipoprotein AI (Apo-AI)-positif yang mengambil kolesterol dari pinggiran termasuk dari makrofag dan *foam cell* di dinding pembuluh darah. HDL-C membawa kolesterol ke hati untuk ekskresi akhirnya dalam empedu dan feses. HDL terus bersirkulasi dan mengambil kolesterol dari beberapa jaringan perifer dengan aksi *lecithin cholesterol acyl-transferase* (LCAT). LCAT memberikan esterifikasi kolesterol menjadi ester kolesterol hidrofobik, memungkinkan penyerapan kolesterol dari jaringan perifer ke dalam inti lipid HDL. LCAT juga mengubah bentuk HDL dari diskoid menjadi bentuk bulat (Gillard *et al.* 2018). Oleh karena itu apabila seseorang memiliki *intake* lipid berlebih dapat mengakibatkan kondisi hiperlipidemia.

Hiperlipidemia dapat memicu stres oksidatif dan berperan penting dalam peningkatan kadar radikal bebas (oksidan). Hiperlipidemia meningkatkan radikal bebas dengan cara mengaktivasi enzim NADPH oksidase (Zhang and Zuo 2023). Radikal bebas telah diketahui sebagai salah satu komponen kerusakan jaringan yang memicu berbagai penyakit di dalam tubuh. Ketidakseimbangan kadar radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh dapat mengakibatkan gangguan pada struktur membran sel dan senyawa molekuler lainnya (Babakr *et al.* 2023).

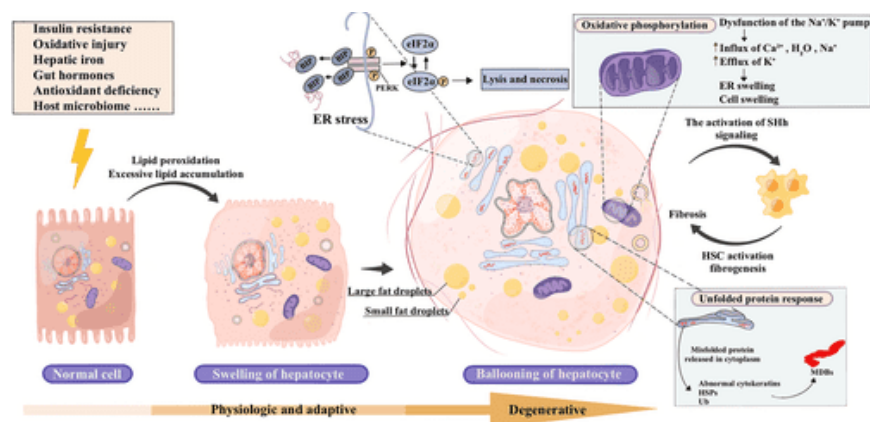
2.1.1.3 Mekanisme Hiperlipidemia dalam Memicu Perubahan Histologis Hepar

Pemberian diet tinggi lemak (*high-fat diet*) adalah metode yang umum digunakan untuk menginduksi obesitas dan sindrom metabolik pada hewan percobaan. Diet tinggi lemak biasanya terdiri dari lemak hewani, seperti lemak babi atau lemak sapi, serta lemak nabati, seperti minyak jagung, minyak kedelai, atau minyak kelapa. Memberi makan hewan percobaan diet dengan kandungan lemak mulai dari 30% hingga 70% dapat menyebabkan peningkatan berat badan dan asam lemak dalam darah. Hal ini dapat mengaktifkan jalur metabolisme lemak dalam tubuh (Gunawan, 2021).



Gambar 3. Mekanisme HFD dalam Hiperlipidemia
(Gunawan *et al.* 2021)

Hiperlipidemia dapat menyebabkan penyakit *non-alcoholic liver disease* (NAFLD). Hubungan antara hiperlipidemia dan peningkatan risiko NAFLD disebabkan oleh peningkatan akumulasi lipid dalam hepatosit. Mekanisme utama dimana asam lemak diangkut ke sel hepatosit meliputi lipolisis splanknik lemak visceral, lipogenesis, dan konsumsi makanan berlemak. NAFLD dan hiperlipidemia menyebabkan perkembangan edema hepatic, degenerasi *ballooning*, dan inflamasi di hepar. Hal ini diakibatkan oleh reaksi oksidatif yang disebabkan penumpukan lemak dalam hati. Kejadian ini sebagian besar terjadi pada situasi di mana terdapat resistensi insulin dan stres oksidatif, sehingga menyebabkan peningkatan oksidasi asam lemak dalam hati. Radikal bebas kemudian memulai stimulasi sitokin pro-inflamasi, gangguan aktivitas mitokondria, dan gangguan regulasi metabolisme lipid dan gula. Selanjutnya, sitokin pro-inflamasi merangsang sel stellata untuk menghasilkan fibroblas, yang pada gilirannya memulai fibrosis hati (Li *et al.* 2023).



Gambar 4. Mekanisme Degenerasi Hepar
(Li *et al.* 2023)

2.1.1.4 Gambaran Histologis Hepar Akibat Hiperlipidemia

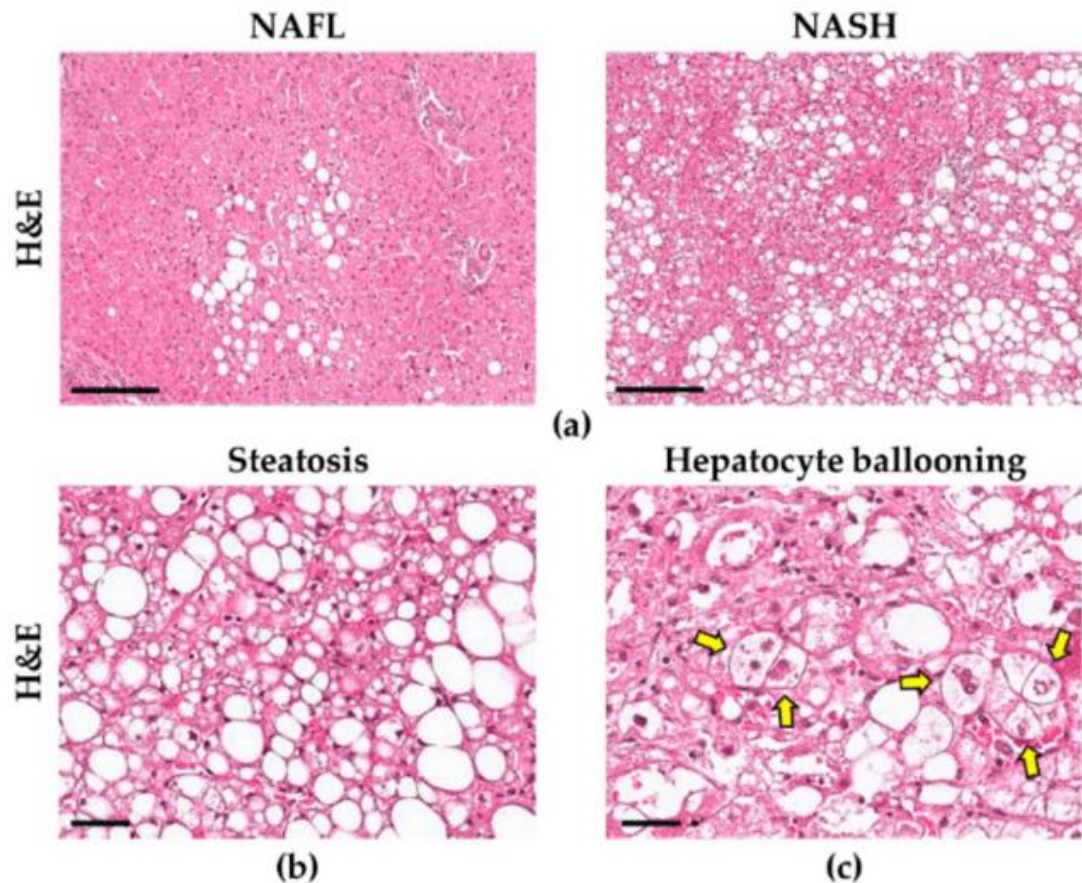
Pada kondisi hiperlipidemia hepar dapat mengalami edema. Hepatosit yang mengalami edema tampak membesar ukurannya sebesar satu setengah hingga dua kali lebih besar dibandingkan hepatosit normal. Sel-sel ini berbentuk bulat, dengan sitoplasma yang tampak pucat, terang, dan bertekstur retikuler, saat diamati dengan pewarnaan HE. Terkadang, sitoplasma tampak seperti memiliki ruang kosong atau vakuola, yang sebenarnya merupakan pelebaran dari retikulum endoplasma atau kompleks Golgi akibat tekanan dari dalam sel (Li *et al.* 2023).

Proses *ballooning* ini tidak hanya mencerminkan pembengkakan sederhana, melainkan merupakan manifestasi dari gangguan dalam keseimbangan sel, terutama karena gangguan metabolik, stres oksidatif, dan kerusakan mitokondria. Kerusakan ini menyebabkan berkurangnya produksi ATP dan kegagalan fungsi pompa natrium-kalium (Na^+/K^+), sehingga air masuk ke dalam sel dan menyebabkan pembengkakan lebih lanjut. Jika cedera ini terus berlangsung, sel dapat menunjukkan akumulasi agregat protein abnormal seperti *Mallory-Denk bodies* (MDBs), yang terdiri dari keratin 8/18, ubiquitin, dan p62—penanda khas dari stres sitoskeletal dan gangguan fungsi protein (Moore *et al.* 2022).

Secara klinis, *ballooned hepatocytes* sering ditemukan pada zona 3 dari lobulus hati, yaitu area dekat vena sentral, dan umumnya berdampingan dengan area steatosis atau fibrosis. Deteksi sel ini penting karena keberadaannya berkaitan erat dengan tingkat keparahan penyakit hati, termasuk progresi menuju fibrosis dan risiko komplikasi jangka panjang. Namun, membedakan *ballooned hepatocytes* dari sel yang hanya mengalami oedema ringan bukanlah hal yang mudah, karena keduanya berada dalam spektrum yang sama. Oleh karena itu, pendekatan diagnostik sering dilengkapi dengan teknik imunohistokimia, seperti pengecatan keratin 18 (K18), untuk meningkatkan akurasi identifikasi (Zhou *et al.* 2022).

Paparan stresor seluler terhadap sel hati dalam jangka panjang menghasilkan perkembangan karakteristik histologis gradual dari *fatty liver* hingga muncul steatohepatitis non-alkohol (NASH), termasuk penggelembungan hepatoseluler dan adanya *Mallory-Denk Bodies* (MDB), yang juga merupakan indikasi prognosis yang buruk. Hepatosit yang menggelembung menunjukkan ukuran di atas rata-rata dan dibedakan oleh sitoplasma yang jarang dan tidak rata, serta tidak adanya sitokeratin (CK) 8 dan 18. MDB adalah kelompok eosinofil yang

mengumpulkan protein yang terubinisasi di mana-mana di dalam sitoplasma sel hati. Struktur ini dapat dideteksi dengan teknik pewarnaan standar, terutama pada hepatosit yang meningkat, atau dapat secara khusus ditandai dengan menggunakan imunohistokimia untuk protein yang terkait dengannya, seperti ubiquitin atau p62 (Overi *et al.* 2020).



Gambar 5. Gambaran degenerasi hepar akibat hiperlipidemia
(Overi *et al.* 2020)

2.1.1.5 Model Hewan Coba Hiperlipidemia

Pengembangan model hewan percobaan sindrom metabolik sangat penting untuk memahami modalitas pengobatan NAFLD. Tikus (*Rattus norvegicus*) berfungsi sebagai model hewan percobaan untuk mempelajari perkembangan dan gambaran klinis berbagai penyakit manusia, terutama obesitas, hipertensi, dan diabetes. Tikus memiliki tingkat toleransi diet yang tinggi. Tikus Wistar umumnya digunakan dalam pembuatan model hewan percobaan untuk sindrom metabolik karena kerentanannya yang tinggi terhadap obesitas yang disebabkan oleh makanan. Selain itu, tikus lebih dipilih daripada mencit karena dimensinya yang

lebih besar dan kenyamanan yang mereka tawarkan untuk penyelidikan. Model hewan tambahan yang sering digunakan untuk sindrom metabolik berasal dari manipulasi genetik seperti tikus Zucker, tikus Koletsky, tikus Goto-kakizaki, serta berbagai jenis tikus seperti tikus yang kekurangan leptin, tikus ob/ob, dan lainnya (Gunawan, 2021). Model hewan yang dimodifikasi secara genetik menunjukkan manifestasi sindrom metabolik yang lebih cepat dan lebih tereksresi, meskipun demikian, pemanfaatannya terbatas karena biayanya yang mahal (Fuchs *et al.* 2018).

2.1.2 Simvastatin

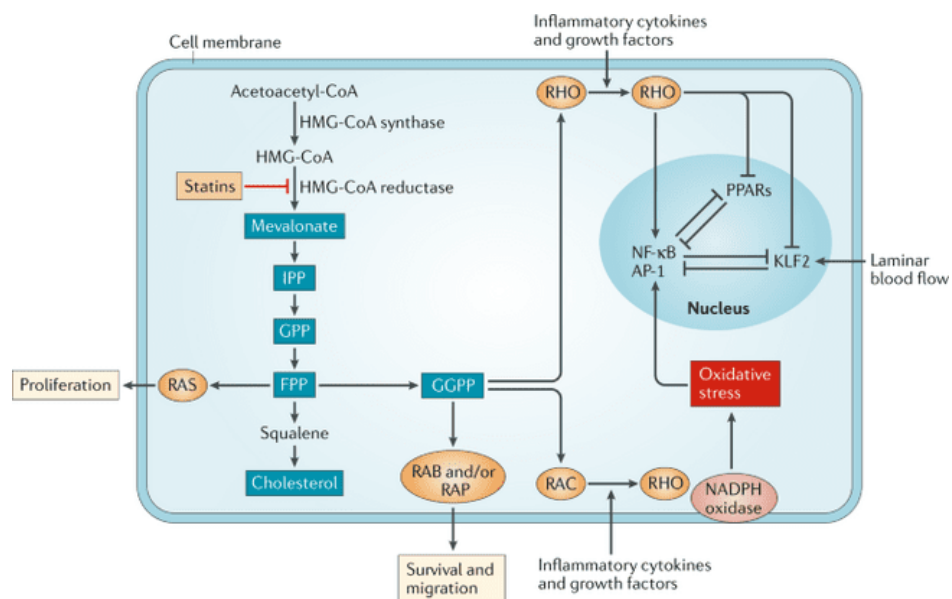
2.1.2.1 Farmakologi Simvastatin

Simvastatin adalah obat golongan statin. Berdasarkan kelarutannya, statin dikategorikan ke dalam dua kelompok utama: lipofilik dan hidrofilik. Kelompok lipofilik termasuk atorvastatin, fluvastatin, lovastatin, pitavastatin, dan simvastatin, sedangkan statin hidrofilik terdiri dari pravastatin dan rosuvastatin. Obat ini digunakan untuk mengobati hiperlipidemia dengan mengurangi pembentukan kolesterol dan mencegah masalah yang terkait dengan tingginya kadar lipid dalam darah. Simvastatin berperan sebagai penghambat kompetitif enzim hydroxymethylglutaryl-Coenzyme A (HMG-CoA) reduktase. Enzim ini bertanggung jawab untuk mengubah HMG-CoA menjadi asam mevalonat selama sintesis kolesterol. Simvastatin adalah turunan dari lovastatin, statin generasi pertama yang disahkan *Food And Drug Administration* (FDA). Kelas obat ini berasal dari produk fermentasi *Aspergillus terreus*. (Fahad, 2022).

Simvastatin adalah senyawa lipofilik yang dapat dengan mudah menempel pada protein plasma darah. Senyawa ini memiliki rumus kimia $C_{25}H_{38}O_5$ dan berat molekul 418,6 g/mol (Filppula *et al.* 2021). Obat ini menunjukkan penyerapan yang tinggi oleh sistem pencernaan dan kemudian diangkut ke hati melalui substrat protein transpor anorganik OATP1B1, dan pompa *efflux* ABCB1 dan ABCC2. Simvastatin adalah *prodrug* yang mengalami metabolisme di hati melalui sistem enzim CYP450, yaitu CYP3A4, dan CYP2C6, untuk membentuk molekul aktif asam simvastatin. Simvastatin menunjukkan ketersediaan hayati sekitar 5% dan waktu paruh eliminasi yang singkat yaitu 2 hingga 5 jam, dan mencapai konsentrasi dalam waktu 1 hingga 2,5 jam. Akibatnya, penggunaan simvastatin dalam waktu lama tidak menyebabkan penumpukan simvastatin atau metabolitnya (Wiggins *et al.* 2016).

2.1.2.2 Mekanisme Kerja

Simvastatin bekerja pada jalur mevalonat dengan melibatkan enzim reduktase *3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA* (HMG-CoA reduktase). Sintesis kolesterol berawal dari asetil-CoA yang kemudian diubah menjadi HMG-CoA dan berakhir menjadi asam mevalonat menggunakan enzim HMG-CoA reduktase. Simvastatin bekerja sebagai inhibitor enzim HMG-CoA reduktase sehingga dapat mensupresi kosnestrasi kolesterol (Parihar *et al.* 2019; Kee *et al.* 2020). Mekanisme kerja simvastatin dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Mekanisme kerja statin
(Parihar *et al.*, 2019)

Simvastatin juga mempromosikan ekspresi SREBP-2, yang berfungsi sebagai faktor transkripsi untuk banyak gen yang terkait dengan regulasi homeostasis lipid, termasuk *low-density lipoprotein receptor (LDLR)*. Kehadiran LDLR pada membran meningkatkan penyerapan kolesterol ke dalam hepatosit dan sel lainnya, membantu mengurangi kadar kolesterol plasma (Vuu *et al.* 2023). Simvastatin memiliki kemampuan menurunkan agregasi trombosit, penurunan inflamasi pada area aterosklerotik, dan peningkatan fungsi endotel (Talreja, 2024).

Hepar merupakan target organ kontak pertama simvastatin, untuk selanjutnya berdifusi secara pasif ke sel hepatosit. Simvastatin mengalami metabolisme oleh enzim sitokrom P450. Ketersediaan simvastatin yang beredar secara umum adalah sekitar 5%. Simvastatin menunjukkan lipofilisitas terbesar di antara statin,

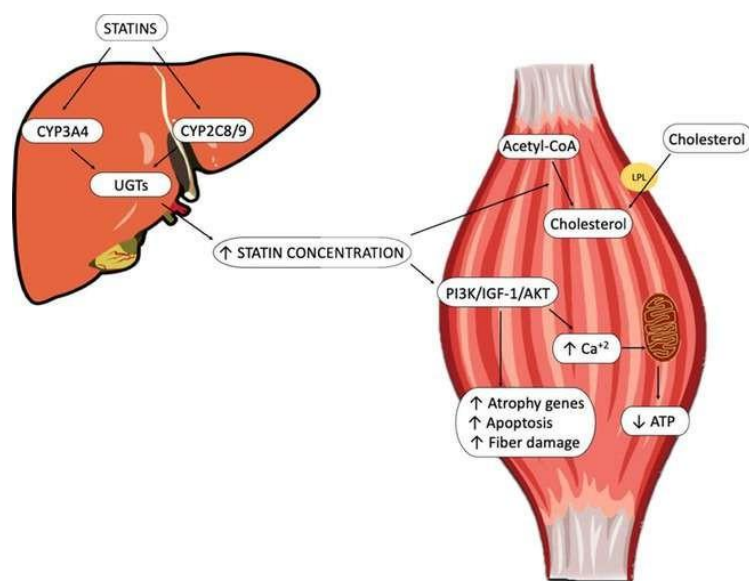
dengan nilai 4,68, sebagaimana ditentukan oleh rasio partisi oktanol-air. Ini menempatkannya di atas statin lain dengan sifat lipofilik. Oleh karena itu, simvastatin menunjukkan kemampuan yang paling signifikan untuk melintasi sawar darah-otak (Vuu, 2023). Dosis anjuran penggunaan simvastatin adalah 5-20 mg/hari (Faizah *et al.* 2022).

2.1.2.3 Efek Samping Simvastatin

Simvastatin memiliki efek *statin-associated muscular symptoms* (SAMS). SAMS merupakan toksisitas atau efek samping statin yang paling umum dari semua efek samping yang terkait dengan penggunaan statin. Gejala-gejala ini dapat bermanifestasi sebagai nyeri otot, kelemahan otot, peradangan otot dengan kadar kreatinin kinase yang tinggi, atau kerusakan otot. Selain memengaruhi otot, ada efek samping lain yang dapat timbul pada tulang, seperti tendinopati, masalah tendon, dan artralgia (Hasymi, 2021). Efek samping tambahan yang lebih parah dari terapi statin meliputi diabetes melitus tipe 2, konsekuensi neurologis dan neurokognitif, hepatotoksitas, toksisitas ginjal, dan gangguan penyakit lainnya (Kee *et al.* 2020).

Prevalensi pasti dari efek samping yang terkait dengan pengobatan statin masih belum diketahui karena adanya perbedaan kejadian yang dialami setiap individu. Menurut sebuah studi observasional, efek samping ini diamati pada 10-15% pasien selama bulan pertama penggunaan rutin (Ward *et al.* 2019). Penelitian lain melaporkan bahwa pemberian simvastatin dosis 10 mg/hari meningkatkan efek samping SAMS (Mahwal *et al.* 2022).

Penyebab SAMS diduga dimediasi oleh jalur HMG-CoA reduktase, efek seluler dan subseluler, variabel keturunan, dan efek pada otot rangka. Zat-zat ini dapat memodifikasi stabilitas dan fleksibilitas membran sel otot, memengaruhi pensinyalan dan aktivitas protein, memengaruhi fungsi mitokondria, dan menurunkan jumlah kolesterol dalam membran sel. Perubahan dalam penyerapan atau pemrosesan statin juga dapat meningkatkan jumlah statin yang mencapai otot rangka, yang mengakibatkan perubahan fungsi mitokondria, pensinyalan kalsium, dan jalur siklus sel (Ward *et al.* 2019). Mempertimbangkan beragamnya cara SAMS bermanifestasi dan kurangnya informasi yang konsisten tentang pengobatannya, ada kemungkinan bahwa lebih dari satu mekanisme patogenik yang terlibat dalam Gambar 7.



Gambar 7. Mekanisme Patogenik Simvastatin
(Ward *et al.* 2019)

Dampak negatif lain yang dapat ditimbulkan adalah diabetes melitus tipe dua. Insulin dilepaskan oleh pankreas sebagai akibat dari peningkatan kadar kalsium intraseluler, yang dikendalikan oleh kanal kalsium yang bergantung pada tegangan. Pemberian simvastatin menghambat persinyalan kalsium yang diinduksi oleh glukosa dalam sel β pulau pankreas, yang menyebabkan gangguan regulasi glukosa (Casula *et al.* 2017). Meskipun satu-satunya efek samping yang telah dikonfirmasi secara andal yang disebabkan oleh statin adalah yang berhubungan dengan otot, diabetes mellitus tipe 2, dan kemungkinan stroke hemoragik, namun sangat penting untuk mempertimbangkan semua manifestasi klinis toksisitas dan intoleransi statin, yang secara signifikan dapat berdampak pada kepatuhan terhadap terapi dan risiko kardiovaskular selanjutnya. Secara mekanis, toksisitas statin diperkirakan timbul karena efek penghambatan HMG-CoA reduktase, efek seluler dan subseluler langsung, atau kombinasi keduanya. Penyebab lain yang termasuk faktor genetik, interaksi obat-obat, status vitamin D, dan efek metabolik atau kekebalan tubuh lainnya (Newman *et al.* 2019).

2.1.3 Air Alkali

2.1.3.1 Definisi

Air berfungsi sebagai media utama untuk sebagian besar proses metabolisme yang terjadi di dalam tubuh. Air berfungsi sebagai pondasi untuk semua cairan tubuh dan memfasilitasi transportasi dan asimilasi nutrisi, serta menghilangkan

limbah dan polutan dari tubuh. Pada saat yang sama, air memiliki peran penting dalam menjaga suhu tubuh, memfasilitasi fungsi optimal sel, jaringan, dan organ tubuh, mendukung heliks DNA, dan berfungsi sebagai sumber energi utama bagi tubuh. Oleh karena itu, memahami konsumsi air harian yang direkomendasikan adalah hal yang sangat penting. Literatur secara ekstensif mengakui dampak baik dan buruk dari air baik dalam jangka pendek maupun jangka panjang (Werdiningsih *et al.* 2019; Marian MÂRZA *et al.* 2022).

Air alkali, sering dikenal sebagai air basa, biasanya memiliki pH rentang antara 7 - 9,5. Air alkali merupakan air terionisasi dengan potensi redoks yang tinggi dengan sifat antioksidan kuat karena nilai *oxidation reduction potential* (ORP) yang negatif. Selain itu, air alkali memiliki ukuran molekul yang lebih rendah dibandingkan dengan air biasa. Air dengan pH di bawah tujuh atau air asam, tidak aman untuk dikonsumsi manusia, tetapi dapat digunakan untuk kebersihan dan perawatan pribadi. Di sisi lain, air alkali disarankan untuk diminum. Air alkali memiliki efek positif bagi kesehatan, yaitu untuk penyakit pencernaan (gastro-intestinal), gangguan endokrin (diabetes), kanker, dan tekanan darah tinggi (Wulandari *et al.* 2020).

Air alkali telah diakui sebagai manfaat tambahan di negara-negara industri, seperti Jepang dan Korea. Air alkali memiliki susunan molekul dan bentuk heksagonal, sehingga lebih mudah diserap oleh tubuh. Hal ini mendorong hidrasi yang lebih baik dan juga membantu mengurangi tingkat radikal bebas. Sebuah penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa air yang diionisasi menawarkan berbagai manfaat, termasuk menghilangkan spesies oksigen reaktif, mencegah sembelit, menghambat perkembangan lemak dalam aliran darah, melindungi kulit dari sinar UV dan inframerah, meningkatkan kekebalan tubuh, dan memperbaiki kadar gula darah (Marian MÂRZA *et al.* 2022).

2.1.3.2 Mekanisme Kerja Air Alkali

Air alkali memiliki potensi untuk meningkatkan kadar antioksidan berupa *superoxide dismutase* (SOD) sehingga dapat membantu menangkal radikal bebas dalam tubuh. pH air alkali yang lebih tinggi daripada air kran diyakini bersifat menguntungkan karena dapat menginduksi pertahanan antioksidan dan mengurangi stres oksidatif. Suplementasi dengan air alkali telah menunjukkan manfaat potensial dalam meningkatkan kesehatan saluran pencernaan, mengurangi keparahan penyakit secara *in vivo*, dan memperbaiki kondisi tubuh

subjek yang berusia lanjut. Namun, proses dan mekanisme yang tepat bagaimana kontribusi air alkali terhadap perbaikan dan pencegahan penyakit belum sepenuhnya dipahami (LeBaron et al. 2020).

Konsumsi air distilasi *bioglass* dapat menyebabkan alkalinisasi air. Selain memiliki efek antioksidan air alkali juga memberikan efek pada hormon *cholecystokinin* (CCK). Hormon CCK merupakan hormon perangsang rasa lapar, sehingga ketika aktif seseorang cenderung terus mengonsumsi makanan (Rehfeld 2021). Pada kondisi ini, air alkali berperan secara negatif dengan melemahkan pelepasan hormon kolesistokinin sehingga pola makan lebih terkontrol. Proses alkalinisasi juga berdampak pada inhibisi penyerapan asam lemak dan kolesterol dari pelarutan misel. Oleh karena itu, secara kolektif, mekanisme ini menjelaskan penurunan kadar postprandial total dan kilomikron-trigliserida, serta kilomikron-kolesterol, dan kadar puasa total dan LDL-kolesterol (Costa-Vieira et al. 2019b). Oleh karena itu, suplementasi air alkali jangka panjang dapat menormalkan kadar lipid darah yang abnormal (Rias et al. 2020).

Air alkali juga melindungi dari penumpukan lipid dan kolesterol dalam tubuh. Penelitian menunjukkan bahwa air alkali memfasilitasi disintegrasi lipid, melindungi tikus dari kenaikan berat badan dengan cepat. Selain itu, air alkali menginduksi ekspresi gen *cholesterol 7 alpha-hydroxylase* (CYP7A1), yang berperan penting dalam homeostasis kolesterol dalam tubuh dengan mengubah kolesterol menjadi empedu. Studi klinis yang melibatkan pemberian air alkali secara oral untuk pengobatan penyakit pikun dan penyembuhan pasien rawat inap, tidak menunjukkan efek positif atau negatif yang berbeda pada pasien lanjut usia. Namun, pengukuran parameter darah yang dalam kisaran normal, menunjukkan bahwa air alkali tidak menimbulkan efek samping dan dapat menyebabkan kondisi tubuh yang baik (Rias et al. 2020; Delos Reyes et al. 2021).

Air alkali juga memiliki pengaruh di dalam hepar, terkhususnya pada *non-alcoholic fatty liver disease* (NAFLD). Air alkali meningkatkan enzim *peroxisomal acyl-coenzyme A oxidase* (ACOX). ACOX merupakan salah satu enzim dalam metabolisme lipid dan merupakan enzim inhibitor beta-oksidasi asam lemak rantai panjang dalam peroksisom. Partisipasi ACOX dalam menekan NAFLD sangat penting. Kurangnya ekspresi ACOX pada tikus homozigot (ACOX^{-/-}) mengakibatkan hepatosit udem (*edematous hepatocyte*) pada manusia dengan NAFLD, yang ditandai dengan ekspresi ACOX meningkat dua kali lipat sebagai

mekanisme kompensasi untuk mengimbangi peningkatan akumulasi lipid pada hepar. Air alkali juga berdampak pada ekspresi gen lain yang terlibat dalam produksi asam lemak baru seperti *fatty acid synthase* (FAS), *acetyl-CoA carboxylase* (ACC1) dan gen *carnitine palmitoyltransferase 1* (Jackson *et al.* 2018).

Adiponektin yang disekresikan terutama oleh adiposit dan sel hati merupakan faktor lain yang berpengaruh dalam perkembangan NAFLD. Ketika adiponektin menempel pada reseptornya (AipoR2) di hati, adiponektin memengaruhi komunikasi intraseluler (yang mengarah pada penurunan produksi lemak baru) dan masuknya asam lemak bebas dengan menghasilkan penurunan kontrol ekspresi CD36 dan peningkatan oksidasi asam lemak bebas. Adiponektin juga memberikan efek antiinflamasi dengan menghambat produksi TNF- α melalui jalur NF- κ B dan aksi metaboliknya (Jackson *et al.* 2018a)

2.1.3.3 *Bioglass* Sebagai Sintesis Air Alkali

Biomaterial adalah alternatif konvensional yang sering digunakan dalam berbagai aplikasi biomedis karena memiliki toksisitas rendah terhadap manusia, organisme lain, dan lingkungan. Salah satu biomaterial yang sering digunakan adalah *bioglass* atau *bioactive glass* (nama komersial: 45S5 BG) yang berupa sistem kuaterner. *Bioglass* terdiri dari 45% silika (SiO₂), 24,5% natrium oksida (Na₂O), 24,4% kalsium oksida (CaO), dan 6% fosfor pentoksida (P₂O₅) dalam persen berat, komponen terakhir ditambahkan untuk mensimulasikan rasio Ca/P hidroksiapatit. Nama 45S5 berasal dari persen berat silika sebagai pembentuk jaringan dan rasio molar 5 banding 1 antara Ca dan P (Filip *et al.* 2022).

Bioglass adalah istilah umum yang digunakan untuk menggambarkan kumpulan kaca silikat yang memiliki struktur yang sangat kompleks. Pada saat ini *bioglass* sering digunakan dalam implan tulang dan gigi. Ketika ditempatkan di dalam air, *bioglass* terurai dan melepaskan ion-ion seperti kalsium, kalium, natrium, dan silikat yang dapat meningkatkan pH air (Costa-Vieira, 2019). Salah satu dari komponen *bioglass* yakni CaO yang apabila direaksikan dengan air sebagai berikut $\text{CaO} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ca}(\text{OH})_2$. CaO memiliki stabilitas tinggi yang cepat bereaksi dengan air dan langsung dapat menetralkan larutan yang bersifat asam (Assyakiri *et al.* 2022).

2.2 Keterkaitan dengan Ayat Al Qur'an dan/atau Hadist

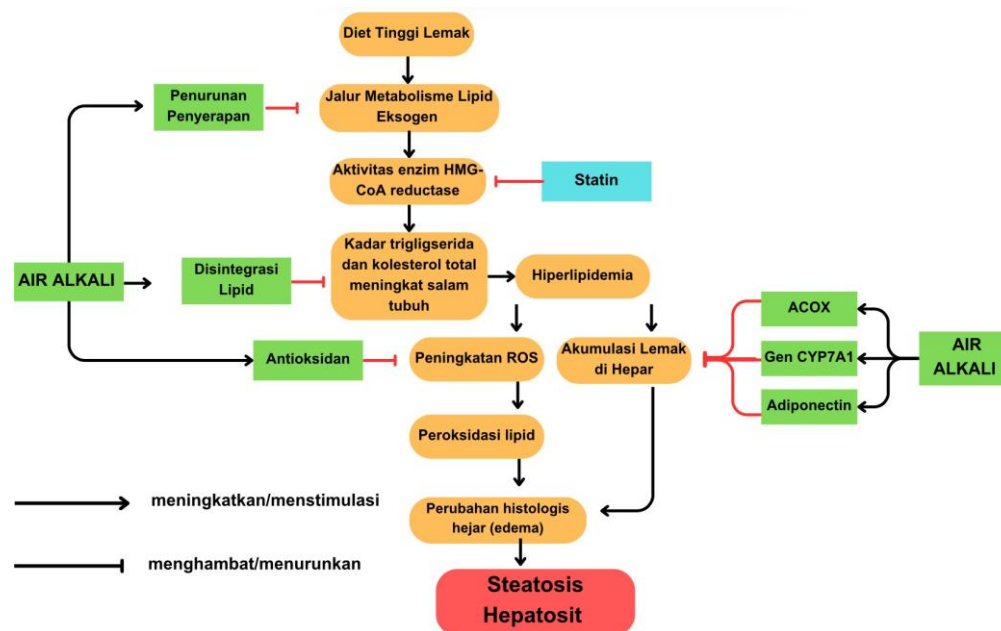
....وَجَعَلْنَا مِنَ الْمَاءِ كُلَّ شَيْءٍ حَيٍّ أَفَلَا يُؤْمِنُونَ ﴿٣٠﴾

“...Kami menjadikan segala sesuatu yang hidup berasal dari air? Maka, tidakkah mereka beriman? (Al-Anbiya : 30).”

Dalam Al-Qur'an surat Al-Anbiya ayat 30, Allah SWT berfirman, “Dan Kami jadikan dari air segala sesuatu yang hidup,” yang secara esensial menegaskan bahwa air merupakan elemen fundamental bagi keberlangsungan fungsi biologis makhluk hidup. Dalam konteks medis, air berperan sebagai media utama dalam proses homeostasis, transportasi metabolit, dan detoksifikasi. Hati merupakan organ sentral dalam sistem metabolisme, yang bertanggung jawab terhadap detoksifikasi senyawa toksik, biotransformasi xenobiotik, dan regulasi kadar glukosa dan lipid dalam plasma. Paparan terhadap agen hepatotoksik seperti etanol, senyawa kimia berbahaya, atau radikal bebas dapat memicu stres oksidatif, yang berujung pada degenerasi hepatosit, inflamasi, dan nekrosis seluler.

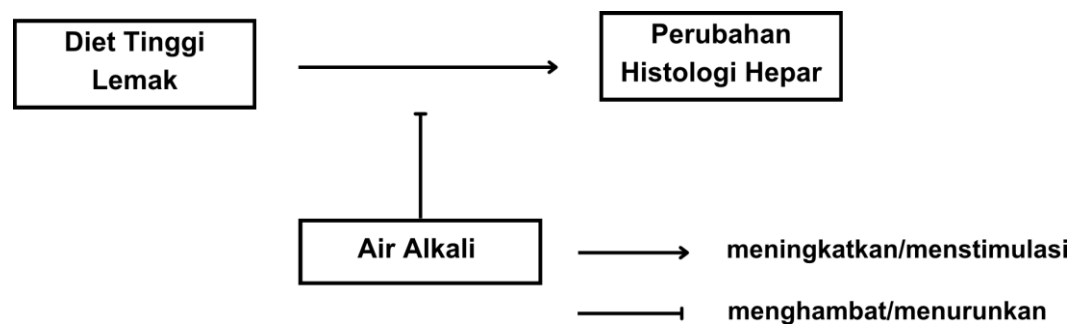
Air alkali, yang memiliki pH lebih tinggi serta kandungan ion mineral seperti magnesium dan kalsium, secara empiris menunjukkan potensi dalam menurunkan reaktivitas oksidatif melalui mekanisme penurunan kadar *reactive oxygen species* (ROS) serta peningkatan aktivitas enzim antioksidan endogen seperti *superoxide dismutase* (SOD) dan *glutathione peroxidase* (GPx). Oleh karena itu, konsumsi air alkali dapat berkontribusi dalam ameliorasi kerusakan hepatoseluler serta meningkatkan integritas struktural dan fungsional hati. Relevansi ayat ini menjadi semakin kuat ketika ditinjau dari sudut pandang ilmiah bahwa air, khususnya dalam bentuk fungsional seperti air alkali, tidak hanya menopang kehidupan secara umum, tetapi juga memiliki potensi terapeutik dalam menjaga fungsi organ vital melalui mekanisme biokimia yang kompleks.

2.3 Kerangka Teori



Gambar 8. Kerangka Teori

2.4 Kerangka Konsep



Gambar 9. Kerangka Konsep

2.5 Hipotesis

H0: Tidak ada perbedaan gambaran histologis hepar antara tikus dengan *high-fat diet* yang diberi air alkali dan tidak diberi alkali.

H1: Terdapat perbedaan gambaran histologis hepar antara tikus dengan *high-fat diet* yang diberi air alkali dan tidak diberi alkali.

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian utama yang berjudul “Efektivitas Air Sulingan *Bioglass* terhadap Penurunan Kolesterol Darah Tikus yang Diinduksi *High Fat Diet*” yang telah selesai dilaksanakan. Jenis penelitian adalah *true experimental* dengan metode *post-test only randomized control group* pada bahan biologi tersimpan (BBT) organ hepar.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian menggunakan BBT terkait gambaran histopatologis hepar dimulai sejak bulan Oktober 2024 hingga bulan Januari 2025. Pembuatan sampel preparat dilaksanakan di laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan Universitas Gadjah Mada dan pengamatan histopatologis dilaksanakan di laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia.

3.3 Subjek Penelitian

Subjek penelitian adalah BBT dari 21 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar jantan, berat badan sekitar 150-200 gram, berusia sekitar 12-16 minggu, subjek penelitian diperoleh dari penelitian sebelumnya. Subjek penelitian dihitung berdasarkan rumus research equation (Charan, 2013) dengan rincian sebagai berikut:

E = jumlah keseluruhan hewan coba (t.n) – jumlah kelompok percobaan (t),
dengan E = 10 – 20,

$$\begin{array}{l|l} E=10 & E=20 \\ 10 = (4.n) - 4 & 20 = (4.n) - 4 \\ 10 = 4n - 4 & 20 = 4n - 4 \\ 4n = 14 & 4n = 24 \\ n = 3,5 & n = 6 \end{array}$$

Dengan demikian, didapatkan sampel 5 ekor per kelompok perlakuan dengan rincian sebagai berikut:

- Kelompok kontrol normal (KN): kelompok kontrol yang hanya diberi pakan standar saja berupa pellet AD 2.

- Kelompok kontrol negatif (K-): kelompok kontrol yang telah diinduksi dengan *high-fat diet* (HFD) sebanyak 2 mL selama 4 minggu, kemudian diberikan pakan standar selama 4 minggu.
- Kelompok perlakuan 1 (P1) merupakan kelompok perlakuan yang telah diinduksi *high-fat diet* (HFD) serta diintervensi dengan simvastatin dengan dosis 0,18 mg. Pemberian perlakuan dilakukan selama 8 minggu.
- Kelompok perlakuan 2 (P2): kelompok perlakuan yang telah diinduksi *high fat diet* serta diintervensi dengan 3 mL air alkali melalui distilasi *bioglass*. Pemberian perlakuan dilakukan selama 8 minggu.

3.4 Kriteria Inklusi

BBT organ hepar tikus yang diawetkan dalam zat formalin 10%

3.5 Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah BBT hepar tikus yang mengalami kerusakan atau tidak dapat diamati.

3.6 Variabel

3.6.1 Variabel Bebas

Variabel bebas penelitian ini adalah perlakuan pemberian air distilasi *bioglass*, pemberian simvastatin, dan *highfat diet*.

3.6.2 Variabel Terikat

Variabel bebas penelitian ini adalah perbedaan histolgi hepar tikus yang di tiap kelompok.

3.6.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol penelitian ini adalah jenis kelamin tikus, usia tikus, berat badan tikus, siklus terang-gelap ruangan, suhu ruangan, dan kelembaban ruangan, serta induksi hiperlipidemia pada tikus berupa pemberian diet tinggi lemak.

3.7 Definisi Operasional

3.7.1. Tikus Model Hiperlipidemia

Tikus model hiperlipidemia adalah tikus yang menunjukkan peningkatan kadar kolesterol total dan trigliserida dalam aliran darahnya sebagai akibat dari pemberian *high fat diet* (HFD) yang dikonfirmasi kenaikan kolesterolnya menggunakan *rapid test cholesterol*. *High-fat diet* terdiri dari 10% lemak kambing,

20% minyak goreng, dan 20% kuning telur puyuh, yang semuanya dicampur dalam 100 cc aquades. Pada penelitian utama dilakukan induksi HFD 2 ml/hari selama 10 minggu menggunakan teknik sonde oral (Wali *et al.* 2020).

3.7.2. Simvastatin

Pemberian larutan simvastatin dilakukan sebanyak 1 kali per hari selama 1 bulan kedua pada kelompok HFD+simvastatin. Simvastatin 10 mg terlebih dahulu dilarutkan dengan CMC 1% sebanyak 10 ml. Kemudian larutan tersebut diberikan kepada tikus dengan volume 1 mL/tikus. Dosis simvastatin untuk tikus sebesar 0,18 mg selama 4 minggu. Pemberian larutan simvastatin dalam penelitian ini menggunakan teknik sonde (Wilhelmina *et al.* 2019)

3.7.3. Air Alkali

Air alkali merupakan air yang memiliki pH lebih tinggi dari air normal. Air alkali mengandung mineral dan potensi reduksi oksidasi negatif. Air alkali memiliki kisaran pH antara 7.5-9.5. Air alkali yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan metode destilasi dengan *bioglass* yang direndam selama 9 jam. Pemberian air alkali dalam penelitian ini menggunakan teknik sonde pada kelompok HFD+air alkali selama 30 hari kedua penelitian (Khotimah *et al.* 2018).

3.7.4. Gambaran Histologis Hepar

Hepatosit yang mengalami edema tampak membesar ukurannya sebesar satu setengah hingga dua kali lebih besar dibandingkan hepatosit normal. Sel-sel ini berbentuk bulat, dengan sitoplasma yang tampak pucat, terang, dan bertekstur retikuler, saat diamati dengan pewarnaan HE. Terkadang, sitoplasma tampak seperti memiliki ruang kosong atau vakuola, yang sebenarnya merupakan pelebaran dari retikulum endoplasma atau kompleks Golgi akibat tekanan dari dalam sel. Gambaran *edematous hepatocyte* merupakan gambaran awal terjadinya *fatty liver* (Sarwanti *et al.* 2020). Karakteristik histopatologi hati ditentukan dengan menghitung persentase sel yang mengalami edema di antara 100 sel hepatosit di lima lapang pandang pada zona 3 hepar (Takahashi and Fukusato 2014; Prasomthong *et al.* 2022). Gambaran histologis hepar diamati secara mikroskopis dalam bentuk preparat histologis organ hepar dengan pewarnaan Hematoxylin-eosin. Penghitungan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya Olympus CX23 dengan pembesaran 400x dan dibantu *software* optilab viewer dan *image raster*. Pengamatan histologis organ hepar menggunakan teknik

interobserver secara *double blind* dengan *intraclass correlation coefficient* (ICC) (Rau and Shih, 2021).

3.8 Instrumen Penelitian

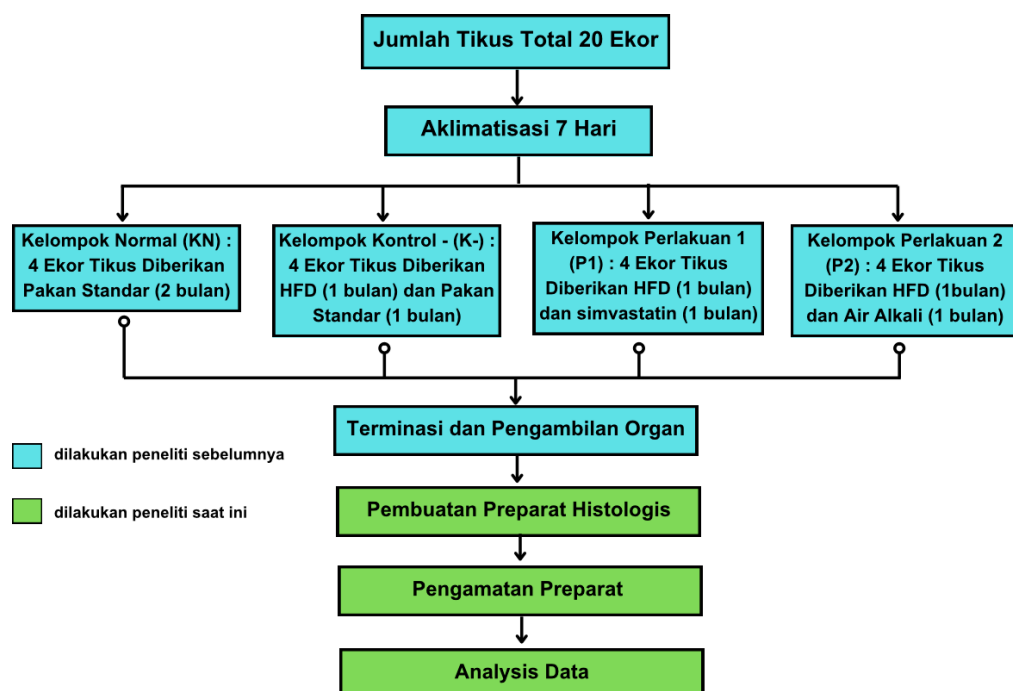
3.8.1. Alat Penelitian

Alat penyimpanan organ berupa wadah toples penyimpanan organ yang diisi larutan buffer formalin 10% dan mikroskop cahaya Olympus CX23, *software* optilab viewer, *image raster* dan *software* analisis data.

3.8.2. Bahan Penelitian

Bahan biologis tersimpan (BBT) berupa organ hepar tikus yang diperoleh dari penelitian sebelumnya.

3.9 Alur Penelitian



Gambar 10. Alur Penelitian

3.10 Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan *software* SPSS. Analisis data dimulai dengan menguji normalitas data menggunakan Shapiro-Wilk Test karena jumlah subjek penelitian kurang dari 50. Setelah didapatkan hasil normalitas data diuji homogenitas. Pada penelitian ini data yang didapatkan tidak homogen

sehingga untuk pengujian non parametrik menggunakan uji Kruskal Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann Whitney.

3.11 Etika Penelitian

Peneliti telah mengusahakan penelitian berjalan dengan memperhatikan prinsip 3R yakni *replacement, reduction, dan refinement*. Penjabaran etika penelitian pada penelitian ini antara lain:

- Peneliti telah memperhitungkan secara seksama keperluan memanfaatkan hewan coba dalam penelitian ini.
- Jumlah sampel pada penelitian ini sudah diperhitungkan menggunakan jumlah sampel terkecil sesuai pendekatan *resource equation*.
- Peneliti telah memperlakukan hewan coba secara manusiawi, memelihara hewan dengan baik, tidak menyakiti hewan, dan meminimalisir perlakuan yang menyakitkan pada hewan coba.
- Peneliti menggunakan sampel preparat hepar tikus galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang didapat dari penelitian utama yang dilaksanakan oleh Falah *et al.*, (2023) dengan judul Efektivitas Pemberian Air Suling *Bioglass* terhadap Kadar Kolesterol Darah Tikus yang Diinduksi *High Fat Diet* (HFD) yang telah disetujui oleh Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dengan nomor etik 12/Ka.Kom.Et/70/KE/VII/2023 kemudian diamandemen dengan nomor etik 10/Ka.Kom.Et/70/KE/XII/2024 (Surat Komisi Etik dilampirkan dalam lampiran 1).

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

4.1.1 Hasil Pengukuran pH Air

Pengukuran pH air dalam penelitian ini dilakukan oleh peneliti sebelumnya di Laboratorium Riset Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia menggunakan menggunakan pH meter yang tersedia. Terdapat dua jenis air yang diukur pHnya yakni air kran sebelum penyulingan dan air kran sesudah disuling dengan *bioglass*. Berdasarkan hasil pengukuran tersebut, pH air kran sebelum disuling adalah 7,56 sedangkan air kran setelah disuling *bioglass* mempunyai pH 8,12. Pengukuran ini menunjukkan bahwa terdapat perubahan pH air menjadi lebih basa setelah penyulingan dengan *bioglass* (Lampiran 2).

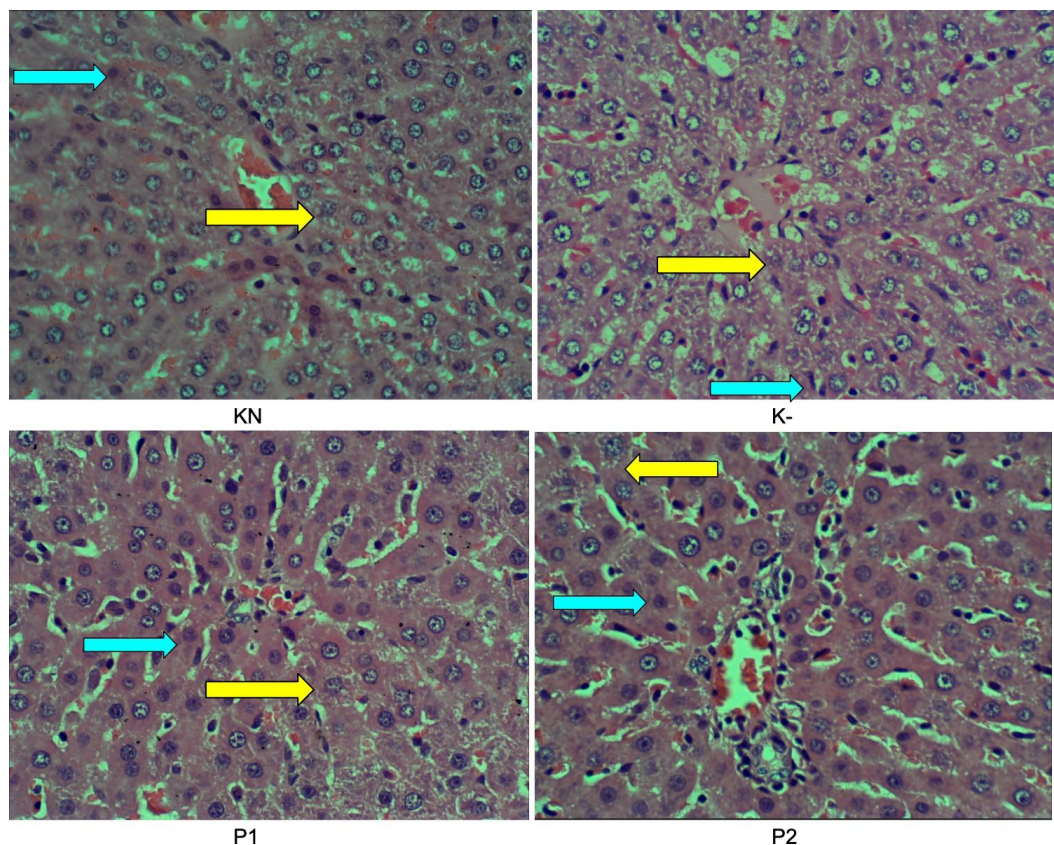
4.1.2 Hasil Pengamatan Histologi Hepar

Sebanyak 20 sampel bahan biologi tersimpan (BBT) hepar yang berasal dari penelitian sebelumnya dianalisis pada penelitian kali ini. Sampel tersebut terbagi menjadi empat kelompok perlakuan, yaitu Kelompok Normal (KN) terdapat 4 preparat hepar tikus, Kelompok Kontrol Negatif (K-) terdapat 6 preparat hepar tikus, Kelompok Perlakuan 1 (P1) terdapat 6 preparat hepar tikus dan Kelompok Perlakuan 2 (P2) terdapat 4 preparat hepar tikus. Perbedaan jumlah tikus pada penelitian kali ini disebabkan kematian tikus pada kelompok KN dan P2 sebanyak 2 ekor tikus di tiap kelompok.

Keseluruhan preparat diamati tanpa terkecuali, karena semua sampel memenuhi kriteria inklusi dan tidak ada yang memenuhi kriteria eksklusi. Sampel penelitian kemudian dibawa ke Gedung Radiopoetro Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan Universitas Gadjah Mada (FKKMK UGM) untuk dilakukan pembuatan preparat. Pembuatan preparat dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi FKKMK UGM pada tanggal 17 September 2024 dan selesai pada tanggal 26 September 2024. Setelah dilakukan pembuatan preparat, selanjutnya dilakukan pengamatan histologis hepar yang dilakukan di Lab Histologi-Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia (FK UII) dalam rentang waktu 1-14 Januari 2025.

Pengamatan histologi hepar dilakukan dengan cara menghitung persentase sel edema di antara 100 sel hepatosit di lima lapang pandang pada zona 3 hepar. Dalam pengamatan dengan perbesaran 400x, didapatkan gambaran

morfologi histologis hepar yang bervariasi pada tiap kelompok yaitu dari gambaran normal hingga *edematous hepatocyte*. Gambaran histologi normal dapat diidentifikasi dengan adanya lobulus berbentuk heksagonal dengan vena sentralis yang terletak di pusat lobulus, dikelilingi oleh hepatosit yang berjejer dalam pola radier. Akan tetapi pada penelitian ini, pada kelompok KN didapatkan pula gambaran *edematous hepatocyte*. Hepatosit yang mengalami edema tampak membesar ukurannya sebesar satu setengah hingga dua kali lebih besar dibandingkan hepatosit normal. Sel-sel ini berbentuk bulat, dengan sitoplasma yang tampak pucat, terang, dan bertekstur retikuler, saat diamati dengan pewarnaan HE. Terkadang, sitoplasma tampak seperti memiliki ruang kosong atau vakuola, yang sebenarnya merupakan pelebaran dari retikulum endoplasma atau kompleks Golgi akibat tekanan dari dalam sel. Gambaran hepatosit normal tertera pada Gambar 11 berada di panah biru sedangkan *edematous hepatocyte* berada di panah kuning.



Gambar 11. Berbagai Gambar Histologi Hepar Tikus di Kelompok KN, Kelompok K-, Kelompok P1, dan Kelompok P2 dengan perbesaran 400x dengan pewarnaan HE, panah biru menandakan sel normal dan panah kuning menandakan *edematous hepatocyte*.

4.1.3 Hasil Analisis *Intraclass Correlation Coefficient* (ICC)

Pengamatan *interobserver* terhadap preparat dilakukan oleh dua orang secara independen, yang bertujuan meningkatkan validitas dan reliabilitas penelitian. Potensi subjektivitas dalam pengamatan dapat diminimalkan dengan melakukan pengamatan *interobserver*, sehingga didapatkan hasil yang lebih sahih. Setelah melakukan pengamatan *interobserver*, data yang didapatkan dianalisis menggunakan *software* pengolah data. Hal ini digunakan untuk menganalisis *Intraclass Correlation Coefficient* (ICC), yang berfungsi untuk menilai kesepakatan dan konsistensi pada kedua pengamat.

Berdasarkan hasil analisis menggunakan ICC, didapatkan derajat kesepakatan dan konsistensi antara rata-rata pengukuran dari setiap pengamat sangat baik, hal ini dibuktikan dengan nilai *average measures* 0,82 dengan tingkat *confidence interval* 95% (Lampiran 3). Hasil analisis ICC yang sangat baik, hal ini dikarenakan didapatkan nilai *average measurable* 0,81-0,99. Karena didapatkan hasil yang sangat baik maka data dapat dilanjutkan untuk dilakukan uji normalitas data (Jackson *et al.* 2018).

4.1.4 Hasil Analisis Histologi Hepar

Berdasarkan hasil pengamatan histologi hepar pada tiap kelompok didapatkan data persentase persentase *edematous hepatocyte*. Tabel 4 menampilkan data distribusi frekuensi sel hepatosis yang mengalami *edematous hepatocyte* pada kelompok KN, K-, P1, dan P2. Data tersebut kemudian dianalisis menggunakan *software* SPSS seri 27 untuk dilakukan uji normalitas data menggunakan uji Shapiro-Wilk. Pemilihan uji Saphiro-Wilk didasari jumlah data yang kurang dari 50 sampel.

Hasil dari uji Saphiro-Wilk didapatkan nilai signifikansi masing-masing kelompok adalah: KN (0,391; $P > 0,05$; 95% CI), K- (0,55; $P > 0,05$; 95% CI), P1 (0,618; $P < 0,05$; 95% CI), P2 (0,924; $P > 0,05$; 95% CI), sehingga data menunjukkan terdistribusi normal. Dikarenakan data yang diperoleh normal, maka dilanjutkan uji homogenitas. Uji homogenitas menunjukkan signifikansi sebesar 0,025 sehingga diinterpretasikan data tidak homogen. Uji non parametrik Kruskal Wallis dipilih untuk pengujian selanjutnya dikarenakan data tidak homogen. Pada uji Kruskal Wallis didapatkan nilai p sebesar 0,004 sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat hasil yang bermakna pada penelitian kali ini.

Selanjutnya uji Mann Whitney digunakan untuk membandingkan masing-masing kelompok dikarenakan data data tidak homogen. Pada Tabel 4 tertera hasil uji Mann Whitney.

Tabel 2. Distribusi Frekuensi Sel yang Mengalami *Edematous Hepatocyte*

Kelompok	Kode Sampel	Presentase	Mean	Standar Deviasi
KN (n=4)	KN 1	53,8%	39%	10,52
	KN 2	30,2%		
	KN 3	33%		
	KN 4	39%		
K- (n=6)	K- 1	68,4%	30,15%	2,3
	K- 2	73,6%		
	K- 3	66,4%		
	K- 4	67,2%		
	K- 5	68,2%		
	K- 6	68,6%		
P1 (n=6)	P1 1	47%	31,11%	0,10
	P1 2	53,2%		
	P1 3	49%		
	P1 4	51,6%		
	P1 5	44,25%		
	P1 6	62%		
P2 (n=4)	P2 1	33,8%	31,25%	10,01
	P2 2	57,2%		
	P2 3	13,2%		
	P2 4	44,8%		

(KN) kelompok yang diberi pakan standar saja, (K-) kelompok yang diinduksi *high-fat diet* (HFD), (P1) kelompok yang diinduksi HFD simvastatin, (P2) kelompok yang diinduksi HFD dan air alkali.

Tabel 3. Hasil Uji Mann Whitney

	KS	K+	P1	P2
KN	x	0,01	0,39	0,24
K+	0,01	X	0,55	0,01
P1	0,39	0,55	x	0,67
P2	0,24	0,01	0,67	x

Hasil uji Mann-Whitney dikatakan signifikan jika memiliki nilai $< 0,05$

4.2 Pembahasan

Pada kondisi hiperlipidemia, hepar dapat mengalami steatosis. Sebelum mengalami steatosis, hepar akan mengalami edema dan *balloning* (Sarwanti *et al*, 2020). *High-fat diet* (HFD) menginduksi edema hepatoseluler melalui lipotoksitas sistemik yang mencetuskan stres retikulum endoplasma (*ER stress*) dan disfungsi

mitokondria, menyebabkan deplesi ATP sehingga terjadi kegagalan pompa Na^+/K^+ -ATPase pada membran hepatosit, yang memicu retensi ion Na^+ intraseluler dan retensi air osmotik. Secara paralel, akumulasi *reactive oxygen species* (ROS) dari stres oksidatif menyebabkan peroksidasi lipid membran sel dan organel meningkatkan permeabilitas membran serta memperburuk kerusakan sitoskeletal. Kejadian yang terus-menerus akan bermanifestasi sebagai pembengkakan hepatosit (*edematous hepatocyte*), yang merupakan tahap awal cedera reversibel (*reversible injury*) sebelum berkembang menjadi steatosis. Temuan ini menegaskan edema hepatosit sebagai "gateway injury" dalam patogenesis NAFLD, di mana deteksi dini melalui penanda seperti hilangnya ekspresi sitokeratin K18 dapat menjadi target intervensi sebelum steatosis ireversibel terbentuk. Oleh karena itu, *edematous hepatocyte* menjadi parameter utama pada penelitian kali ini (Moore *et al.* 2022).

Pada penelitian ini, di semua kelompok terdapat gambaran *edematous hepatocyte*. Persentase kejadian *edematous hepatocyte* dalam setiap kelompok berturut-turut dari yang paling tinggi adalah K- ($68,73\% \pm 2,52$; $P < 0,05$; 95% CI), P1 ($51,17\% \pm 6,19$; $P < 0,05$; 95% CI), KN ($39\% \pm 10,52$; $P < 0,05$; 95% CI), P2 ($37,25\% \pm 18,67$; $P < 0,05$; 95% CI). Tingginya persentase kejadian *edematous hepatocyte* pada kelompok K- menunjukkan bahwa pemberian HFD tanpa intervensi terapi menimbulkan kerusakan hepar yang cukup besar. Induksi HFD pada tikus mampu meningkatkan kadar lipid dalam tubuh yang selanjutnya mengakibatkan perubahan histologi normal tikus menjadi *edematous hepatocyte* (Schneider *et al.* 2023). Rendahnya persentase *edematous hepatocyte* pada kelompok P2 menandakan bahwa uji intervensi air alkali pada tikus yang diinduksi HFD berjalan baik, hal ini dikarenakan air alkali dapat menurunkan dan melindungi hepar dari *edematous hepatocyte* (Jackson *et al.* 2018).

Pada kelompok Kontrol Sehat (KS) persentase *edematous hepatocyte* sebesar $39\% \pm 2,52$ ($P < 0,05$; 95% CI). Angka persentase pada kelompok ini menunjukkan bahwa kelompok tikus yang hanya diberi pakan standar saja juga mengalami edema. *Edematous hepatocyte* pada tikus yang diberikan pakan standar pelet AD2 kemungkinan besar terkait dengan toksisitas pakan. Pelet AD-2 adalah ransum unggas berkadar nutrisi tinggi (51% karbohidrat, 21% protein kasar, lemak 7% dan kalsium 0,8-1%) yang diformulasikan untuk ayam petelur dan aduan. Jika diberikan pada hewan "non-layer" (misalnya tikus atau ayam non-

produktif), komposisi ini tidak sesuai kebutuhan. Diet dengan rasio energi dan protein tinggi diketahui meningkatkan lipogenesis hati dan penimbunan lemak hepatis (Zaefarian *et al.* 2019). Dengan kata lain, kelebihan asupan kalori (energi tinggi) dari AD-2 dapat diubah menjadi trigliserida dan disimpan di hati jika tidak digunakan. Karena itu, tingkat *edematous hepatocyte* yang lebih tinggi pada kelompok AD-2 kemungkinan disesebabkan oleh ketidakseimbangan nutrisi (energi berlebih tanpa kebutuhan yang sepadan) atau kekurangan mikronutrien spesifik, bukan defisiensi kalsium (Lian *et al.* 2020; Zhang *et al.* 2021).

Persentase *edematous hepatocyte* pada kelompok K- pada penelitian ini didapatkan sebesar $68,73\% \pm 2,52$ ($P < 0,05$; 95% CI). Angka tersebut menunjukkan bahwa kelompok K- merupakan kelompok yang memiliki persentase *edematous hepatocyte* terbesar dibanding kelompok lainnya, mengingat perlakuan yang diberikan adalah induksi HFD saja tanpa intervensi terapi. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Lian penggunaan intervensi HFD pada tikus dapat mengakibatkan edema. Hal ini didasari dengan adanya gangguan pada metabolisme lipid hepatosit dan disfungsi organel. Konsumsi HFD dapat meningkatkan *free fatty acid* (FFA) ke hepar melalui lipolisis jaringan adiposa dan penyerapan langsung FFA dari makanan kaya lemak. Kelebihan FFA pada hepar tidak dapat dioksidasi secara optimal karena disfungsi mitokondria, seperti penurunan aktivitas enzim CPT-1 yang diperlukan untuk transportasi asam lemak ke dalam mitokondria dalam proses β -oksidasi. Akibatnya, terjadi akumulasi asam lemak dalam sitoplasma hepatosit yang kemudian disimpan sebagai trigliserida dalam droplet lipid berukuran kecil (Lian *et al.* 2020). Kelainan mitokondria ini diakibatkan oleh peningkatan FFA sendiri yang tidak terkontrol. Peningkatan FFA mengakibatkan gangguan pada proses autofagi, ketika terdapat gangguan autofagi maka dapat mengakibatkan gangguan mitokondria dan stress retikulo endotelial. Kedua hal ini dapat memberikan efek inflamasi dan membuat kerusakan sel sehingga dapat mengakibatkan edema. FFA dapat menstimulasi *reactive oxygen species* (ROS) yang bertanggung jawab atas kehilangan fungsi mitokondria (Lian *et al.* 2020).

Pada kelompok Perlakuan 1 (P1) didapatkan persentase edema sebesar $51,18\% \pm 6,19$ ($P < 0,05$; 95% CI). Hasil persentase pada kelompok P1 lebih besar dari kelompok P2 tetapi lebih kecil dari K-. Hal ini menunjukkan bahwa P1 mampu mengurangi kejadian *edematous hepatocyte* akan tetapi memiliki

potensi yang lebih rendah daripada P2. Kelompok P1 pada penelitian kali ini diinduksi dengan HFD kemudian diberikan simvastatin dosis 10 mg/hari. Secara teoritis seharusnya simvastatin dapat menurunkan persentase edema. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Rodrigues yang menyebutkan bahwa simvastatin mampu menyebabkan penurunan proses peroksidasi lipid yang signifikan, dengan memicu perubahan pada enzim antioksidan superoksida dismutase dan *glutathione peroxidase* (Rodrigues et al. 2019). Simvastatin mengaktifkan enzim antioksidan melalui Nrf2 dan menghambat kerusakan retikulum endoplasma (RE) di hepatosit. Simvastatin juga dapat mencegah disfungsi mikrovaskuler pada tikus yang diberi diet tinggi lemak dan karbohidrat, yang dibuktikan dengan penurunan jumlah sel leukosit dalam sinusoid hepar, penurunan aktivasi sel stelata hepar, dan perbaikan arsitektur dan kepadatan jaringan hepar (Pereira et al. 2022).

Simvastatin secara teoritis memang dapat menurunkan persentase *edematous hepatocyte* (Wang et al. 2024), akan tetapi pada penelitian ini simvastatin tidak mampu mencegah atau memperbaiki *edematous hepatocyte* secara optimal. Lama waktu intervensi simvastatin kemungkinan menjadi faktor utama simvastatin tidak poten dalam mengurangi *edematous hepatocyte*. Suatu penelitian terdahulu menunjukkan bahwa lama waktu yang digunakan untuk mendapatkan target terapeutik simvastatin pada hewan coba selama enam minggu (Pereira et al. 2022), sedangkan dalam penelitian ini lama waktu intervensi selama 4 minggu. Selain lama waktu intervensi, dosis yang diberikan pada tikus diduga juga dapat menjadi faktor yang menyebabkan simvastatin tidak begitu poten dalam menurunkan *edematous hepatocyte*. Berdasarkan PERKI dan PERKENI, konsumsi obat statin dapat menggunakan dosis bertahap antara 5-80 mg. Apabila penggunaan simvastatin dosis rendah tidak berpengaruh, maka dapat menaikkan dosis simvastatin agar mendapatkan hasil yang lebih optimal, sedangkan pada penelitian kali ini simvastatin diberikan dosis tetap sebesar 10 mg tanpa ada peningkatan atau *tapering dose*. Kedua hal ini yang diduga mengakibatkan simvastatin tidak mampu mencegah atau memperbaiki *edematous hepatocyte* secara optimal (Wulandari et al. 2020; Perhimpunan Dokter Spesialis Kardiovaskular Indonesia 2022).

Kelompok Perlakuan 2 (P2) yang diberikan air alkali menunjukkan persentase *edematous hepatocyte* yang paling rendah dibanding kelompok yang

lain. Hal ini menunjukkan bahwa dalam penelitian ini, intervensi menggunakan air alkali memiliki efek yang paling baik dibanding kelompok yang lain. Air alkali dapat menurunkan kadar kolesterol dan trigliserida dengan adanya enzim ACOX dan adinopektin, sehingga ketika kadar kolesterol dan trigliserida dapat diturunkan maka *free fatty acid* (FFA) juga turun. Ketika kadar FFA dapat turun maka risiko terjadinya *edematous hepatocyte* juga menurun (Costa-Vieira *et al.* 2019; Rias *et al.* 2020). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Wulandari, di mana pasien yang diberikan simvastatin dan air alkali dengan pH 8,5 sebanyak 1,5 liter/hari selama 21 hari didapatkan adanya penurunan trigliserida. Penelitian ini membuktikan bahwa konsumsi kombinasi simvastatin dan air alkali dapat menurunkan kadar trigliserida (Wulandari *et al.* 2020). Salah satu faktor utama menurunnya kolesterol pada intervensi air alkali dikarenakan air alkali dapat meningkatkan enzim CYP7A1 (kolesterol 7 α -hidroksilase). Enzim CYP7A1 merupakan katalisator utama dan inhibitor dalam sintesis asam empedu dari kolesterol. Dengan meningkatnya aktivitas CYP7A1, lebih banyak kolesterol diubah menjadi asam empedu. Proses ini dapat mengurangi kadar kolesterol dalam darah karena kolesterol dibuang melalui empedu ke usus dan akhirnya dikeluarkan dari tubuh melalui proses defekasi (Delos Reyes *et al.* 2021; Saengsin *et al.* 2023). Tidak hanya dalam menurunkan kadar kolesterol, air alkali juga dapat memicu peningkatan antioksidan *Superoxide Dismutase* (SOD) dalam LDL serum. Air alkali dapat mengeliminasi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan *Reactive Nitrogen Species* (RNS) secara selektif sehingga air alkali dapat menjadi lipid *regulator* yang baik (Saengsin *et al.* 2023).

4.3 Limitasi Penelitian

1. Durasi pemberian simvastatin yang dilakukan selama 4 minggu kemungkinan kurang mampu mengurangi perkembangan derajat *edematous hepatocyte* hepar yang diinduksi hiperlipidemia.
2. Penyesuaian tingkatan dosis simvastatin dan air alkali tidak dilakukan sehingga berpotensi menyebabkan bias terhadap hasil penelitian.
3. Pengujian enzim hepar ALT/AST tidak dilakukan, hal ini penting digunakan untuk melakukan konfirmasi terhadap hasil dari pemeriksaan histopatologis.

BAB V. SIMPULAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian air alkali dapat menyebabkan persentase perubahan histologis berupa *edematous hepatocyte* pada tikus wistar yang diinduksi *high-fat diet* lebih rendah dibandingkan yang tidak mendapatkan air alkali.

5.2 Saran

1. Perlu penelitian lebih lanjut dengan intervensi simvastatin yang lebih lama dan tingkatan dosis yang disesuaikan.
2. Diperlukan pengujian pada kelompok normal yang diberikan intervensi air alkali untuk mengetahui apakah ada efek tertentu jika diberikan pada kelompok normal.
3. Diperlukan pemeriksaan biokimia pendukung (misal: ALT, AST, kadar trigliserida hepar) untuk mengonfirmasi kerusakan hepar akibat intervensi HFD.
4. Diperlukan uji dosis respon air alkali untuk menentukan optimalisasi efek dan uji toksisitas air alkali.
5. Diperlukan uji molekuler pada air alkali. Hal ini dikarenakan mekanisme molekuler air alkali belum diuji secara langsung (misal: ekspresi gen PPAR- α , SREBP-1c).
6. Diperlukan studi jangka panjang untuk memantau efek samping atau keberlanjutan hasil.

DAFTAR PUSTAKA

- Álvarez Ramírez, A.A., Peláez, J.L., Bermúdez, I.M. and Gordon Botero, J.Y. 2020. Prevalence of hyperlipidemia and its associated factors in university students in Colombia. *Heliyon* 6(11), p. e05417. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e05417.
- Aslanabadi, N., Habibi Asl, B., Bakhshalizadeh, B., Ghaderi, F. and Nemati, M. 2014. Hypolipidemic activity of a natural mineral water rich in calcium, magnesium, and bicarbonate in hyperlipidemic adults. *Advanced pharmaceutical bulletin* 4(3), pp. 303-7. doi: 10.5681/apb.2014.044.
- Aslanabadi, N., Habibi Asl, B., Bakhshalizadeh, B., Ghaderi, F. and Nemati, M. 2015. Hypolipidemic activity of a natural mineral water rich in calcium, magnesium, and bicarbonate in hyperlipidemic adults. *Advanced pharmaceutical bulletin* 4(3), pp. 303-7. doi: 10.5681/apb.2014.044.
- Babakr, A. Mukhtar, M., Althubiti, M., Al-Amodi, H., Almaimani, R., Nour Eldin, M. M., Elzubeir Abdalla, M., & Nasif, W. 2023. Investigation of Hyperlipidemia Associated with Increased Levels of Oxidized Low-Density Lipoproteins and 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity : targets and therapy* 16, pp. 447-455. doi: 10.2147/DMSO.S396676.
- Benetti, F., Andrade, M.P.B., Cantiga-Silva, C., Sivieri-Araújo, G., Dezan Júnior, E., Gomes-Filho, J.E., Diniz, I.M.A., dos Reis-Prado, A.H., Souza, M.T. 2024. Cytotoxicity, Biocompatibility, and Calcium Deposition Capacity of 45S5 Bioglass Experimental Paste and Bio-C Temp: In Vitro and In Vivo Study Using Wistar Rats. *Journal of functional biomaterials* 15(7). doi: 10.3390/jfb15070184.
- Casula, M., Mozzanica, F., Scotti, L., Tragni, E., Pirillo, A., Corrao, G. and Catapano, A.L. 2017. Statin use and risk of new-onset diabetes: A meta-analysis of observational studies. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 27(5), pp. 396-406. doi: 10.1016/j.numecd.2017.03.001.
- Charan, J. and Kantharia, N.D. 2013. How to calculate sample size in animal studies? *Journal of pharmacology & pharmacotherapeutics* 4(4), pp. 303-6. doi: 10.4103/0976-500X.119726.
- Costa-Vieira, D., Monteiro, R. and Martins, M.J. 2019a. Metabolic Syndrome Features: Is There a Modulation Role by Mineral Water Consumption? A Review. *Nutrients* 11(5). doi: 10.3390/nu11051141.
- Delos Reyes, F.S.L.G. Mamaril, A. C. C., Matias, T. J. P., Tronco, M. K. V., Samson, G. R., Javier, N. D., Fadriquela, A., Antonio, J. M., & Sajo, M. E. J. V. 2021. The Search for the Elixir of Life: On the Therapeutic Potential of Alkaline Reduced Water in Metabolic Syndromes. *Processes* 9(11), p. 1876. doi: 10.3390/pr9111876.

- Dwi Andiny, P. and Hidayat, S. 2024. Analisis Persaingan Le Mineral dengan Aqua. *Jurnal Ilmu Manajemen, Bisnis dan Ekonomi (JIMBE)* 2, pp. 1-9. Available at: <https://malaqbipublisher.com/index.php/JIMBE>.
- Fahad, A.M.M., Rasheed, A.S. and Ali, H.H. 2022. Separation And Determination Of Simvastatin On ZIC-HILIC Stationary Phases By Hydrophilic Interaction Chromatography In Pharmaceutical Material Products. *Materials Today: Proceedings* 49, pp. 2817-2821. doi: 10.1016/j.matpr.2021.09.535.
- Faizah, A.K., Damayanti, A., Wijayanti, N. and Nurrahman, D. 2022. Safety assessment of statin-drug interaction effects in cardiology outpatient in Teaching Hospital at Surabaya (Penilaian keamanan efek interaksi obat statin pada pasien kardiovaskular rawat jalan RS Pendidikan di Surabaya). *Jurnal Farmasi Galenika* (9(1), pp. 23-29. Available at: <https://bestjournal.untad.ac.id/index.php/Galenika>.
- Filip, D.G., Surdu, V.-A., Padurarur, A.V. and Andronescu, E. 2022. Current Development in Biomaterials—Hydroxyapatite and Bioglass for Applications in Biomedical Field: A Review. *Journal of Functional Biomaterials* 13(4), p. 248. doi: 10.3390/jfb13040248.
- Filip, G.A. Achim, M., Mihalte, P., Miclaus, M. O., Cristea, C., Melinte, G., Gheban, B., Munteanu, D. M., Cadar, O., Simon, I., Pana, O., Barbu Tudoran, L., Clichici, S., & Stefan, R.. 2021. Design, in vitro bioactivity and in vivo influence on oxidative stress and matrix metalloproteinases of bioglasses in experimental skin wound. *Journal of trace elements in medicine and biology : organ of the Society for Minerals and Trace Elements (GMS)* 68, p. 126846. doi: 10.1016/j.jtemb.2021.126846.
- Filppula, A.M. et al. 2021. Comparative Hepatic and Intestinal Metabolism and Pharmacodynamics of Statins. *Drug Metabolism and Disposition* 49(8), pp. 658-667. doi: 10.1124/dmd.121.000406.
- Fitri, M., Desyani, M., Tinggi, S., Islam, A. and Duri, H. 2021. *MLM) Bussiness System at MCI in Islamic Economic Perspective (Study at Ujung Tanjung Rohil)*. Available at: <http://www.journal.staihubbulwathan.id/index.php/finest/index>.
- Fuchs, T., Loureiro, M. de P., Macedo, L.E., Nocca, D., Nedelcu, M. and Costa-Casagrande, T.A. 2018. Animal models in metabolic syndrome. *Revista do Colegio Brasileiro de Cirurgioes* 45(5), p. e1975. doi: 10.1590/0100-6991e-20181975.
- Gillard, B.K., Rosales, C., Xu, B., Gotto, A.M. and Pownall, H.J. 2018. Rethinking Reverse Cholesterol Transport And Dysfunctional High-Density Lipoproteins. *Journal of Clinical Lipidology* 12(4), pp. 849-856. doi: 10.1016/j.jacl.2018.04.001.

- Göbel, A., Rauner, M., Hofbauer, L.C. and Rachner, T.D. 2020. Cholesterol and beyond - The role of the mevalonate pathway in cancer biology. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer* 1873(2), p. 188351. doi: 10.1016/j.bbcan.2020.188351.
- Gunawan, S., Aulia, A. and Soetikno, V. 2021. Development of rat metabolic syndrome models: A review. *Veterinary world* 14(7), pp. 1774-1783. doi: 10.14202/vetworld.2021.1774-1783.
- Hasymi, A., Mihajat, R. and Umar, B. 2021. Combination Use of Simvastatin and Metformin in Male Wistar Rats Following the Atherogenic Diet. *International Journal of Pharmaceutical Research* 13(02). doi: 10.31838/ijpr/2021.13.02.071.
- Hatano, K. Yoshida, M. A., Hirayama, J., Kitani, Y., Hattori, A., Ogiso, S., Watabe, Y., Sekiguchi, T., Tabuchi, Y., Urata, M., Matsumoto, K., Sakatoku, A., Srivastav, A. K., Toyota, K., Matsubara, H., & Suzuki, N.. 2023. Deep ocean water alters the cholesterol and mineral metabolism of squid *Todarodes pacificus* and suppresses its weight loss. *Scientific Reports* 13(1), p. 7591. doi: 10.1038/s41598-023-34443-x.
- Huang, D.Q., El-Serag, H.B. and Loomba, R. 2021. Global epidemiology of NAFLD-related HCC: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology* 18(4), pp. 223-238. doi: 10.1038/s41575-020-00381-6.
- Jackson, K., Dressler, N., Ben-Shushan, R.S., Meerson, A., LeBaron, T.W. and Tamir, S. 2018a. Effects of alkaline-electrolyzed and hydrogen-rich water, in a high-fat-diet nonalcoholic fatty liver disease mouse model. *World journal of gastroenterology* 24(45), pp. 5095-5108. doi: 10.3748/wjg.v24.i45.5095.
- Jackson, K., Dressler, N., Ben-Shushan, R.S., Meerson, A., LeBaron, T.W. and Tamir, S. 2018b. Effects of alkaline-electrolyzed and hydrogen-rich water, in a high-fat-diet nonalcoholic fatty liver disease mouse model. *World journal of gastroenterology* 24(45), pp. 5095-5108. doi: 10.3748/wjg.v24.i45.5095.
- Jahn, D., Kircher, S., Hermanns, H.M. and Geier, A. 2019. Animal models of NAFLD from a hepatologist's point of view. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 1865(5), pp. 943-953. doi: 10.1016/j.bbadis.2018.06.023.
- Kee, P.S., Chin, P.K.L., Kennedy, M.A. and Maggo, S.D.S. 2020. Pharmacogenetics of Statin-Induced Myotoxicity. *Frontiers in Genetics* 11. doi: 10.3389/fgene.2020.575678.
- Khotimah, H., Anggraeni, E.W. and Setianingsih, A. 2018. Karakterisasi Hasil Pengolahan Air Menggunakan Alat Destilasi. *Jurnal Chemurgy* 1(2), p. 34. doi: 10.30872/cmng.v1i2.1143.

- LeBaron, T. Singh, R. B., Fatima, G., Kartikey, K., Sharma, J. P., Ostojic, S. M., Gvozdjakova, A., Kura, B., Noda, M., Mojto, V., Niaz, M. A., & Slezak, J. . 2020. The Effects of 24-Week, High-Concentration Hydrogen-Rich Water on Body Composition, Blood Lipid Profiles and Inflammation Biomarkers in Men and Women with Metabolic Syndrome: A Randomized Controlled Trial. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy* Volume 13, pp. 889-896. doi: 10.2147/DMSO.S240122.
- Lee, C.-Y. and Lee, C.-L. 2021a. Comparison of the Improvement Effect of Deep Ocean Water with Different Mineral Composition on the High Fat Diet-Induced Blood Lipid and Nonalcoholic Fatty Liver Disease in a Mouse Model. *Nutrients* 13(5), p. 1732. doi: 10.3390/nu13051732.
- Lee, C.-Y. and Lee, C.-L. 2021b. Comparison of the Improvement Effect of Deep Ocean Water with Different Mineral Composition on the High Fat Diet-Induced Blood Lipid and Nonalcoholic Fatty Liver Disease in a Mouse Model. *Nutrients* 13(5), p. 1732. doi: 10.3390/nu13051732.
- Li, Y. , Zheng, T. L., Xiao, S. Y., Wang, P., Yang, W. J., Jiang, L. L., Chen, L. L., Sha, J. C., Jin, Y., Chen, S. D., Byrne, C. D., Targher, G., Li, J. M., & Zheng, M. H.. 2023. Hepatocytic ballooning in non-alcoholic steatohepatitis: Dilemmas and future directions. *Liver International* 43(6), pp. 1170-1182. doi: 10.1111/liv.15571.
- Lian, C.-Y., Zhai, Z.-Z., Li, Z.-F. and Wang, L. 2020. High fat diet-triggered non-alcoholic fatty liver disease: A review of proposed mechanisms. *Chemico-Biological Interactions* 330, p. 109199. doi: 10.1016/j.cbi.2020.109199.
- Mahwal, I., Untari, E.K. and Nurmainah, N. 2022. Perbandingan Statin Terhadap Kejadian Efek Samping Terkait Myalgia. *Jurnal Sains dan Kesehatan* 4(2), pp. 147-154. doi: 10.25026/jsk.v4i2.906.
- Mandriyarini, R., Sulchan, M. and Nissa, C. 2017. Sedentary Lifestyle Sebagai Risiko Kejadian Obesitas Pada Remaja SMA stunted di Kota Semarang. *Journal of Nutrition College* 6(2), p. 149. doi: 10.14710/jnc.v6i2.16903.
- Marian MĂRZA, S., Popescu, S., Tătaru, M., Lăcătuș, R., Cristian PURDOIU, R. and Emil LUCA, V. 2022. *EFFECT OF ALKALINE WATER WITH A pH OF 8.5 ON WEIGHT AND MAIN BLOOD INDICATORS IN RATS*. Romania.
- Moore, M.P. Cunningham, R. P., Meers, G. M., Johnson, S. A., Wheeler, A. A., Ganga, R. R., Spencer, N. M., Pitt, J. B., Diaz-Arias, A., Swi, A. I. A., Hammoud, G. M., Ibdah, J. A., Parks, E. J., & Rector, R. S.. 2022. Compromised hepatic mitochondrial fatty acid oxidation and reduced markers of mitochondrial turnover in human NAFLD. *Hepatology* 76(5), pp. 1452-1465. doi: 10.1002/hep.32324.

- Mota, M., Banini, B.A., Cazanave, S.C. and Sanyal, A.J. 2016. Molecular mechanisms of lipotoxicity and glucotoxicity in nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism* 65(8), pp. 1049-1061. doi: 10.1016/j.metabol.2016.02.014.
- Mullen, P.J., Yu, R., Longo, J., Archer, M.C. and Penn, L.Z. 2016. The interplay between cell signalling and the mevalonate pathway in cancer. *Nature reviews. Cancer* 16(11), pp. 718-731. doi: 10.1038/nrc.2016.76.
- Newman, C.B. Preiss, D., Tobert, J. A., Jacobson, T. A., Page, R. L., 2nd, Goldstein, L. B., Chin, C., Tannock, L. R., Miller, M., Raghuvver, G., Duell, P. B., Brinton, E. A., Pollak, A., Braun, L. T., Welty, F. K., 2019. Statin Safety and Associated Adverse Events: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 39(2). doi: 10.1161/ATV.0000000000000073.
- Overi, D., Carpino, G., Franchitto, A., Onori, P. and Gaudio, E. 2020. Hepatocyte Injury and Hepatic Stem Cell Niche in the Progression of Non-Alcoholic Steatohepatitis. *Cells* 9(3), p. 590. doi: 10.3390/cells9030590.
- Parihar, S.P., Guler, R. and Brombacher, F. 2019. Statins: a viable candidate for host-directed therapy against infectious diseases. *Nature Reviews Immunology* 19(2), pp. 104-117. doi: 10.1038/s41577-018-0094-3.
- Pereira, E.N.G. da S. et al. 2022. Simvastatin Improves Microcirculatory Function in Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Downregulates Oxidative and ALE-RAGE Stress. *Nutrients* 14(3), p. 716. doi: 10.3390/nu14030716.
- Perhimpunan Dokter Spesialis Kardiovaskular Indonesia. 2022. *Panduan Tata Laksana Hiperlipidemia*. pp. 23-27.
- Prasomthong, J., Limpeanchob, N., Daodee, S., Chonpathompikunlert, P. and Tunsophon, S. 2022. Hibiscus sabdariffa extract improves hepatic steatosis, partially through IRS-1/Akt and Nrf2 signaling pathways in rats fed a high fat diet. *Scientific Reports* 12(1), p. 7022. doi: 10.1038/s41598-022-11027-9.
- Rahmawaty, A. et al. 2022. Uji In Silico Kandungan Senyawa Tanaman Anggur (*Vitis Vinifera* L.) Untuk Kandidat Obat Anti Hiperlipidemia. *Original Article MFF* 26(2), pp. 57-62. Available at: <https://preadmet.qsarhub.com/>.
- Randi Al Falah Assyakiri, M., Rahmi, H., Neris, A., Pertambangan, T. and Tinggi Teknologi Industri Padang, S. 2022. Humantech Jurnal Ilmiah Multidisiplin Indonesia Kebutuhan Dosis Kapur Tohor Dalam Penetralkan Air Asam Tambang Kpl Pit 1 Timur Banko Barat PT Bukit Asam. *Jurnal Ilmiah Multidisiplin Indonesia* 2(1), pp. 292-301.
- Rau, G. and Shih, Y.-S. 2021. Evaluation of Cohen's kappa and other measures of inter-rater agreement for genre analysis and other nominal data. *Journal of English for Academic Purposes* 53, p. 101026. doi: 10.1016/j.jeap.2021.101026.

- Raza, S. 2021. Current treatment paradigms and emerging therapies for NAFLD/NASH. *Frontiers in Bioscience* 26(2), p. 4892. doi: 10.2741/4892.
- Rehfeld, J.F. 2021. Cholecystokinin and the hormone concept. *Endocrine connections* 10(3), pp. R139-R150. doi: 10.1530/EC-21-0025.
- Rias, Y.A., Kurniawan, A.L., Chang, C.W., Gordon, C.J. and Tsai, H.T. 2020. Synergistic Effects of Regular Walking and Alkaline Electrolyzed Water on Decreasing Inflammation and Oxidative Stress, and Increasing Quality of Life in Individuals with Type 2 Diabetes: A Community Based Randomized Controlled Trial. *Antioxidants* 9(10), p. 946. doi: 10.3390/antiox9100946.
- Rodrigues, G. Moreira, A. J., Bona, S., Schemitt, E., Marroni, C. A., Di Naso, F. C., Dias, A. S., Pires, T. R., Picada, J. N., & Marroni, N. P. 2019. Simvastatin Reduces Hepatic Oxidative Stress and Endoplasmic Reticulum Stress in Nonalcoholic Steatohepatitis Experimental Model. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2019, pp. 1-10. doi: 10.1155/2019/3201873.
- Saengsin, K., Sittiwangkul, R., Chattipakorn, S.C. and Chattipakorn, N. 2023. Hydrogen therapy as a potential therapeutic intervention in heart disease: from the past evidence to future application. *Cellular and Molecular Life Sciences* 80(6), p. 174. doi: 10.1007/s00018-023-04818-4.
- Sarwanti, Stephanie, M. and Kodariah, R. 2020. Role of CD44 in Non-Alcoholic Steatohepatitis (NASH) Progressivity. *Majalah Patologi Indonesia* 29(2), pp. 71-81. doi: 10.55816/mpi.v29i2.415.
- Schneider, L.J., Santiago, I., Johnson, B., Stanley, A.H., Penaredondo, B. and Lund, A.K. 2023. Histological features of non-alcoholic fatty liver disease revealed in response to mixed vehicle emission exposure and consumption of a high-fat diet in wildtype C57Bl/6 male mice. *Ecotoxicology and environmental safety* 261, p. 115094. doi: 10.1016/j.ecoenv.2023.115094.
- Semmler, G., Datz, C., Reiberger, T. and Trauner, M. 2021. Diet and exercise in NAFLD/NASH: Beyond the obvious. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver* 41(10), pp. 2249-2268. doi: 10.1111/liv.15024.
- Siswanto, E., Purwanto, N.H. and Sutomo. 2021. *Efektivitas Konsumsi Air Alkali Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Acak Pada Penderita Diabetes Mellitus Tipe 2*. Mojokerto.
- Takahashi, Y. and Fukusato, T. 2014. Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *World journal of gastroenterology* 20(42), pp. 15539-48. doi: 10.3748/wjg.v20.i42.15539.
- Talreja O, Kerndt CC and Cassagnol M. 2024. *Simvastatin*. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532919/> [Accessed: 5 August 2024].

- Todorovic, N., Fernández-Landa, J., Santibañez, A., Kura, B., Stajer, V., Korovljević, D. and Ostojic, S.M. 2023. The Effects of Hydrogen-Rich Water on Blood Lipid Profiles in Clinical Populations: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Pharmaceuticals* 16(2), p. 142. doi: 10.3390/ph16020142.
- Vekic, J., Stromsnes, K., Mazzalai, S., Zeljkovic, A., Rizzo, M. and Gambini, J. 2023. Oxidative Stress, Atherogenic Dyslipidemia, and Cardiovascular Risk. *Biomedicines* 11(11), p. 2897. doi: 10.3390/biomedicines11112897.
- Vuu, Y.M., Kadar Shahib, A. and Rastegar, M. 2023. The Potential Therapeutic Application of Simvastatin for Brain Complications and Mechanisms of Action. *Pharmaceuticals* 16(7), p. 914. doi: 10.3390/ph16070914.
- Wali, J.A., Jarzebska, N., Raubenheimer, D., Simpson, S.J., Rodionov, R.N. and O'Sullivan, J.F. 2020. Cardio-Metabolic Effects of High-Fat Diets and Their Underlying Mechanisms—A Narrative Review. *Nutrients* 12(5), p. 1505. doi: 10.3390/nu12051505.
- Wang, S., Li, Z., Chang, Y., Dong, K., He, D. and Cheng, X. 2024. Simvastatin Inhibits the Formation of NETs by the Mac-1 Pathway to Reduce Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury under High-Fat Conditions. *Discovery Medicine* 36(187), p. 1721. doi: 10.24976/Descov.Med.202436187.158.
- Ward, N.C., Watts, G.F. and Eckel, R.H. 2019. Statin Toxicity. *Circulation Research* 124(2), pp. 328-350. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.118.312782.
- Werdiningsih, W., Biokimia, S. 1, Bhakti, I. and Kediri, W. 2019. Effect Of Red Pitahaya (Hylocereus Polyrhiziu) On Triglycerides Of Male White Rats (Rattus Norvegicus) That Given Hight Fat Diet. *Wiyata* 6(2), pp. 111-116.
- Wiggins, B.S. Page, R. L., 2nd, Reed, B. N., Sneed, K., Kostis, J. B., Lanfear, D., Virani, S., Morris, P. B., 2016. Recommendations for Management of Clinically Significant Drug-Drug Interactions With Statins and Select Agents Used in Patients With Cardiovascular Disease: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation* 134(21). doi: 10.1161/CIR.0000000000000456.
- Wilhelmina W.M., Hewen, Rr., Listyawati Nurina and Debora S. Liana. 2019. Pengaruh Pemberian Ektrak Bawang Putih (Allium sativum) Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Total Tikus Putih (Rattus norvegicus) Dengan Hiperkolesterol. *Cendana Medical Journal*, 18(3), pp. 572-580.
- Wulandari, P., Suwondo, A., Sri, R. and Astuti, E.P. 2020. Utilization of Alkaline Water as An Alternative Complementary Therapy on Triglyceride Levels among Patients with Grade I Hypertension. *International Journal of Nursing and Health Services (IJNHS)* 3(6), pp. 662-671. Available at: <http://ijnhs.net/index.php/ijnhs/home><http://doi.org.10.35654/ijnhs.v3i6.358>.
- Zaefarian, F., Abdollahi, M.R., Cowieson, A. and Ravindran, V. 2019. Avian Liver: The Forgotten Organ. *Animals* 9(2), p. 63. doi: 10.3390/ani9020063.

- Zhang, S. and Zuo, P. 2023. Obesity-hyperlipidemia, Hypertension, and Left Atrial Enlargement During Stroke in Young Adults. *The neurologist* 28(6), pp. 386-390. doi: 10.1097/NRL.0000000000000505.
- Zhang, Z. Liu, S., Qi, Y., Aluo, Z., Zhang, L., Yu, L., Li, Q., Luo, Z., Sun, Z., Zhou, L., & Li, Y.. 2021. Calcium supplementation relieves high-fat diet-induced liver steatosis by reducing energy metabolism and promoting lipolysis. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 94, p. 108645. doi: 10.1016/j.jnutbio.2021.108645.
- Zhou, X.-D. Cai, J., Targher, G. 2022. Metabolic dysfunction-associated fatty liver disease and implications for cardiovascular risk and disease prevention. *Cardiovascular Diabetology* 21(1), p. 270. doi: 10.1186/s12933-022-01697-0.
- Zwartjes, M.S.Z., Gerdes, V.E.A. and Nieuwdorp, M. 2021. The Role of Gut Microbiota and Its Produced Metabolites in Obesity, Dyslipidemia, Adipocyte Dysfunction, and Its Interventions. *Metabolites* 11(8). doi: 10.3390/metabo11080531.

LAMPIRAN

Lampiran 1. *Ethical clearance*



FAKULTAS
KEDOKTERAN

Gedung Dr. Soekiman Wirjesandjojo
Kampus Terpadu Universitas Islam Indonesia
Jl. Kaliurang km 14,5 Yogyakarta 55584
T. (0274) 898444 ext. 2096, 2097
F. (0274) 898459 ext 2007
E. fk@uii.ac.id
W. fk.uui.ac.id

Nomor : 10/Ka.Kom.Et/70/KE/XII/2024

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK

ETHICAL APPROVAL

Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran dan kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Islamic University of Indonesia, with regards of the protection of human rights and welfare in medical and health research, has carefully reviewed the research protocol entitled :

“Potensi Air Alkali terhadap Perubahan Histologis Hepar Tikus Wistar yang Diinduksi *High Fat Diet*”

Peneliti Utama : **Muhammad Hably Hukma Aula**
Principal Investigator

Nama Institusi : **Program Studi Pendidikan Dokter FK UII**
Name of the Institution

dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
and approved the above-mentioned protocol.



Yogyakarta, 27 Desember 2024

Ketua
Chairman

dr. Riana Rahmawati, M.Kes, Ph.D

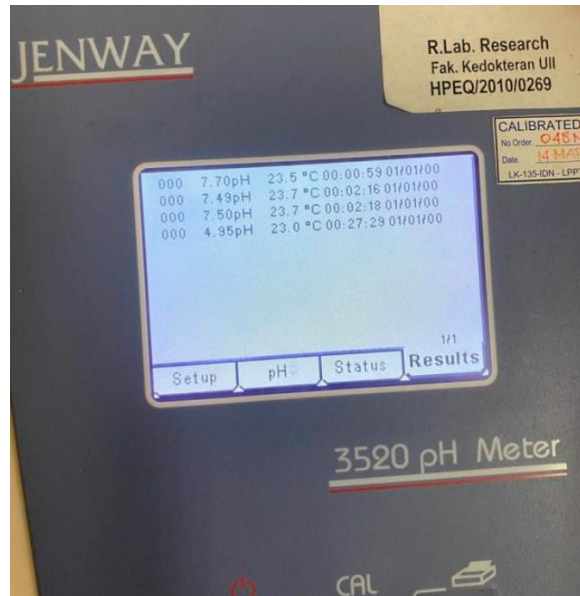
**Ethical Approval* berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan

**Peneliti berkewajiban

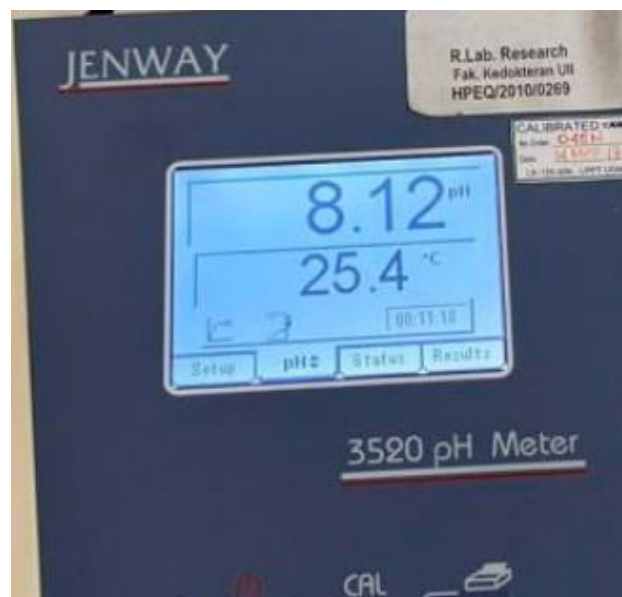
1. Menjaga kerahasiaan identitas subyek penelitian
2. Memberitahukan status penelitian apabila :
 - a. Setelah masa berlakunya keterangan lolos kaji etik, penelitian masih belum selesai, dalam hal ini *ethical clearance* harus diperpanjang
 - b. Penelitian berhenti di tangan jalan
3. Melaporkan kejadian serius yang tidak diinginkan (*serious adverse events*)
4. Peneliti tidak boleh melakukan tindakan apapun pada subyek sebelum penelitian lolos kaji etik dan *informed consent*

Lampiran 2. Hasil pengukuran pH air

a. Sebelum intervensi

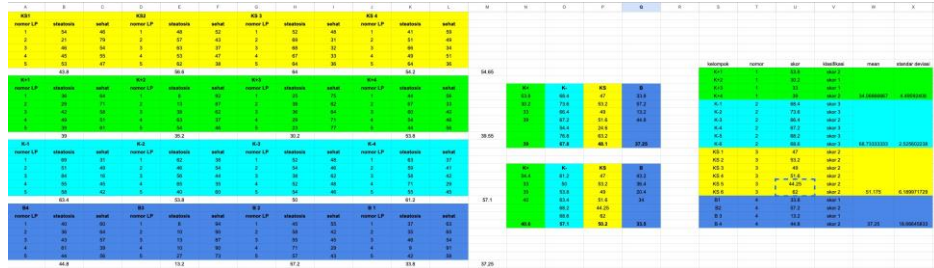


b. Pasca intervensi



Lampiran 3. Hasil SPSS dan Excel

a. hasil ICC



Intraclass Correlation Coefficient

	Intraclass Correlation ^b	95% Confidence Interval		F Test with True Value 0			
		Lower Bound	Upper Bound	Value	df1	df2	Sig.
Single Measures	.707 ^a	.341	.887	5.822	15	15	.001
Average Measures	.828 ^c	.508	.940	5.822	15	15	.001

Two-way mixed effects model where people effects are random and measures effects are fixed.

a. The estimator is the same, whether the interaction effect is present or not.

b. Type C intraclass correlation coefficients using a consistency definition. The between-measure variance is excluded from the denominator variance.

c. This estimate is computed assuming the interaction effect is absent, because it is not estimable otherwise.

b. hasil tes normalitas

Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
steatosis KN	.250	4	.	.892	4	.391
K-	.354	6	.018	.796	6	.055
P1	.205	6	.200 [*]	.935	6	.618
P2	.177	4	.	.984	4	.924

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

c. hasil homogenitas data

Test of Homogeneity of Variances

steatosis

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.091	3	16	.025

d. hasil uji kruskal wallisHigh

Test Statistics^{a,b}

	steatosis
Chi-Square	13.440
df	3
Asymp. Sig.	.004

Lampiran 4. Komposisi Intervensi Tikus

a. Komposisi *high fat diet*

Ingredients	Modified High fat diet
Protein	17.7
Fat	20% (4.2% + Pea nut oil 15.8%)
Carbohydrate	50.5
Fiber	3.4
Mineral	6.7
Vitamin	1.7

b. Komposisi pelet AD 2

Nutrien	Kandungan Nutrisi Ransum Layer 1
Energi metabolisme (kkal/kg)	2.720,00
Protein kasar (%)	18,20
Lemak kasar (%)	7,00
Serat kasar (%)	2,90
Abu (%)	12,67
Kalsium (%)	3,90
Fosfor total (%)	0,74
Fosfor tersedia (%)	0,45
Sodium (%)	0,19
Chloride (%)	0,14
Lysine (%)	1,01
Methionine (%)	0,50
Threoinine (%)	0,74
Lysine tercerna (%)	0,84
Methionine tercerna (%)	0,46