

Lihat diskusi, statistik, dan profil penulis untuk publikasi ini di: <https://www.researchgate.net/publication/346779583>

# Lactobacillus fermentum Ginseng yang difermentasi KP-3 memperbaiki penyakit hati yang diinduksi alkohol pada tikus C57BL/6N melalui jalur AMPK dan MAPK

Artikel dalam Makanan & Fungsi · November 2020

DOI: 10.1039/D0FO02396E

KUTIPAN

7

BACA

27

7 penulis, antara lain:



Ying kamu

Universitas Pertanian Jilin


16 PUBLIKASI 169 KUTIPAN

LIHAT PROFIL



Kutip ini: DOI: 10.1039/d0fo02396e

# Lactobacillus fermentum Ginseng yang difermentasi KP-3 memperbaiki penyakit hati yang diinduksi alkohol pada Tikus C57BL/6N melalui jalur AMPK dan MAPK†

Ying You,<sup>a</sup> Yan-long Liu,<sup>b</sup> Zhi-Yi Ai,<sup>a</sup> Yu-Shan Wang,<sup>a</sup> Jun-Mei Liu,<sup>a,c</sup>  
Chun-Hong Piao<sup>a,c</sup> dan Yu-Hua Wang <sup>a,c</sup>

*Panax ginseng* difermentasi menggunakan *Lactobacillus fermentum* KP-3, dan kadar sisi minor ginseno diukur. Kemudian, efek ginseng yang difermentasi pada cedera hati akibat alkohol diselidiki. Tikus C57BL / 6N secara acak ditugaskan ke 4 kelompok: pasangan yang diberi makan (PF), yang diberi makan alkohol (AF), alkohol dengan ginseng non-fermentasi (AF + NFG) dan alkohol dengan kelompok ginseng yang difermentasi (AF + FG). Setelah pengobatan selama 8 minggu, intervensi ginseng yang difermentasi secara signifikan mengurangi kadar serum ALT, AST, LPS, TG dan TC dibandingkan dengan kelompok AF. Hasil western-blotting menunjukkan bahwa ginseng yang difermentasi mengaktifkan jalur adenosine-monophosphate-activated protein kinase (AMPK) untuk menghambat de novo lipo genesis di hati dan menghambat fosforilasi p38 melalui jalur mitogen-activated protein kinase (MAPK) untuk meringankan peradangan hati, dan efek ini lebih unggul daripada ginseng non-fermented. Selanjutnya, ginseng yang difermentasi mengurangi kerusakan oksidatif hati yang diinduksi alkohol dengan meningkatkan kadar enzim antioksidan. Temuan ini menunjukkan bahwa produk ginseng yang difermentasi *L. fermentum* KP-3 dapat digunakan sebagai nutraceutical diet potensial untuk mengurangi cedera hati alkoholik.

Diterima 11 September 2020,  
Diterima 24 September 2020

DOI: 10.1039/d0fo02396e

rsc.li/food-function

## 1. Perkenalan

Insiden penyakit hati alkoholik (ALD) meningkat setiap tahun karena minum berlebihan. Hati mengatur penyerapan, sintesis, katabolisme dan transportasi lipid. Steatosis hati, ditandai dengan akumulasi tetes lipid, adalah tahap utama ALD. Selanjutnya, beberapa pecandu alkohol berkembang menjadi hepatitis. Kemudian, steatohepatitis berkelanjutan dapat menyebabkan fibrosis hati, sirosis, atau bahkan karsinoma hati.<sup>1</sup> Setelah cedera memburuk, kemampuan perbaikan diri hati terganggu dan perawatan medis diperlukan. Oleh karena itu, memang perlu ditemukan cara yang efektif untuk mengobati atau memperbaiki ALD untuk mencegah perburukan ini.

*Panax ginseng*, tanaman tradisional Cina, dianggap sebagai nutraceutical penting yang mendominasi nutraceutical

pasar di banyak negara Asia. Aktivitas fisiologisnya yang terkenal termasuk efek anti-obesitas, anti-inflamasi dan anti kanker.<sup>2,3</sup> Selain itu, *P. ginseng* berpotensi meningkatkan penyakit hati,<sup>4</sup> menunjukkan bahwa ginseng dapat menjadi bahan kandidat untuk memerangi ALD. Ginsenoside ditemukan menjadi komponen aktif yang paling penting dalam ginseng. Penelitian telah mengkonfirmasi bahwa ginsenosides mayor kurang diserap dalam saluran pencernaan manusia, tetapi mereka dapat didegradasi menjadi ginsenosides minor yang lebih mudah diserap di usus.<sup>5</sup> Ginsenosides minor dengan molekul gula yang lebih sedikit, seperti Rg3, CK, dan Rh2, rendah atau tidak ada dalam ginseng, tetapi memiliki aktivitas farmakologis yang lebih baik daripada senosida gin utama. Oleh karena itu, metode kimia, fisik dan biologis digunakan untuk mengubah ginsenosides mayor menjadi ginsenosides minor. Namun, metode kimia sering menunjukkan selektivitas yang buruk dan efisiensi yang rendah, dan reagen akan menyebabkan kerusakan parah pada lingkungan; metode fisik seringkali membutuhkan lebih banyak waktu dan energi panas, meningkatkan biaya produk ginseng. Dari metode ini, metode biologis, seperti metode enzimatik dan mikroba, lebih ramah lingkungan dan kondisi reaksinya ringan; namun, aktivitas enzim tidak stabil, yang membatasi pemanfaatannya. Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang memainkan peran menguntungkan dalam inang. Mereka

<sup>a</sup> Sekolah Tinggi Ilmu dan Teknik Pangan, Universitas Pertanian Jilin, Changchun, Cina. Email: yuhua-ww@163.com; Telp: +86 0431 84515118; Faks: +860431 84515118 b

<sup>c</sup> Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi, Universitas Kedokteran Wenzhou, Wenzhou, Cina  
<sup>†</sup> Laboratorium Pengolahan Nasional untuk Industri dan Teknologi Kedelai, Changchun, Cina

Informasi tambahan elektronik (ESI) tersedia. Lihat DOI: 10.1039/d0fo02396e

Kontribusi yang setara.

dianggap sebagai strain yang umumnya dianggap aman (GRAS). Oleh karena itu, fermentasi probiotik lebih efektif daripada yang lain karena keamanannya yang lebih baik dan kontaminasi yang lebih rendah. Aktivitas biologis ginseng ditingkatkan setelah fermentasi probiotik; Kim JH et al. menunjukkan bahwa setelah *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* LT 19-2, kandungan ginsenosides minor Rh1, F2, dan Rg3 meningkat dan fungsi imunomodulator ditingkatkan. *Lactobacillus fermentum* KP-3 dipisahkan dan diperoleh dari acar, dan diawetkan di laboratorium kami, dan dianggap menjadi salah satu galur GRAS dan dapat digunakan dalam bidang pangan. Dalam penelitian kami sebelumnya, ginseng yang difermentasi oleh *L. fermentum* KP-3 dapat secara efektif mengubah ginsenoside utama Rb1 menjadi sisi ginseno minor Rg3 dan F2, dan efek ginseng yang difermentasi secara signifikan ditingkatkan dalam mengurangi cedera hati berlemak yang diinduksi diet tinggi. pada tikus dengan menghilangkan hiperlipidemia serta penyakit hati yang diinduksi alkohol dengan mengatur flora usus; 9,10 namun, mekanisme efek ginseng fermentasi *L. fermentum* KP-3 pada ALD masih belum jelas. Oleh karena itu, dalam penelitian ini, kami bertujuan untuk mengetahui mekanisme pengaruh ginseng fermentasi *L. fermentum* KP-3 dalam meningkatkan ALD.

## 2. Bahan-bahan dan metode-metode

### 2.1 Bahan

Ginseng berusia lima tahun (*Panax ginseng* CA Meyer) dibeli dari Ji'an, provinsi Jilin, Cina. *L. fermentum* KP-3 diawetkan di Universitas Pertanian Jilin.

### 2.2 Kultur *L. fermentum* KP-3

*L. fermentum* KP-3 yang dibekukan diinokulasi ke dalam kaldu *Lactobacillus* De Man, Rogosa dan Sharpe cair yang disterilkan (MRS Broth; Qingdao Hai-bo, CN) (3% v/v) dan dikultur pada suhu 37 °C selama 20 jam, dan kemudian disubkultur tiga kali.

### 2.3 Persiapan sampel ginseng yang difermentasi

Ginseng yang difermentasi disiapkan sesuai dengan metode kami sebelumnya. 9,10 Secara singkat, ginseng dicuci, dihancurkan, dan disterilkan. *L. fermentum* KP-3 diinokulasi 5% ke dalam flury steril, kemudian campuran difermentasi pada suhu 37 °C dengan pengocokan lembut selama 48 jam. Kemudian disterilisasi pada suhu 121 °C selama 20 menit.

### 2.4 Analisis ginsenosides menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dan kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC)

TLC dan HPLC digunakan untuk menganalisis perubahan kadar noside ginse antara ginseng non-fermentasi dan fermentasi. Sampel ginseng diekstraksi dengan *n*-butanol jenuh air kemudian diuapkan. Selanjutnya, semua sampel dilarutkan dalam metanol untuk mempersiapkan sampel analitik. Secara singkat untuk analisis KLT, sampel dipisahkan menggunakan pelarut pengembang (kloroform : metanol : air = 10 : 5 : 1), kemudian divisualisasikan menggunakan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10% pada suhu 105 °C selama 5 menit. Untuk analisis HPLC, sampel dipisahkan dengan Kolom C18 Kesatuan (4,6 mm × 250 mm, 5 m) menggunakan sistem HPLC

(Perairan, Jepang) pada 25 °C. Volume injeksi adalah 10 L, laju alir 1,0 mL min<sup>-1</sup> dan fase gerak terdiri dari 0,05% asam fosfat berair (A) dan asetonitril (B). Analisis sampel diulang tiga kali.

### 2.5 Uji aktivitas antioksidan in vitro

Kapasitas antioksidan total (T-AOC), dan anion superoksida dan kemampuan penghambatan radikal hidroksil ditentukan menggunakan kit T-AOC, dan kit anion superoksida dan radikal hidroksil (Nanjing Jian Cheng Bioengineering Inc., Nanjing, CHN), masing-masing. Semua percobaan diulang tiga kali.

### 2.6 Desain percobaan hewan Semua

tikus diperlakukan sesuai dengan protokol yang mengikuti Pedoman Perawatan dan Penggunaan Hewan Laboratorium Universitas Pertanian Jilin dan disetujui oleh Komite Etika Hewan Universitas Pertanian Jilin. Empat puluh tikus jantan C57BL/6 dibeli dari perusahaan Bei Jing Wei Tong-li. Tikus secara acak dibagi menjadi empat kelompok (n = 10): kelompok yang diberi makan berpasangan (PF), kelompok yang diberi makan alkohol (AF), AF + kelompok yang diberi makan ginseng yang tidak difermentasi (AF + NFG) dan AF + yang diberi makan ginseng yang difermentasi kelompok (AF + FG). Setelah pemberian pakan adaptif selama seminggu, tikus diberi pakan cair Lieber-DeCarli selama delapan minggu. Diet mengandung 18% energi sebagai protein, 35% sebagai lemak dan 47% sebagai karbohidrat. Selain itu, 36% karbohidrat diganti dengan alkohol (diet AF) atau maltosa dekstrin isokalorik (diet PF). Selama dua minggu terakhir, sampel ginseng non-fermentasi atau fermentasi ditambahkan ke AF + NFG atau AF + FG, masing-masing, pada 390 mg per kg per tikus. Tikus dikorbankan setelah puasa semalaman. Sampel serum dan jaringan hati segera dikumpulkan dan disimpan pada suhu -80 °C untuk analisis lebih lanjut.

### 2.7 Pewarnaan Hematoxylin-eosin

Jaringan hati difiksasi dalam larutan paraformaldehid 4% selama 24 jam dan kemudian ditanam dalam parafin untuk pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan hematoxylin-eosin (HE).

### 2.8 Uji biokimia Kadar

alanine aminotransferase (ALT), aspartate amino transferase (AST), trigliserida (TG), low density lipoprotein (LDL), kolesterol total (TC), malondialdehid (MDA), protein karbonil, katalase (CAT), glutathione peroksidase (GSH-PX) dan superoksida dismutase (SOD) di hati dan atau serum ditentukan dengan menggunakan kit uji yang sesuai (semua dari Nanjing Jian Cheng Bioengineering Inc., Nanjing, CHN); dan lipopoli sakarida (LPS), tumor necrosis factor (TNF- $\gamma$ ), dan interleukin-6 (IL-6) diperiksa menggunakan ELISA kit (R&D, USA).

### 2.9 RT-PCR assay

Metode ini diturunkan dari Wang et al.<sup>11</sup> Secara singkat, total RNA diekstraksi dan dibalik. RT-PCR dilakukan menggunakan campuran SYBR Premix Ex Taq TM (TAKALA, Jepang) dengan Biometra TProfessional PCR (Jena, Jerman). Urutan forward dan reverse primer (5' to 3') adalah sebagai berikut: protein pengikat elemen pengatur sterol (SREBP-1c) urutan maju: GCA

GCC ACC ATC TAG CCT G; Urutan terbalik SREBP-1c: CAG CAG TGA GTC TGC CTT GAT; Urutan maju -aktin: GGC TGT ATT CCC CTC CAT CG; dan urutan terbalik -aktin: CCA GTT GGT AAC AAT GCC ATG T. Nilai perubahan lipatan dihitung menggunakan metode 2 $\gamma\gamma$ Ct .

2.10 Analisis Western blot

Kami mengikuti metode Zhang et al.<sup>12</sup> Sampel dipisahkan menggunakan elektroforesis dan protein dipindahkan ke Membran PVDF (Millipore, Boston, MA, AS). membran diperiksa menggunakan antibodi terhadap phospho-adenosine 5 $\gamma$ -monofosfat (AMP)-diaktifkan protein kinase (AMPK), fosfo-asetil-KoA karboksilase 2 (p-ACC), asetil-KoA karboksi lase 2 (ACC), fosfo-p38, p38 (Teknologi Pensinyalan Sel, Danvers, MA, US) protein transfer trigliserida mikrosomal (MTP), dan -aktin (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, KITA). Kepadatan pita protein diukur menggunakan ImageJ.

2.11 Analisis statistik

Data dinyatakan sebagai mean  $\pm$  SEM Semua data dianalisis menggunakan uji perbandingan ganda ANOVA satu arah dan uji t menggunakan Prisma 7.0. Perbedaan antara kelompok dianggap signifikan pada P <0,5.

3. Hasil

3.1 Perubahan kadar ginsenoside dalam ginseng fermentasi KP-3

Untuk analisis kromatografi lapis tipis (KLT), intensitas dari ginsenosides minor (ESI, Gambar. S1, ditunjukkan dengan panah) diperdalam, menunjukkan bahwa level di bawah umur ginsenosides meningkat setelah fermentasi; analisis HPLC juga dilakukan dan hasilnya menunjukkan bahwa kadar ginsenosides minor 20(S)-Rg3, Rh2 dan F2 meningkat oleh 269,87%, 198,46% dan 153,98% setelah fermentasi, masing-masing (Tabel 1, ESI, Gambar. S2 $\dagger$ ). Hasil ini menunjukkan bahwa isi ginsenosides minor secara signifikan ditingkatkan setelah fermentasi L. fermentum KP-3, dan ini konsisten dengan penelitian kami sebelumnya

3.2 Aktivitas antioksidan in vitro dari ginseng fermentasi KP-3

Kami membandingkan aktivitas antioksidan in vitro dari ginseng non-fermentasi dan fermentasi. Hasilnya menunjukkan bahwa T-AOC aktivitas serta kemampuan penghambatan hidroksil dan radikal anion superoksida semuanya meningkat secara signifikan setelah fermentasi, menunjukkan bahwa ginseng yang difermentasi lebih baik kemampuan antioksidan dari ginseng non-fermentasi (Gbr. 1).

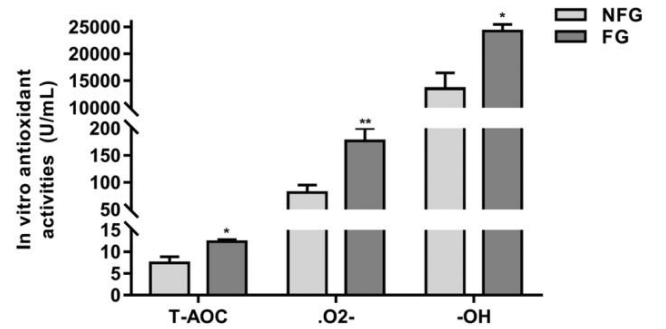
3.3 Efek ginseng fermentasi KP-3 pada makanan tikus asupan dan indeks organ

Asupan makanan dicatat setiap minggu (Gbr. 2B) dan organ indeks dihitung untuk semua kelompok (Tabel 2). Kami menemukan tidak ada perbedaan dalam asupan makanan atau berat badan di antara semua kelompok setelah delapan minggu makan, menunjukkan bahwa kalori asupan pada setiap kelompok adalah sama. Berat hati dan hati indeks meningkat secara signifikan oleh paparan alkohol, dan

Tabel 1 Perubahan ginsenosides dari ginseng yang difermentasi KP-3

Ginsenosides	Tidak difermentasi ginseng (mg g $\gamma$ 1 )	difermentasi ginseng (mg g $\gamma$ 1 )	Mengubah tarif (%)
Rb1	1,960 $\pm$ 0,0051	0,157 $\pm$ 0,0038***	91,89
Rb2	0,740 $\pm$ 0,0037	0,120 $\pm$ 0,0021***	83,86
Rb3	0,110 $\pm$ 0,0017	0,127 $\pm$ 0,0014	+25,70
Rd	0,880 $\pm$ 0,0038	0,317 $\pm$ 0,0018***	63,72
Rg1	0,727 $\pm$ 0,0054	0,180 $\pm$ 0,0032***	74,86
Re	0,257 $\pm$ 0,0042	0,060 $\pm$ 0,0015*	77,18
Rf	0,470 $\pm$ 0,0017	0,557 $\pm$ 0,0038	+18,51
Ginsenosida utama	0,514 $\pm$ 0,0094	0,152 $\pm$ 0,0064***	70,62
F1	0,457 $\pm$ 0,0038	0,830 $\pm$ 0,0025**	+84,07
F2	0,019 $\pm$ 0,0002	0,048 $\pm$ 0,0006*	+153,98
Rh1 + Rg2	0,530 $\pm$ 0,0032	1,193 $\pm$ 0,0026***	+127,32
20(S)-Rg3	0,480 $\pm$ 0,0035	1,750 $\pm$ 0,0047***	+269,87
20(R)-Rg3	0,387 $\pm$ 0,0020	0,520 $\pm$ 0,0073	+34,25
Rh2	0,163 $\pm$ 0,0024	0,480 $\pm$ 0,0044**	+198,46
Ginsenoside kecil	2,036 $\pm$ 0,0096	4,821 $\pm$ 0,0100***	+136,79

Data disajikan sebagai mean  $\pm$  SEM (n = 3); efek signifikan antara ginseng non-fermentasi dan fermentasi: \*P <0,05, \*\*P <0,01, \*\*\*P < 0,001; " $\gamma$ " artinya berkurang dan "+" artinya bertambah.

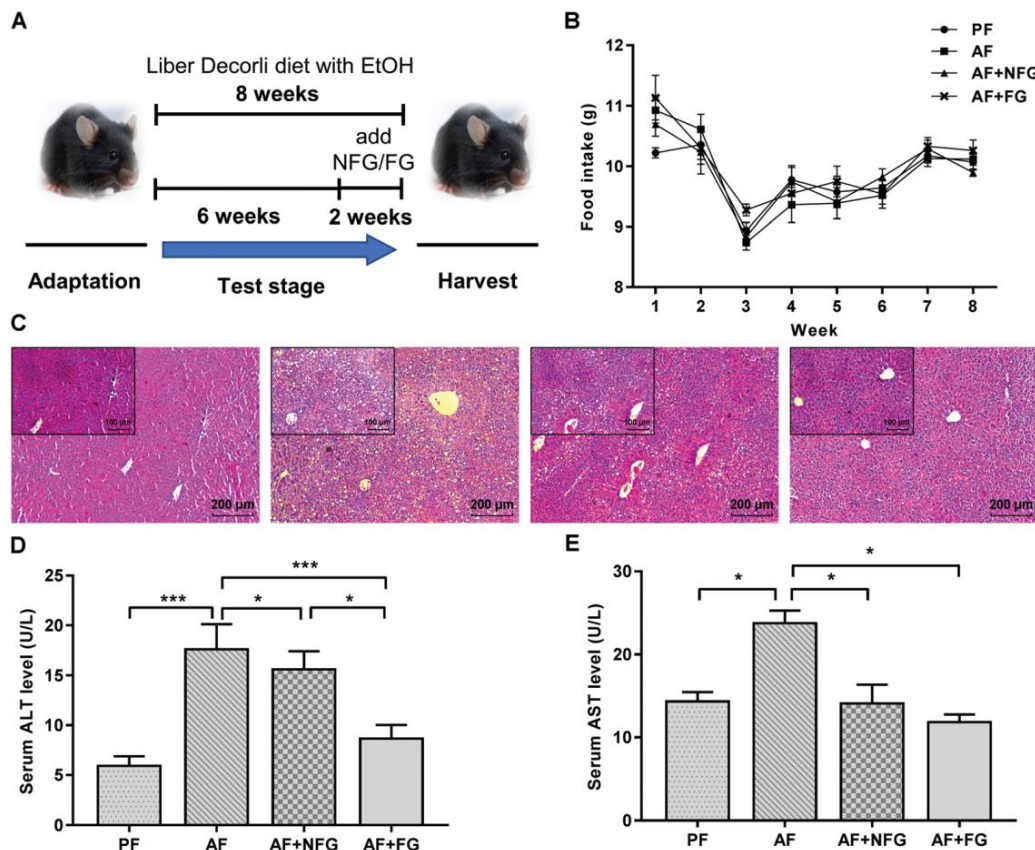


Gbr. 1 Kapasitas antioksidan in vitro dari ginseng yang difermentasi KP-3. NFG: ginseng non-fermentasi; FG: ginseng yang difermentasi; T-AOC: kemampuan anti oksidan total; • O2 : kemampuan penghambatan anion superoksida bebas radikal; –OH: aktivitas penghambatan radikal hidroksil. Data disajikan sebagai mean  $\pm$  SEM (n = 3). Efek signifikan antara NFG dan FG: \* P < 0,05 dan \*\* P < 0,01.

pengobatan ginseng yang difermentasi secara nyata mengurangi ini meningkat (P <0,05), sedangkan ginseng non-fermentasi tidak. Lebih lanjut, ginseng yang difermentasi dan tidak difermentasi secara signifikan menurunkan peningkatan indeks lemak perut dan perirenal yang diinduksi alkohol.

3.4 Efek ginseng fermentasi KP-3 pada tikus ALD

Dibandingkan dengan kelompok PF, tetesan lipid hati meningkat secara dramatis pada kelompok AF, dan situasi ini dilemahkan oleh pengobatan dengan fermentasi atau non-fermentasi ginseng (Gbr. 2C). Baik ginseng yang difermentasi atau tidak difermentasi membalikkan peningkatan serum yang dimediasi alkohol dan atau tingkat TC, TG dan LDL hati (Tabel 2). Perlu disebutkan bahwa ginseng yang difermentasi menunjukkan potensi yang lebih besar daripada ginseng yang tidak difermentasi dalam hal mengurangi TG dan LDL hati. tingkat (P <0,01). Khususnya, kadar TG dan LDL hati menurun secara signifikan masing-masing sebesar 30% dan 61%, setelah fermentasi



Gbr. 2 Efek ginseng fermentasi KP-3 pada karakteristik dasar tikus dengan cedera hati yang diinduksi alkohol. Desain untuk perawatan hewan (A), asupan makanan mingguan (B), pewarnaan H&E bagian hati tikus (C), kadar serum ALT (D) dan AST (E). PF: kelompok makan berpasangan; AF: kelompok yang diberi alkohol; AF + NFG: alkohol yang ditambah dengan kelompok ginseng non-fermentasi; dan AF + FG: alkohol yang disuplementasi dengan kelompok ginseng fermentasi KP-3. Data disajikan sebagai mean  $\pm$  SEM (n = 10). Efek signifikan antara kelompok yang berbeda: \* P < 0,05 dan \*\*\* P < 0,001.

Tabel 2 Pengaruh ginseng fermentasi KP-3 terhadap hati, lemak perut, indeks s dan profil lipid mencit

Kelompok	PF	AF	AF + NFG	AF + FG
Berat badan (g)	26,95 $\pm$ 0,92a	26,84 $\pm$ 0,82a	25,99 $\pm$ 0,63a	25,92 $\pm$ 0,41a
Hati/BW (mg g <sup>-1</sup> )	40,19 $\pm$ 0,81a	51,48 $\pm$ 1,42b	50,68 $\pm$ 0,79b	46,65 $\pm$ 0,97c
Indeks lemak perut (mg g <sup>-1</sup> )	23,92 $\pm$ 2,59a	29,96 $\pm$ 1,79b	21,77 $\pm$ 1,94a	22,50 $\pm$ 1,27a
Indeks lemak perirenal (mg g <sup>-1</sup> )	8,43 $\pm$ 1,53a	10,76 $\pm$ 1,09b	7,74 $\pm$ 0,96a	6,68 $\pm$ 0,47a
Serum TG (protein mmol g <sup>-1</sup> )	1,117 $\pm$ 0,126a	1,795 $\pm$ 0,063b	1,287 $\pm$ 0,098c	1,156 $\pm$ 0,075a, c
LDL serum (protein mmol g <sup>-1</sup> )	2,028 $\pm$ 0,139a	2,914 $\pm$ 0,309b	1,894 $\pm$ 0,088a	1,708 $\pm$ 0,156a
TG hati (protein mmol g <sup>-1</sup> )	0,0403 $\pm$ 0,0019a	0,0859 $\pm$ 0,0083b	0,0672 $\pm$ 0,0058c	0,0530 $\pm$ 0,0042d
TC hati (protein mmol g <sup>-1</sup> )	0,0389 $\pm$ 0,0040a	0,0527 $\pm$ 0,0028b	0,0482 $\pm$ 0,0041c	0,0465 $\pm$ 0,0034c
LDL hati (protein mmol g <sup>-1</sup> )	0,0181 $\pm$ 0,0026a	0,0213 $\pm$ 0,0033b	0,0192 $\pm$ 0,0021a	0,0103 $\pm$ 0,0019c

Nilai disajikan sebagai mean  $\pm$  SEM (n = 10). Nilai rata-rata pada baris yang sama dengan superskrip yang berbeda (a, b, c dan d) adalah signifikan berbeda (P < 0,05). BW: berat badan akhir.

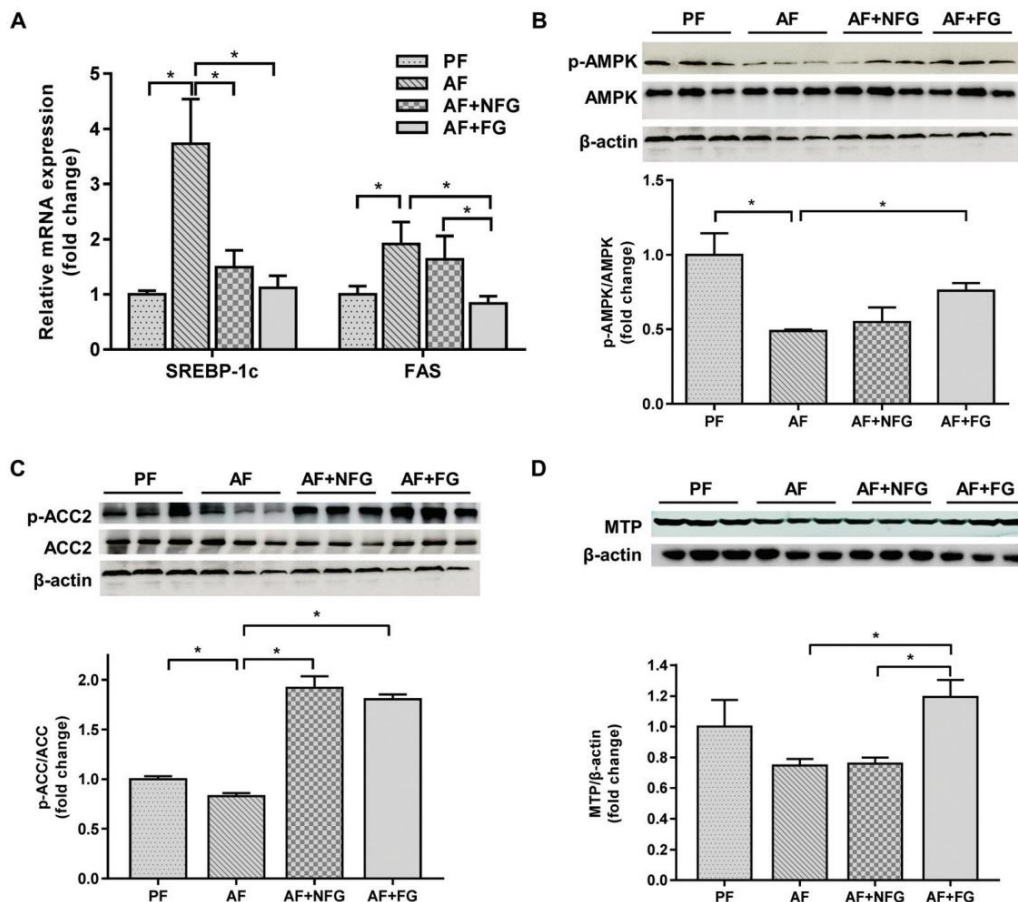
pengobatan ginseng. Sementara itu, pemberian ginseng yang difermentasi secara nyata mengurangi peningkatan yang diinduksi alkohol dalam tingkat ALT dan AST, dan efek ini lebih unggul daripada ginseng non-fermentasi (Gbr. 2D dan E).

### 3.5 Efek ginseng fermentasi KP-3 pada lipid gangguan metabolisme pada tikus ALD

Berdasarkan pengamatan bahwa pengobatan ginseng yang difermentasi memiliki efek yang lebih besar pada akumulasi lipid hati yang diinduksi alkohol

lasi, beberapa penanda kunci yang berpartisipasi dalam metabolisme lipid hati dinilai. Hasil kami menunjukkan bahwa fermentasi ginseng secara signifikan membalikkan penurunan yang diinduksi alkohol fosforilasi AMPK hati (P < 0,05), dan non-fermentasi ginseng juga meningkatkan fosforilasi hati AMPK tetapi perbedaannya tidak signifikan dibandingkan dengan kelompok AF (Gbr. 3B). Sebagai pengatur utama sintesis kolesterol dan asam lemak, SREBP-1c adalah faktor transkripsi yang mengatur ekspresi gen terkait untuk sintesis lipid, seperti





Gbr. 3 Efek ginseng fermentasi KP-3 pada metabolisme lipid hati tikus dengan cedera hati yang diinduksi alkohol. SREBP-1 dan FAS . relatif ekspresi mRNA (A), ekspresi protein p-AMPK, AMPK (B), p-ACC, ACC (C) dan MTP (D). -Actin digunakan sebagai kontrol untuk bercak protein. PF: kelompok makan berpasangan; AF: kelompok yang diberi alkohol; AF + NFG: alkohol yang ditambah dengan kelompok ginseng non-fermentasi; dan AF + FG: suplemen alkohol dengan kelompok ginseng fermentasi KP-3. Data disajikan sebagai mean  $\pm$  SEM (n = 3). Efek signifikan antara kelompok yang berbeda: \* P < 0,05.

acid synthase (FAS).<sup>13</sup> Kami menemukan bahwa ginseng yang difermentasi dan tidak difermentasi secara signifikan mengurangi peningkatan level ekspresi mRNA SREBP-1c dan FAS, dan ginseng yang difermentasi menunjukkan potensi yang lebih besar daripada ginseng yang tidak difermentasi dalam mengurangi ekspresi mRNA FAS (Gbr. 3A). Selain itu, hasil menunjukkan bahwa alkohol diinduksi penurunan fosforilasi ACC2 di hati tikus, dan penurunan ini sangat diblokir oleh fermentasi dan perawatan ginseng non-fermentasi (Gbr. 3C). Untuk transpor lipid, paparan alkohol memiliki tren menurun tetapi tidak dampak signifikan pada ekspresi protein MTP dibandingkan dengan Kelompok PF (Gbr. 3D), dan ginseng yang difermentasi secara nyata mengurangi penurunan dibandingkan dengan kelompok AF (P < 0,05); Namun, pengobatan ginseng non-fermentasi tidak signifikan mempengaruhi ekspresi protein MTP.

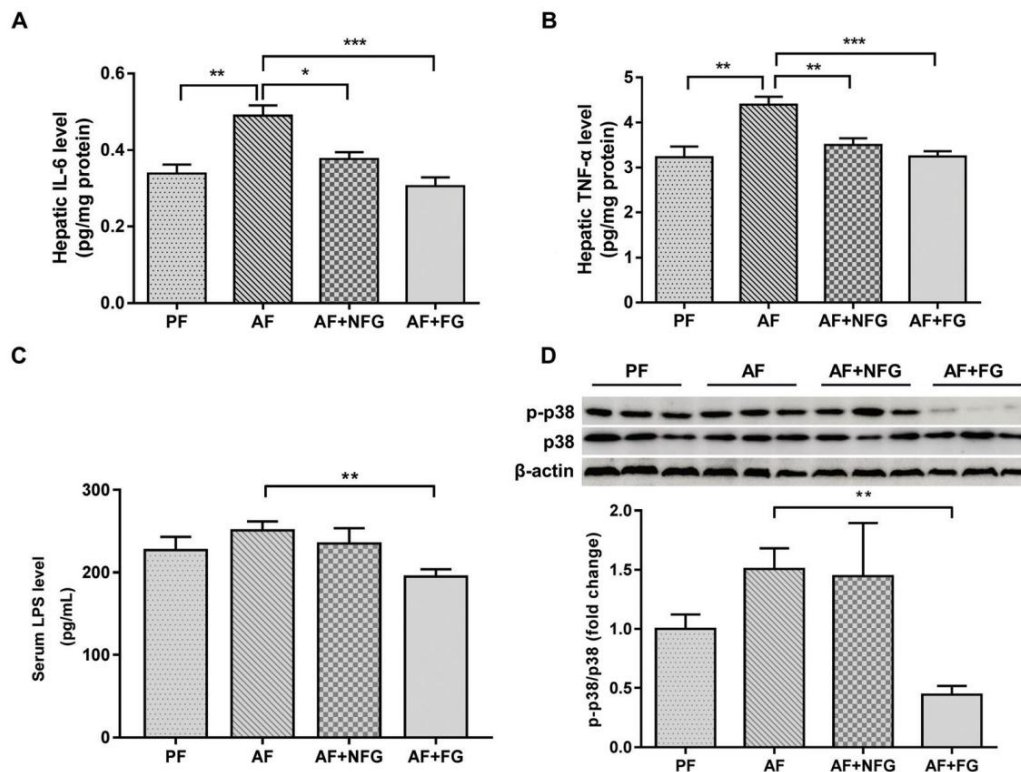
### 3.6 Efek ginseng fermentasi KP-3 pada hati peradangan pada tikus ALD

Dibandingkan dengan kelompok PF, pemberian alkohol secara signifikan meningkatkan kadar TNF- $\gamma$  dan IL-6 hati. (Gbr. 4A dan B, P < 0,05), dan meningkatkan kadar LPS serum (tidak signifikan, Gambar 4C); baik fermentasi dan non-fermentasi

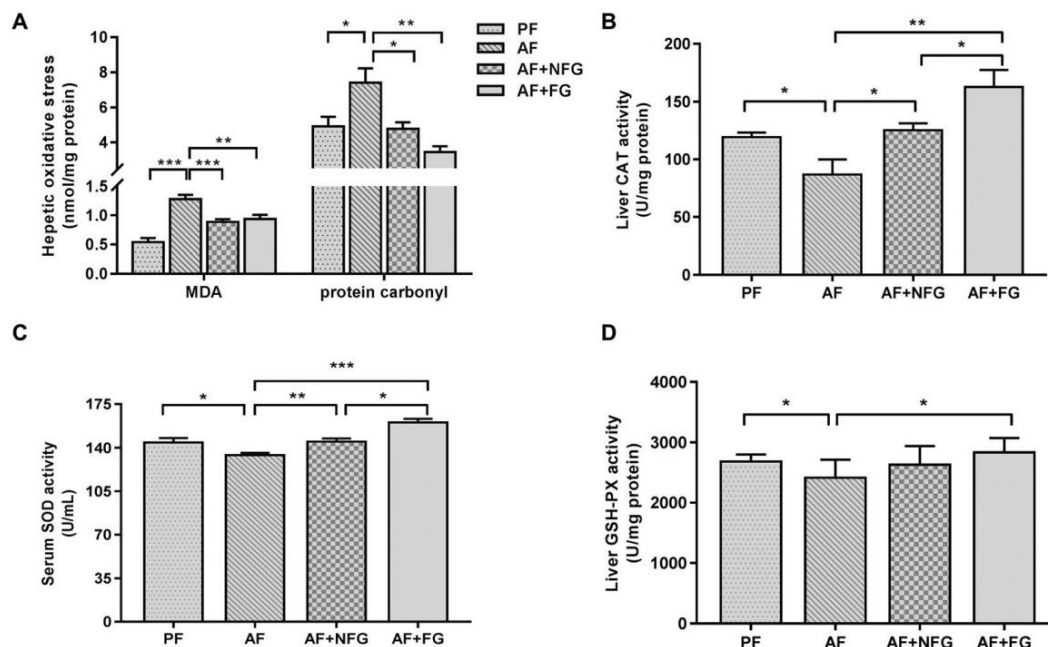
ginseng menurunkan faktor-faktor ini dibandingkan dengan kelompok AF, dan ginseng yang difermentasi menunjukkan efek yang lebih baik daripada ginseng yang tidak difermentasi (Gbr. 4A-C). Jalur pensinyalan P38, sebagai salah satu anggota keluarga MAPK, diaktifkan oleh fosforilasi dan menyebabkan proliferasi sel dan inflamasi respon dalam tubuh.<sup>14</sup> Dalam penelitian ini, difermentasi ginseng secara signifikan menurunkan fosforilasi p38 dibandingkan dengan kelompok AF (P < 0,05), sedangkan ginseng non-fermentasi tidak (Gbr. 4D), menunjukkan bahwa aktivitas anti-inflamasi ginseng meningkat secara signifikan setelah L. fermentum KP-3 fermentasi.

### 3.7 Efek ginseng fermentasi KP-3 pada stres oksidatif pada tikus ALD

Paparan alkohol juga memicu stres oksidatif hati.<sup>15</sup> kandungan protein karbonil dan MDA, serta aktivitasnya SOD, CAT dan GSH-PX ditentukan. Pemberian alkohol secara signifikan meningkatkan protein karbonil dan MDA (Gbr. 5A) dan menurunkan aktivitas CAT, SOD dan GSH-PX (Gbr. 5B-D), menunjukkan bahwa paparan alkohol menyebabkan kerusakan oksidatif hati; perubahan ini dibalik oleh keduanya ginseng fermentasi dan ginseng non-fermentasi. Ini berharga



Gbr. 4 Efek ginseng fermentasi KP-3 pada peradangan hati pada tikus dengan cedera hati yang diinduksi alkohol. Tingkat faktor inflamasi hati TNF- $\alpha$  (A) dan IL-6 (B), kadar LPS serum (C), dan ekspresi protein p-p38, p38, -aktin digunakan sebagai kontrol untuk protein blot (D). PF: kelompok makan berpasangan; AF: kelompok yang diberi alkohol; AF + NFG: alkohol yang ditambah dengan kelompok ginseng non-fermentasi; dan AF + FG: alkohol ditambah dengan kelompok ginseng fermentasi KP-3. Data disajikan sebagai mean  $\pm$  SEM (n = 10 atau n = 3). Pengaruh signifikan antara kelompok yang berbeda: \* P < 0,05, \*\* P < 0,001 dan \*\*\* P < 0,001.



Gbr. 5 Efek ginseng fermentasi KP-3 pada stres oksidatif pada tikus dengan cedera hati yang diinduksi alkohol. Faktor stres oksidatif hati dari MDA dan kadar karbonil protein (A), aktivitas CAT hati (B), aktivitas SOD serum (C) dan aktivitas GSH-PX hati (D). PF: kelompok makan berpasangan; AF: kelompok yang diberi alkohol; AF + NFG: alkohol yang ditambah dengan kelompok ginseng non-fermentasi; dan AF + FG: alkohol yang disuplementasi dengan kelompok ginseng fermentasi KP-3. Data disajikan sebagai mean  $\pm$  SEM (n = 10). Pengaruh signifikan antara kelompok yang berbeda: \* P < 0,05, \*\* P < 0,001, dan \*\*\* P < 0,001.

menyebutkan bahwa ginseng yang difermentasi memiliki efek yang lebih baik daripada ginseng yang tidak difermentasi dalam hal meningkatkan aktivitas SOD serum dan CAT hati (Gbr. 5B dan C) ( $P < 0,05$ ).

## 4. Diskusi

Banyak penelitian melaporkan bahwa aktivitas biologis dan farmasi ginsenosides berhubungan negatif dengan jumlah molekul gula.<sup>16</sup> Namun, kandungan ginsenosides minor rendah atau tidak ada dalam ginseng. Fermentasi probiotik diakui sebagai cara yang lebih efektif dan ekonomis untuk meningkatkan kandungan ginsenoside.<sup>17</sup> Dalam penelitian ini, *L. fermentum* KP-3, yang dianggap sebagai galur GRAS, digunakan untuk memfermentasi ginseng. Shuichi Segawa dkk. mengungkapkan bahwa pemberian oral 100 mg kg<sup>-1</sup> atau 500 mg kg<sup>-1</sup> *Lactobacillus brevis* SBC8803 yang dibunuh dengan panas dapat memperbaiki ALD pada tikus, menunjukkan bahwa strain yang mati juga memiliki efek perlindungan pada ALD.<sup>18</sup> Namun, dalam penelitian ini, berat *L. fermentum* KP-3 dalam cairan fermentasi ginseng adalah sekitar 0,39 mg kg<sup>-1</sup>, yang terlalu rendah untuk dibandingkan dengan yang dilaporkan dalam penelitian sebelumnya (100 mg kg<sup>-1</sup> dan 500 mg kg<sup>-1</sup>)<sup>18</sup> bahkan hingga dampak *L. fermentum*

Studi telah mengungkapkan bahwa ginsenosides, terutama ginsenosides minor, berpotensi melawan obesitas dengan meningkatkan pengeluaran energi dan mengurangi asupan energi.<sup>19</sup> Misalnya, ginsenoside Rg3 minor meningkatkan metabolisme kolesterol melalui peningkatan regulasi CYP7A1 pada hepatosit primer tikus;<sup>20</sup> dan ginsenoside kecil F1 dilemahkan kadar trigliserida dan akumulasi lipid dalam adiposit 3T3-L1.<sup>21</sup> Dalam penelitian ini, kandungan total ginsenosides dan kadar ginsenosides minor (seperti Rg3, F2 dan Rh2) meningkat secara signifikan setelah fermentasi menggunakan *L. fermentum* KP-3 (Tabel 1), yang mungkin menjadi alasan mengapa ginseng yang difermentasi lebih kuat daripada ginseng yang tidak difermentasi dalam hal melemahkan akumulasi lipid hati dengan mengurangi kadar TG, TC, dan LDL (Tabel 2).

AMPK adalah pengatur utama keseimbangan energi yang diekspresikan dalam sel eukariotik. Sebagai saklar utama metabolisme kunci, fosforilasinya memainkan peran penting dalam metabolisme lipid hati dengan mengurangi sintesis asam lemak dan meningkatkan oksidasi asam lemak.<sup>22</sup> Oleh karena itu, aktivasi AMPK dapat dianggap sebagai target terapi untuk mengurangi efek mia hiperlipidemia.<sup>23</sup> Studi telah mengkonfirmasi bahwa ginsenosides minor seperti Rg3 dan Rh2 memberikan efek menguntungkan pada anti-obesitas dengan menghambat diferensiasi adiposit melalui aktivasi jalur AMPK.<sup>24,25</sup> Selain itu, Senyawa K ginsenoside minor menunjukkan aktivitas melemahkan steatosis hati melalui jalur AMPK pada tikus diabetes tipe 2. Sejalan dengan penelitian sebelumnya, hasil kami menunjukkan bahwa ginseng yang difermentasi secara signifikan membalikkan pengurangan fosforilasi AMPK hati yang diinduksi alkohol (Gbr. 3B), dan akibatnya melemahkan steatosis hati yang diinduksi alkohol (Gbr. 2). Aktivasi AMPK menurunkan ekspresi SREBP-1c untuk menghambat sintesis lipid de novo hati. SREBP-1c adalah faktor transkripsi yang mengatur gen lipogenik di hati, seperti

FAS.<sup>13</sup> Etanol secara nyata mengaktifkan SREBP-1c dengan akumulasi trigliserida di hati. Sebuah penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ginsenosides yang diekstraksi dari ginseng merah Korea, di mana kandungan ginsenosides minor meningkat setelah perlakuan panas, menghambat akumulasi lipid hepatosit dengan menurunkan tingkat ekspresi SREBP-1c.<sup>27</sup> Konsisten dengan hasil penelitian sebelumnya, ginseng setelah fermentasi oleh *L. fermentum* KP-3 secara signifikan membalikkan peningkatan tingkat ekspresi mRNA SREBP-1c dan FAS yang diinduksi alkohol dan efek ini lebih baik daripada ginseng non-fermentasi (Gbr. 3A), menunjukkan bahwa hal itu mungkin dikaitkan dengan kandungan ginsenosides minor yang lebih tinggi dalam ginseng yang difermentasi (Tabel 1). Selain menghambat sintesis lipid, aktivasi AMPK juga mendorong katabolisme lipid. Ini juga menyediakan cara yang efektif untuk meringankan akumulasi lipid hati. AMPK memfosforilasi enzim target untuk mengatur oksidasi asam lemak, seperti ACC2.<sup>28</sup> Data kami menunjukkan bahwa ginseng yang difermentasi dan tidak difermentasi meningkatkan fosforilasi ACC2, sehingga secara efektif mempromosikan oksidasi asam lemak hati (Gbr. 3C). Menariknya, ginseng yang difermentasi oleh *L. fermentum* KP-3 juga mengatur transpor lipid hepatik. MTP memainkan peran penting dalam transportasi lipid, berpartisipasi dalam transfer TG dan kolesterol di hati.<sup>29</sup> Newberry et al. melaporkan penurunan sekresi MTP yang mendorong steatosis hati.<sup>30</sup> Dalam penelitian ini, etanol secara nyata mengurangi tingkat ekspresi MTP di hati. Pengobatan dengan ginseng yang difermentasi secara signifikan membalikkan pengurangan ekspresi MTP yang diinduksi alkohol, sementara ginseng yang tidak difermentasi tidak berpengaruh (Gbr. 3D). Singkatnya, hasil kami mendukung gagasan bahwa ginseng setelah fermentasi menggunakan *L. fermentum* KP-3 lebih berpotensi memperbaiki steatosis hati, dan efek menguntungkan dari fermentasi dapat dikaitkan dengan peningkatan ginsenosides minor dalam ginseng yang difermentasi.

Hal ini rentan untuk menginduksi peradangan hati dengan akumulasi lemak di hati. Hasil kami mengungkapkan bahwa pemberian alkohol trasi secara signifikan meningkatkan tingkat LPS serum serta tingkat IL-6 dan TNF- $\alpha$  hati, menunjukkan terjadinya peradangan hati (Gbr. 4A-C). Penelitian telah menunjukkan bahwa jalur pensinyalan protein kinase (MAPK) yang diaktifkan mitogen pada saat aktivasi berpartisipasi dalam proses kelangsungan hidup sel, diferensiasi, dan apoptosis, dan sementara itu, juga mengarah pada respons inflamasi.<sup>14</sup> Keluarga MAPK mencakup empat jalur klasik, yaitu, ERK, JNK, p38, dan ERK5. Yu Hua Wang dkk. telah mengkonfirmasi bahwa *L. rhamnosus* GG melengkapi membalikkan peradangan hati tikus yang diinduksi alkohol dengan menghambat jalur p38 dan ERK MAPK.<sup>31</sup> Oleh karena itu, menghambat aktivasi jalur MAPK dianggap sebagai target untuk mengurangi hepatitis. Kami menemukan bahwa ginseng yang difermentasi secara signifikan menurunkan fosforilasi yang diinduksi alkohol pada jalur p38 (Gbr. 4D) tetapi tidak pada jalur ERK dan JNK (ESI, Gbr. S3†). Khususnya, ginseng yang tidak difermentasi tidak berdampak pada penghambatan fosforilasi p38, membuktikan bahwa fermentasi *L. fermentum* KP-3 secara signifikan meningkatkan aktivitas anti-inflamasi ginseng.

Cedera hati berlemak alkoholik dan peradangan hati sangat berkorelasi dengan stres oksidatif, karena penimbunan lemak



lasi menyebabkan peroksidasi lipid, lebih lanjut memicu kerusakan oksidatif.<sup>32,33</sup> Umumnya, radikal bebas bereaksi dengan lipid atau protein, menghasilkan peningkatan kadar MDA dan protein karbonil, masing-masing. Ketidakseimbangan antara tingkat oksidan dan pertahanan antioksidan seluler berkontribusi terhadap

peningkatan stres oksidatif seluler. Baru-baru ini, saponin ginseng telah terbukti memberikan efek antioksidan. Sohn dkk.

membandingkan aktivitas antioksidan ginseng putih dan merah, dan menemukan bahwa ginseng merah lebih efektif daripada ginseng putih dalam mengurangi stres oksidatif yang diinduksi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dalam sel hepa toma.<sup>34</sup> Ding et al. melaporkan bahwa cedera hati akut yang diinduksi etanol dapat ditingkatkan dengan saponin Panax notoginseng melalui penurunan stres oksidatif yang dimediasi etanol dan memperbaiki akumulasi lipid hati.<sup>35</sup> Dalam penelitian ini, ginseng yang difermentasi melemahkan peningkatan produksi protein karbonil dan MDA yang disebabkan oleh pemberian alkohol dan meningkatkan aktivitas CAT, SOD dan GSH-PX (Gbr. 5). Selain itu, kapasitas antioksidan in vitro ginseng juga ditingkatkan setelah fermentasi, termasuk kemampuan penghambatan radikal anion hidroksil dan superoksida, dan aktivitas T-AOC (Gbr. 1). Ginseng yang difermentasi menunjukkan kemampuan antioksidan yang lebih baik daripada ginseng yang tidak difermentasi baik secara in vivo maupun in vitro, menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan superiornya mungkin terkait dengan fermentasi *L. fermentum* KP-3.

## 5. Kesimpulan

Kesimpulannya, fermentasi ginseng menggunakan *L. fermentum* KP-3 meningkatkan cedera hati yang diinduksi alkohol dengan melemahkan akumulasi lipid hati dan peradangan melalui aktivasi jalur AMPK dan penghambatan jalur p38 MAPK, masing-masing, menunjukkan potensi ginseng yang difermentasi oleh *L. fermentum* KP-3 untuk pengembangan produk fungsional.

## Konflik kepentingan

Kami ingin mengonfirmasi bahwa tidak ada konflik antar est terkait dengan naskah ini.

## Ucapan Terima Kasih

Pekerjaan ini didukung oleh Program R&D Kunci Nasional Tiongkok (2017YFE0105400).

## Referensi

- 1 K. Wegermann, AM Diehl dan CA Moylan, Jalur penyakit dan mekanisme molekuler nonalkohol stea tohepatitis, Clin. Hati Dis., 2018, 11, 87–91.
- 2 S. Kang dan H. Min, Ginseng, 'Peningkatan Kekebalan': Efek Panax ginseng pada Sistem Kekebalan Tubuh, J. Ginseng Res., 2012, 36, 354–368.
- 3 MR Lee, BC Kim, R. Kim, HI Oh, HK Kim, KJ Choi dan CK Sung, Efek anti-obesitas ekstrak ginseng hitam pada tikus yang diberi diet tinggi lemak, J. Ginseng Res., 2013, 37, 308–314.
- 4 CF Hu, LP Sun, QH Yang, DX Lu dan S. Luo, Ginsenosides dari batang dan daun ginseng mencegah akumulasi lipid yang diinduksi etanol dalam hepatosit L02 manusia, Dag. J. Integrasi Med., 2017, 23, 438–444.
- 5 H. Hasegawa, Bukti khasiat misterius ginseng: uji dasar dan klinis: aktivasi metabolik sisi ginseno: deglikosilasi oleh bakteri usus dan esterifikasi dengan asam lemak, J. Pharmacol. Sci., 2004, 95, 153-157.
- 6 DH Kim, Keragaman Kimia Panax ginseng, Panax quinquefolium, dan Panax notoginseng, J. Ginseng Res., 2012, 36, 1–15.
- 7 JE Hwang, KT Kim dan HD Paik, Peningkatan Sifat Antioksidan, Anti-inflamasi, dan Anti-adipogenik Ginseng Hidroponik Difermentasi oleh *Leuconostoc mesenteroides* KCCM 12010P, Molecules, 2019, 24, 3359.
- 8 JH Kim, EH Doo, M. Jeong, S. Kim, YY Lee, J. Yang, JS Lee, JH Kim, KW Lee, CS Huh dan S. Byun, Meningkatkan Fungsi Imunomodulator Ginseng Merah Melalui Fermentasi Menggunakan *Bifidobacterium animalis* Subsp . lactis LT 19-2, Nutrients, 2019, 11, 1481.
- 9 B. Nan, YL Liu, Y. You, WC Li, JJ Fan, YS Wang, CH Piao, DL Hu, GJ Lu dan Y. Wang, Efek perlindungan dari ginsenosides minor yang ditingkatkan dalam *Lactobacillus fermentum* ginseng yang difermentasi KP-3 untuk tikus yang diberi diet tinggi lemak, Food Funct., 2018, 9, 6020–6028.
- 10 Y. Wang, JJ Fan, Y. Wang, Y. You dan JLJ Food and Function, Fermentasi ginseng meningkatkan cedera hati alkohol terkait dengan perubahan mikrobiota usus tikus, Food Funct., 2019, 10, 5566–5573.
- 11 Y. Wang, Y. Liu, I. Kirpich, Z. Ma, C. Wang, M. Zhang, J. Suttles, C. McClain dan W. Feng, *Lactobacillus rhamnosus* GG mengurangi produksi TNF $\alpha$  hati dan inflamasi kronis cedera hati akibat alkohol, J. Nutr. Biokimia., 2013, 24, 1609–1615.
- 12 M. Zhang, C. Wang, C. Wang, H. Zhao, C. Zhao, Y. Chen, Y. Wang, C. McClain dan W. Feng, Peningkatan fosforilasi AMPK berkontribusi pada efek menguntungkan *Lactobacillus rhamnosus* GG supernatan pada penyakit hati berlemak yang diinduksi alkohol kronis, J. Nutr. Biokimia., 2015, 26, 337–344.
- 13 D. Nigro, F. Menotti, AS Cento, L. Serpe, F. Chiazza, F. Dal Bello, F. Romaniello, C. Medana, M. Collino, M. Aragno dan R. Mastrocola, Administrasi kronis satu nilai lemak dan fruktosa berbeda mempengaruhi aktivitas SREBP menghasilkan modulasi yang berbeda dari jalur inflamasi Nrf2 dan Nlrp3 di hati tikus, J. Nutr. Biokimia., 2017, 42, 160-171.
- 14 EK Kim dan EJ Choi, Peran patologis jalur sinyal MAPK pada penyakit manusia, Biochim. Biofis. Akta, 2010, 1802, 396–405.
- 15 Y. Wang, I. Kirpich, Y. Liu, Z. Ma, S. Barve, CJ McClain dan W. Feng, Pengobatan *Lactobacillus rhamnosus* GG Mempotensiasi Faktor Induksi Hipoksia Usus, Mempromosikan

- Integritas Usus dan Memperbaiki Cedera Hati Akibat Alkohol, *Am. J. Pathol.*, 2011, 179, 2866–2875.
- 16 T. Biswas, AK Mathur dan A. Mathur, Pembaruan literatur yang menjelaskan produksi Panax ginsenosides dengan fokus khusus pada strategi memperkaya ginsenosides minor anti-neoplastik dalam persiapan ginseng, *Appl. Mikrobiol. Biotechnol.*, 2017, 101, 4009–4032.
- 17 JE Su, KT Kim dan HD Paik, Biokonversi mikroba ginsenosides di Panax ginseng dan bioaktivitasnya yang ditingkatkan, *Food Rev. Int.*, 2018, 34, 1–15.
- 18 S. Segawa, Y. Wakita, H. Hirata and J. Watari, Pemberian oral *Lactobacillus brevis* yang dibunuh dengan panas SBC8803 ameliorasi menilai penyakit hati alkoholik pada tikus C57BL/6N yang diberi makan etanol, *Int. J. Mikrobiol Makanan*, 2008, 128, 371–377.
- 19 Z. Li dan GE Ji, Ginseng dan obesitas, *J. Ginseng Res.*, 2018, 42, 1–8.
- 20 A. Kawase, A. Yamada, Y. Gamou, C. Tahara, F. Takeshita, K. Murata, H. Matsuda, K. Samukawa dan M. Iwaki, Peningkatan efek ginsenosides pada ekspresi kolesterol 7 $\alpha$ -hidroksilase tetapi bukan pompa ekspor garam empedu yang terlibat dalam metabolisme kolesterol, *Nat. Med.*, 2013, 67, 545–553.
- 21 SY Simu, MH Siddiqi, S. Ahn, V. Castro-Aceituno, NS Kumar, ZEJ Perez dan DC Yang, Ginsenoside F1 melemahkan akumulasi lipid dan kandungan trigliserida dalam adiposit 3T3-L1 dengan modulasi produksi spesies oksigen reaktif (ROS) melalui tanggapan tanda PPAR-gamma/JAK2, *Med. Kimia Res.*, 2017, 26, 1042–1051.
- 22 Ditjen Hardie, BE Schaffer dan A. Brunet, AMPK: Jalur Penginderaan Energi dengan Berbagai Input dan Output, *Trends Cell Biol.*, 2016, 26, 190–201.
- 23 C. Liu, Y. Guo, L. Sun, X. Lai, Q. Li, W. Zhang, L. Xiang, S. Sun dan F. Cao, Enam jenis teh mengurangi akumulasi lemak akibat diet tinggi lemak pada tikus dengan meningkatkan metabolisme lipid dan menekan peradangan, *Food Funct.*, 2019, 10, 2061–2074.
- 24 JT Hwang, SH Kim, MS Lee, SH Kim, HJ Yang, MJ Kim, HS Kim, J. Ha, MS Kim dan DY Kwon, Efek anti-obesitas ginsenoside Rh2 dikaitkan dengan aktivasi jalur pensinyalan AMPK di 3T3-L1 adipocyte, *Biokimia. Biofis. Res. Kom.*, 2007, 364, 1002–1008.
- 25 JT Hwang, MS Lee, HJ Kim, MJ Sung, HY Kim, MS Kim dan DY Kwon, Efek antiobesitas dari ginsenoside Rg3 melibatkan jalur sinyal AMPK dan PPAR-gamma, *Phytother. Res.*, 2009, 23, 262–266.
- 26 YC Hwang, DH Oh, MC Choi, SY Lee, KJ Ahn, HY Chung, SJ Lim, SH Chung dan IK Jeong, Senyawa K melemahkan intoleransi glukosa dan steatosis hati melalui jalur yang bergantung pada AMPK pada tikus OLETF diabetes tipe 2, *Korea J. Magang. Med.*, 2018, 33, 347–355.
- 27 JY Han, S. Lee, JH Yang, S. Kim, J. Sim, MG Kim, TC Jeong, SK Ku, IJ Cho dan SH Ki, Ginseng Merah Korea melemahkan steatosis yang diinduksi etanol dan stres oksidatif melalui aktivasi AMPK/Sirt1, *J. Ginseng Res.*, 2015, 39, 105–115.
- 28 HM O'Neill, JS Lally, S. Galic, M. Thomas, PD Azizi, MD Fullerton, BK Smith, T. Pulinilkunnil, Z. Chen, MC Saman, SB Jorgensen, JR Dyck, GP Holloway, TJ Hawke, BJ van Denderen, BE Kemp dan GR Steinberg, AMPK fosforilasi ACC2 diperlukan untuk oksidasi asam lemak otot rangka dan sensitivitas insulin pada tikus, *Diabetologia*, 2014, 57, 1693–1702.
- 29 H. Jamil, JK Dickson Jr., CH Chu, MW Lago, JK Rinehart, SA Biller, RE Gregg dan JR Wetterau, protein transfer trigliserida mikrosomal. Spesifisitas pengikatan dan transportasi lipid, *J. Biol. Kimia.*, 1995, 270, 6549–6554.
- 30 EP Newberry, Y. Xie, SM Kennedy, MJ Graham, RM Crooke, H. Jiang, A. Chen, DS Ory dan NO Davidson, Pencegahan fibrosis hati dengan penghapusan protein transfer trigliserida mikrosomal hati pada protein pengikat asam lemak hati tikus nol, *Hepatologi*, 2017, 65, 836.
- 31 Y. Wang, Y. Liu, I. Kirpich, Z. Ma, C. Wang, M. Zhang, J. Suttles, C. McClain dan W. Feng, *Lactobacillus rhamnosus* GG mengurangi produksi TNF $\alpha$  hati dan peradangan pada kronis cedera hati akibat alkohol, *J. Nutr. Biokimia.*, 2013, 24, 1609–1615.
- 32 Y. Wang, I. Kirpich, Y. Liu, Z. Ma, S. Barve, CJ McClain dan W. Feng, pengobatan *Lactobacillus rhamnosus* GG mempotensiasi faktor yang diinduksi hipoksia usus, meningkatkan integritas usus dan memperbaiki cedera hati yang diinduksi alkohol, *Saya. J. Pathol.*, 2011, 179, 2866–2875.
- 33 Y. Wang, Y. Liu, A. Sidhu, Z. Ma, C. McClain dan W. Feng, *Lactobacillus rhamnosus* GG supernatan budaya ameliorasi menilai permeabilitas usus akut yang diinduksi alkohol dan cedera hati, *Am. J. Fisiol.: Gastrointest. Fisiol. Hati.*, 2012, 303, G32–G41.
- 34 SH Sohn, SK Kim, YO Kim, HD Kim, YS Shin, SO Yang, SY Kim dan SW Lee, Perbandingan aktivitas anti oksidan Ginseng Putih dan Merah Korea pada stres oksidatif yang diinduksi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dalam sel hepatoma HepG2, *J. Ginseng Res.*, 2013, 37, 442–450.
- 35 RB Ding, K. Tian, YW Cao, JL Bao, M. Wang, C. He, Y. Hu, H. Su dan JB Wan, Efek perlindungan dari saponin panax noto ginseng pada cedera hati yang diinduksi etanol akut dikaitkan dengan memperbaiki akumulasi lipid hati dan mengurangi stres oksidatif yang dimediasi etanol, *J. Agric. Kimia Makanan.*, 2015, 63, 2413–2422.