TESIS

PENGARUH RESTRIKSI KALORI TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID PADA TIKUS

Disusun dan diajukan oleh

A. MILLATY HALIFAH DIRGAHAYU LANTARA

(P0621902022)

PROGRAM MAGISTER ILMU BIOMEDIK

KONSENTRASI *AGING AND REGENERATIVE MEDICINE*

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2022

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

PENGARUH RESTRIKSI KALORI TERHADAP KADAR MALONDIALDEHIDE PADA TIKUS

Disusun dan diajukan oleh

ANDI MILLATY HALIFAH DIRGAHAYU LANTARA
P062192022

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Magister Program Studi Agribisnis Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin Makassar
pada tanggal 10 Mei 2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama	Pembimbing Pendamping
dr. Aminuddin, M.Nut&Diet,PhD	**dr. Arif Santoso, Sp.P(K), PhD,FAPSR**
NIP. 1976 0704 2002 12 1003	**NIP. 1977 0715 2006 04 1014**

Ketua Program Studi	Dekan Sekolah Pascasarjana
Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc	**Prof. Dr. Hamka Naping, MA**
NIP. 19730831 200604 2 001	**NIP. 196111104 198702 1 001**

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama	: A. Millaty Halifah Dirgahayu Lantara
NIM	: P062192022
Program Studi	: Ilmu Biomedik
Jenjang	: S2

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

PENGARUH RESTRIKSI KALORI TERHADAP KADAR MALONDALDEHIDE PADA TIKUS

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa Tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa Sebagian atau keseluruhan Tesis ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 10 Mei 2022

Yang menyatakan,

A. Millaty Halifah DL

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahi Rabbil Alamin, puji dan syukur kehadirat Allah SWT atas segala Rahmat dan Karunia-Nya, akhirnya penulis dapat menyelesaikan penyusunan tesis yang berjudul: **PENGARUH RESTRIKSI KALORI TERHADAP KADAR MALONDIALDEHIDE PADA TIKUS**

Tesis ditulis dalam rangka memenuhi persyaratan untuk memperoleh gelar Magister Biomedik (M. Biomed) di Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin Makassar.

Penulis menyadari bahwa tesis dapat diselesaikan berkat dukungan dan bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis berterima kasih kepada semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung memberikan kontribusi dalam menyelesaikan tesis ini.

Selanjutnya ucapan terima kasih yang setulus-tulusnya penulis sampaikan kepada:

1. Bapak dr. Aminuddin., M.Nut&Diet. Ph.D sebagai Pembimbing I dan Bapak dr. Arif Santoso, Sp.P (K), Ph.D, FAPSR sebagai Pembimbing II, atas segala saran dan arahannya yang telah diberikan selama penulisan tesis ini.
2. Tim penguji: Prof. Dr. dr. Nurpudji Astuti Daud, MPH, Sp.GK(K), Dr. dr. ika Yustisia, M.Sc dan Dr. dr. Irfan Idris, atas segala saran dan arahannya yang telah diberikan selama penulisan tesis ini.
3. Segenap dosen Ilmu Biomedik Konsentrasi Aging and Regenerative Medicine yang telah memberikan waktu dan ilmunya kepada penulis.

4. Kedua orangtuaku, Dr. Ir. H. A. Dirgahayu Lantara, MT, IPU, ASEAN ENG dan Hj. Roslina Tawakkal Rola, SH yang senantiasa selalu mendoakan dan mendukung penulis.
5. Suamiku Wawan Burhanuddin, SH. MH dan anak-anakku Alkha dan Asha yang selalu memberikan semangat dan pengertiannya untuk menyelesaikan tesis ini.
6. Teman-teman S2 Konsentrasi Aging and Regenerative Medicine yang tidak bisa disebutkan satu-persatu.
7. Dan semua pihak yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan tesis ini.

Makassar, Mei 2022

A. Millaty Halifah DL

(P062192022)

ABSTRAK

A. Millaty Halifah Dirgahayu[1], Aminuddin Aminuddin[2], Arif Santoso[3], Nurpudji Astuti Daud[4], Ika Yustisia[5], Irfan Idris[6]

[1] Konsentrasi Aging and Regenerative Medicine, Sekolah Pascasarjana Ilmu Biomedik, Universitas Hasanuddin, Makassar, Sulawesi Selatan

[2] Prodi Profesi Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, Sulawesi Selatan

[3] Departemen Gizi Klinik, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar, Sulawesi Selatan

[4] Departemen Pulmologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar, Sulawesi Selatan

[5] Departemen Gizi Klinik, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar, Sulawesi Selatan

[6] Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar, Sulawesi Selatan

[7] Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar, Sulawesi Selatan

*Alamat korespondensi: titydirgahayu@gmail.com. Tlp: +62 812-4200-3068

Malondialdehid (MDA) merupakan salah satu marker dari stres oksidatif yang memegang peran penting dalam proses penuaan. Restriksi kalori telah terbukti dapat memperlambat proses penuaan. Penelitian ini bertujuan untuk mengukur efek restriksi kalori terhadap kadar MDA darah menggunakan tikus sebagai hewan model. Tikus putih Rattus norvegicus galur Wistar muda dan tua masing-masing dibagi menjadi dua grup yaitu grup kontrol yang diberi makanan *ad libitum* dan grup intervensi yang diberikan restriksi kalori 40% selama 7 minggu. Pengukuran kadar MDA darah dengan teknik spektrofotometri dilakukan sebelum dan sesudah intervensi.

Hasil menunjukkan setelah dilakukan restriksi kalori terjadi penurunuan berat badan pada grup intervensi baik tikus muda maupun tua dan peningkatan berat badan pada kedua kelompok kontrol. Penurunan kadar MDA darah terjadi pada grup intervensi tikus tua dan muda serta grup kontrol muda. Sebagai kesimpulan, restriksi kalori dapat menurunkan berat badan dan kadar MDA darah baik pada pada hewan model tikus muda maupun tua.

Kata kunci : Restriksi kalori, Malondialdehid, Rattus Novergicus

ABSTRACT

A. Millaty Halifah Dirgahayu[1], Aminuddin Aminuddin[2], Arif Santoso[3], Nurpudji Astuti Daud[4], Ika Yustisia[5], Irfan Idris[6]

[1] Master of Biomedical Sciences, Graduate School Hasanuddin University, Makassar, South Sulawesi, Indonesia

[2] Medical professional study program, Faculty of Medicine, Moslem Indonesia University, Makassar, South Sulawesi, Indonesia

[3] Department of Clinical Nutrition, Faculty of Medicine, Hasanuddin University, Makassar, South Sulawesi, Indonesia

[4] Department of Pulmonology, Faculty of Medicine, Hasanuddin University, Makassar, South Sulawesi, Indonesia

[5] Department of Clinical Nutrition, Faculty of Medicine, Hasanuddin University, Makassar, South Sulawesi, Indonesia

[6] Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Hasanuddin University, Makassar, South Sulawesi, Indonesia

7. Department of Physiology, Faculty of Medicine, Hasanuddin University, Makassar, South Sulawesi, Indonesia

*Alamat korespondensi: titydirgahayu@gmail.com. Tlp: +62 812-4200-3068

Malondialdehyde (MDA) is a marker of oxidative stress that plays an important role in the aging process. Calorie restriction has been shown to slow the aging process. This study aims to measure the effect of calorie restriction on blood MDA levels using rats as animal models. Rattus norvegicus Wistar strain, young and old, were divided into two groups, namely the control group which was fed ad libitum food and the intervention group which was given a 40% calorie restriction for 7 weeks. Measurement of blood MDA levels using spectrophotometric techniques was carried out before and after the intervention.

The results showed that after calorie restriction, there was a decrease in body weight in the intervention group, both young and old rats, and an increase in body weight in both control groups. The decrease in blood MDA levels occurred in the intervention group of old and young mice and the young control group. In conclusion, calorie restriction can reduce body weight and blood MDA levels in both young and old rat models

Keywords: *calorie restriction, Malondialdehyde, Rattus Novergicus*

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN TESIS.....**Error! Bookmark not defined.**
PERNYATAAN KEASLIAN..... i
KATA PENGANTAR ii
ABSTRAK v
ABSTRACT..... vi
DAFTAR ISI..... vii
DAFTAR TABEL..... ix
DAFTAR GAMBAR x
DAFTAR SINGKATAN xi

BAB 1 PENDAHULUAN xi
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 3
1.3 Tujuan Penelitian 3
1.3.1 Tujuan Umum 3
1.3.2 Tujuan Khusus 3
1.4 Manfaat Penelitian 3

BAB II TINJAUAN PUSTAKA..... 5
2.1 Penuaan 5
2.2 Radikal Bebas 6
2.2.1 Definisi..... 6
2.2.2 Sumber Pembentukan Radikal Bebas 6
2.2.3 Radikal Bebas dan Stress Oksidatif..... 6
2.2.4 Malondialdehid (MDA) 8
2.2.5 Antioksidan..... 11
2.3 Restriksi Kalori 12
2.3.1 Regulasi Masa Hidup Replikasi Ragi Melalui Restriksi Kalori 15
2.3.2 Restriksi Kalori Dalam Subjek Manusia..... 18
2.4 Uraian Hewan Uji 19
2.4.1 Klasifikasi Hewan Coba 19

2.4.2 Karakteristik Tikus Putih (Rattus norvegicus) 19
2.5 Kerangka Teori 20
2.6 Kerangka Konsep 21
2.7 Hipotesis 21

BAB III METODE PENELITIAN 22
3.1 Rancangan Penelitian 22
3.2 Waktu dan Lokasi Penelitian 22
3.3 Materi Penelitian 22
3.4 Populasi 23
3.5 Sampel 23
3.6 Kriteria Inklusi & Eksklusi 24
3.7 Definisi Operasional 24
3.8 Variabel Penelitian 25
3.9 Prosedur Penelitian 25
3.9.1 Persiapan Hewan Coba 25
3.10 Analisis Data 27
3.11 Etik Penelitian 27
3.12 Alur Penelitian 28

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN 29
4.1 Hasil Penelitian 29
4.1.1 Hasil Uji Statistik Berat Badan Tikus 29
4.1.2 Hasil Uji Statistik Kadar Malondialdehide (MDA) Tikus 36
4.2 Pembahasan 39
4.2.1 Pengaruh Restriksi Kalori terhadap Berat Badan Tikus 39
4.2.2 Pengaruh Restriksi Kalori terhadap Kadar Malondialdehide (MDA) ... 41

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN 43
A. Ringkasan 43
B. Kesimpulan 43
C. Saran 43

REFERENSI 44

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Perubahan Berat Badan Pada Tikus Kelompok Intervensi Selama 7 Minggu 30

Tabel 2. Perubahan Berat Badan Pada Tikus Kelompok Kontrol Selama 7 Minggu 31

Tabel 3. Perbedaan Berat Badan *Pre* Dan *Post Test* Pada Model Tikus Pada Masing-Masing Kelompok 32

Tabel 4. Perbedaan Perubahan Berat Badan Pada Model Tikus Pada Kelompok Kontrol Dan Perlakuan 34

Tabel 5. Perbedaan Perubahan Berat Badan Pada Tikus Model Antar Kelompok 35

Tabel 6. Kadar Malondialdehide (MDA) Pada Tikus Berdasarkan Kelompok 36

Tabel 7. Perbedaan Kadar Malondialdehide (MDA) *Pre* Dan *Post Test* Pada Model Tikus Pada Masing-Masing Kelompok 37

Tabel 8. Perbedaan Perubahan Kadar Malondialdehide (MDA) Pada Tikus Model Antar Kelompok 38

Tabel 9. Korelasi Perubahan Berat Badan Dengan Kadar MDA Pada Tikus 39

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Dua Mekanisme Umum Tentang Bagaimana Pembatasan Kalori Memperpanjang Masa Hidup. 16

Gambar 2. Perubahan Berat Badan Pada Tikus Kelompok Intervensi Selama 7 Minggu 30

Gambar 3. Perubahan Berat Badan Pada Tikus Kelompok Kontrol Selama 7 Minggu 32

Gambar 4. Perbedaan Berat Badan *Pre* Dan *Post Test* Pada Model Tikus Pada Masing-Masing Kelompok 33

Gambar 5. Perbedaan Perubahan Berat Badan Pada Model Tikus Pada Kelompok Kontrol Dan Perlakuan 34

Gambar 6. Kadar Malondialdehide (MDA) Pada Tikus Berdasarkan Kelompok . 36

DAFTAR SINGKATAN

AMP : Activated Protein Kinase

ATP : Adenosina Trifosfa

CVD : Cardiovaskular Disease

DNA : Deoxyribonucleic Acid

GPX : Glutation Peroksidase

IGF-1 : Insulin-Like Growth Factor-1

IMT : Indeks Massa Tubuh

MDA : Malondialdehid

PKA : Protein Kinase A

RNA : Ribonukleat Acid

ROS : Reactive Oxygen Species

SOD : Superoksida Dismutase

BAB 1
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Proses menua merupakan suatu mekanisme fisiologis yang kompleks. Berbagai teori tentang proses menua telah banyak dikemukakan oleh para ahli. Teori penuaan ini terus berkembang sampai ke era teori penuaan modern. Akan tetapi belum ada satu teori pun yang dapat menjelaskan proses penuaan secara menyeluruh (brian, weinert, & timiras, 2003). Satu teori saling mendukung teori yang lainnya. Teori radikal bebas belakangan ini lebih banyak dianut dan dipercaya secara luas sebagai teori yang dapat menjelaskan proses menua. Teori radikal bebas diumumkan pertama kali oleh Denham Harman pada tahun 1956. Dalam perkembangannya, teori penuaan modern menyebut teori ini sebagai *oxidative stress theory* (mao et al, 2019; harman, 2003; winarsi, 2007). Stres oksidatif adalah ketidakseimbangan antara produksi oksidan dengan kapasitas detoksifikasi oleh antioksidan sehingga menyebabkan terjadinya gangguan fungsi pada tingkat seluler dan molekuler (mao et al, 2019; winarsi, 2007; pazil, 2009). Radikal bebas yang terbentuk karena stres oksidatif ini dianggap sebagai penyebab penting kerusakan fungsi dan kelangsungan hidup sel. Radikal bebas bisa dalam bentuk superoksida anion, hidroksil, peroksil, radikal purin yang dihasilkan selama metabolisme sel normal. Selain itu radikal bebas juga dihasilkan oleh respirasi mitokondria, autooksidasi biomolekul dan polutan lingkungan serta radiasi (sholihah & widodo, 2008; singh et al, 2014; il'yasova et al, 2012;). *Reactive oxygen species* (ROS) yaitu senyawa yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan berpotensi besar menyebabkan kerusakan sel, bahkan mitokondria juga menjadi target kerusakan. Peningkatan ROS mengakibatkan berhentinya replikasi sel (*replication arrest/replicative senescense*) sehingga mengganggu kelangsungan hidup sel dan menjadi menua (brian, eeinert, & timiras, 2003; yoshikawa & naito, 2002). Proses ini menyebabkan terjadinya perubahan struktural dan fungsi semua sistem secara alamiah dan bertahap yang menyebabkan penurunan kapasitas adaptasi, peningkatan mortalitas dan morbidita. Secara alamiah manusia memiliki sistem

antioksidan kompleks baik enzimatik maupun non-enzimatik yang bekerja sinergis untuk melindungi sel dan sistem organ dari kerusakan akibat radikal bebas. Walaupun telah ada sistem penangkal alami tersebut, namun sebagian radikal bebas tetap lolos. Bahkan semakin lanjut usia seseorang semakin banyak radikal bebas yang terbentuk sehingga kerusakan terus terjadi. Antioksidan endogen ini juga mengalami penurunan seiring dengan pertambahan usia (mao et al, 2019; winarsi, 2007; yoshikawa & naito, 2002).

Stres oksidatif dapat diukur dengan produk akhir spesifik dari prosesnya (specific end products) karena radikal bebas tidak dapat bertahan lama dalam sirkulasi. Di dalam tubuh, Radikal bebas paling sering menyerang dan merusak asam lemak tak jenuh (al-dalaen & al-qtaitat, 2014). Apabila lipid bereaksi dengan radikal bebas maka akan terjadi proses peroksidasi membentuk peroksida lipid. Peroksida lipid ini akan menginduksi kerusakan endotel dan respon inflamasi, menghambat vasodilatasi dan mengaktivasi makrofag. Peroksida lipid mengalami dekomposisi membentuk beberapa produk termasuk malondialdehid (MDA). Konsentrasi Malondialdehid yang tinggi menunjukkan terjadinya proses oksisdasi membran sel (mao et al, 2019; winarsi, 2007; singh et al, 2014).

Robertson et al mengatakan kerusakan oksidatif pada hewan yang menua dapat diperlambat dengan restriksi kalori (robertson, 2003). Restriksi kalori dapat memaksimalkan harapan hidup pada tikus. Ratusan penelitian telah dilakukan pada lalat, cacing, dan ikan. Restriksi kalori merupakan Tindakan mengurangi kalori tanpa membuat individu tersebut kekurangan nutrisi (anderson RM, 2015). Penelitian pada 20 tikus dewasa selama 7 minggu yang dilakukan oleh Chuansuo et al memberikan hasil penurunan kadar MDA. (chuanSuo et al, 2017). Ilyasova dalam peneliatiannya terhadap manusia selama 2 tahun mendapatkan penurunan kadar oksidatif stress yang dinilai dari kadar *F2-Isoprotanes* dimana sampel diambil melalui urin. (ilyasova et al, 2018). Harianja dalam penelitiannya yang berjudul pengaruh melanjutkan siklus sampai minggu 2si kalori terhadap kadar hidrogen peroksida dan kadar glukosa darah pada tikus tua, mendapatkan hasil kadar hidrogen peroksida pada control lebih tinggi dibandingan dengan tikus yang mendapatkan perlakukan Restriksi kalori. (harianja, 2007).

Berdasarkan uraian dan penjelasan di atas bahwa telah dilakukan peneltitian pada tikus yang diberikan perlakuan berupa restriksi kalori sehingga mendorong peneliti untuk melakukan penelitian yang lebih dalam dengan melakukan pengukuran kadar Malondialdehide (MDA) sebelum dan setelah perlakuan dalam hal ini restriksi kalori dan pada dua rentan usia yaitu tikus tua dan tikus muda. Pemilihan dua rentan usia pada penelitian ini berdasarkan teori yang dikatakan mao et al, dalam penelitian mereka bahwa semakin tua usia maka kadar radikal bebas akan semakin meningkat. Maka dari itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adakah perbedaan pengaruh restriksi kalori terhadap kadar malondialdehid pada tikus usia tua dan usia muda.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, maka rumusan masalahnya adalah bagaimana pengaruh dilakukannya restriksi kalori terhadap kadar malondialdehid pada tikus tua dan tikus muda?

1.3 Tujuan Penelitian

Mengacu pada rumusan masalah di atas, maka tujuan penelitian yang hendak dicapai adalah:

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh restriksi kalori terhadap kadar malondialdehid pada tikus tua dan tikus muda.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengukur kadar malondialdehid pada tikus tua dan tikus muda.
2. Mengukur kadar malondialdehid pada tikus tua dan tikus muda yang dilakukan restriksi kalori.
3. Membandingkan kadar malondialdehid pada tikus tua dan tikus muda

1.4 Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi Sumber data ilmiah dan informasi mengenai pengaruh Restriksi Kalori terhadap kadar Malondialdehid pada tikus tua.

2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh restriksi kalori terhadap kadar

malondialdehid sebagai salah satu biomarker radikal bebas dalam proses penuaan.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penuaan

Proses penuaan yang terjadi secara progresif didasari oleh stress oksidatif. Stress oksidatif sendiri terjadi akibat rusaknya keseimbangan secara oksidatif dalam sel karena ketidakmampuan untuk mengatur reaksi oksidasi reduksi atau redoks. Jadi, stress oksidatif adalah ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan. Penuaan akan semakin cepat terjadi jika sel secara konsisten dan dalam jangka waktu yang lama dirusak oleh radikal bebas. Hal ini lah yang memicu terjadinya penyakit degenerative seperti penurunan system imun dan gangguan kognitif, katarak, kanker, penyakit jantung (situmorang & zulham, 2019; ayuningati, murtiastutik, & hoetomo, 2018; zaetun, dewi, & wiadnya, 2018; widayati, 2012).

Penuaan adalah perubahan fisiologis yang tidak dapat dihindari namun dapat diperlambat dan terjadi pada semua organisme baik manusia, tumbuhan, hewan, dan bahkan organisme bersel satu akan mengalami gangguan bertahap pada semua organnya. Perubahan fisiologis yang terjadi pada penuaan adalah menurunnya laju metabolisme dan berkurangnya jumlah sel sehingga kejadian penyakit akan meningkat. Perubahan fisiologis tersebut juga dipengaruhi oleh faktor eksternal seperti merokok, radiasi sinar ultraviolet, stress, dan olahraga berlebihan (situmorang & zulham, 2019).

Salah satu proses penuaan yang langsung dan paling terlihat adalah penuaan pada kulit. Oleh karena itu, Sebagian besar manusia akan menghabiskan waktu dan lebih banyak uang untuk menjalani beberapa perawatan kulit agar proses penuaan pada kulitnya dapat diperlambat bahkan dicegah (situmorang & zulham, 2019).

Terdapat beberapa teori yang menjelaskan proses penuaan, namun teori radikal bebas yang paling diterima sebagai faktor resiko utama yang dapat mempercepat proses penuaan. Menurut Harman (1950), faktor genetik dan lingkungan mempengaruhi proses penuaan, di mana akumulasi oksigen endogen radikal yang dihasilkan oleh sel menjadi penyebab penuaan dan kematian semua makhluk hidup. Pendapat tersebut kemudian ditinjau kembali pada tahun 1972 dan didapatkan bahwa mitokondria ternyata memiliki peran yang cukup penting untuk

proses penuaan dimana kerusakan pada mitokondria akibat radikal bebas dapat menentukan usia hidup individu. Proses penuaan tentu dapat diperlambat dengan meningkatkan antioksidan, keseimbangan antioksidan dan produk radikal bebas dapat mencegah peningkatan stres oksidatif akibat usia yang dapat memperlambat proses penuaan (situmorang & zulham, 2019).

2.2 Radikal Bebas

2.2.1 Definisi

Radikal bebas merupakan bahan kimia yang dapat berupa atom maupun molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. dimana bahan kimia tersebut mengalami reaksi jangka pendek yang memiliki satu atau lebih elektron bebas. Radikal bebas dihasilkan dari hasil metabolisme tubuh maupun dari luar tubuh seperti: asap rokok, sinar ultra violet, polutan lainnya (harman, 2003).

Radikal bebas di dalam tubuh bersifat sangat aktif dan akan berinteraksi secara destruktif melalui reaksi oksidasi dengan bagian tubuh maupun sel - sel tertentu yang tersusun atas karbohidrat, protein, lemak, DNA, dan RNA yang memicu berbagai penyakit seperti jantung koroner, kanker dan penuaan dini. Namun hal ini dapat dicegah oleh anti oksidan (winarsi, 2007; pazil, 2009; sholihah & widodo, 2008).

2.2.2 Sumber Pembentukan Radikal Bebas

Derivate oksigen radikal meliputi ion OH, superoksida, nitric oxide, dan peroxyl, sedangkan derivat oksigen yang non-radikal meliputi ozone, singlet oksigen, lipid peroksida, dan hydrogen peroksida. Derivate oksigen non - radikal selanjutnya akan mengambil bagian dalam kaskade reaksi yang menghasilkan radikal bebas. Selain derivat oksigen, radikal bebas juga dapat berasal dari derivate nitrogen seperti nitric oxide peroksi nitrit, dan ion nitroksil yang juga merupakan subklas dari ROS. Berbagai macam ROS tersebut dapat bersumber dari dalam tubuh (intrinsik) atau dari luar tubuh (ekstrinsik) (winarsi, 2007; sholihah & widodo, 2008; yoshikawa & naito, 2002).

2.2.3 Radikal Bebas dan Stress Oksidatif

Radikal bebas merupakan suatu bahan kimia berkelompok yang terdiri dari atom dan molekul yang memiliki lebih dari satu elektron tidak berpasangan. Tubuh

manusia memiliki system untuk menurunkan kadar radikal bebas namun jika jumlahnya berlebihan maka tubuh akan lebih sulit untuk mengatasinya. System yang dimaksud disini adalah seluruh sel dalam jaringan tubuh dengan bantuan beberapa enzim khusus dapat menurunkan kadar radikal bebas, namun seiring meningkatnya usia, system tersebut juga mengalami degradasi sehingga kadar radikal bebas tidak dapat diturunkan sama baiknya saat usia individu lebih muda. Radikal bebas yang tetap meningkat akan menimbulkan stress oksidativ dan memicu terjadinya mutase sel yang merupakan awal mula meningkatnya produksi prostaglandin yang mempengaruhi kerusakan pembuluh darah, timbulnya kanker, dan lapisan lipid pada dinding akan teroksidasi (situmorang & zulham, 2019; wahjuni, 2012).

Pada beberapa penelitian, dibuktikan bahwa individu dengan gangguan kandung kemih dan kanker prostat didapatkan adanya stress oksidatif yang ditandai dengan peningkatan ROS dan 8-OHdG. Begitupula dengan kadar MDA yang menggambarkan adanya kerusakan fosfolipid membrane sel, dapat dijadikan sebagai marker untuk tingkat kerusakan sel di dalam tubuh. MDA sendiri didapatkan pada plasma, serum, dan urin (situmorang & zulham, 2019; wahjuni, 2012; ayuningati, murtiastutik, & hoetomo, 2018).

Kanker merupakan penyakit degenerative lain yang memiliki karakteristik dimana terjadi proliferasi tidak terkontrol yang tersebar dari area local hingga ke seluruh tubuh. Kanker dapat dicegah dengan makanan antioksidan yang didapatkan dari asupan diet sehari-sehari seperti kacang kedelai dan tomat. Kacang kedelai mengandung soyasaponin yang dapat meningkatkan imunokompetensi dan meningkatkan aktivitas hipokolesterolemia sehingga dapat dijadikan upaya untuk pencegahan kanker (wahjuni, 2012).

Di dalam tubuh, radikal bebas akan terbentuk secara terus menerus, radikal bebas yang tidak dicegah dan dibiarkan meningkat akan merusak sel yang didahului dengan kerusakan membrane sel. Mekanisme terjadinya kerusakan membrane sel sebagai berikut: (situmorang & zulham, 2019; wahjuni, 2012).

1. Terjadi perubahan struktur dan fungsi reseptor akibat adanya ikatan kovalen antara komponen membrane sel dan radikal bebas
2. Ikatan kovalen tersebut menimbulkan oksidasi gugus tiol pada komponen membrane sel yang menyebabkan proses transport pada membran mengalami gangguan
3. Adanya gangguan pada proses transport membrane sel menyebabkan reaksi peroksidasi lipid dan meningkatnya kolesterol yaitu asam lemak tak jenuh jamak yang keduanya mempunyai efek secara langsung terhadap kerusakan sel sehingga terjadi kematian sel.

Hiperkolesterolemia dan hiperglikemia memperburuk dan meningkatkan pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS). ROS adalah molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena tidak berpasangan. Untuk menstabilkan dirinya, ROS harus bereaksi dengan molekul lain dan sebelum proses itu terjadi, ROS hanya dapat bertahan dalam hitungan millisecond. (asih, & widyastiti, 2016).

Lemak yang didapatkan dari asupan diet sehari-hari maupun yang disintesis oleh tubuh harus dapat mencapai jaringan dan organ agar dapat digunakan lebih lanjut atau dijadikan sebagai cadangan. Diketahui bahwa, lemak tidak dapat larut di dalam air sehingga untuk mencapai jaringan atau organ melalui plasma darah, trigliserida dan kolesterol ester yang merupakan lemak non polar harus berikatan dengan lemak amfipatik yang lebih polar yaitu fosfolipid dan kolesterol bebas serta dibutuhkan protein yaitu apolipoprotein untuk membentuk lipoprotein yang larut dalam air (wahjuni, 2012).

Stress oksidatif umumnya diindikasikan adanya peroksidasi lipid dan kerusakan seluler. Jika ditemukan peningkatan kadar antioksidan maka akan terjadi penurunan kadar MDA (situmorang & zulham, 2019).

2.2.4 Malondialdehid (MDA)

Malondialdehid (MDA) merupakan senyawa dialdehyde yang didapatkan dari proses akhir peroksidasi lipid baik secara enzimatik maupun nonenzimatik, sebagai proses degradasi asam lemak tak jenuh jamak atau yang biasa disebut asam arakhidonat (AA) yang berfungsi sebagai precursor membrane. Terdapat lapisan pemisah antara intrasel dan ekstrasel, yang disebut membrane sel. Didalam lapisan

pemisah tersebut terdapat komposisi fosfolipid yang disusun oleh golongan asam lemak tak jenuh jamak-3 atau biasa disebut omega-3 dan asam lemak tak jenuh jamak-6 atau omega-6. contoh makanan yang mengandung omega-3 adalah sayuran hijau, biji rami, ikan, dan biji labu, sedangkan untuk omega-6, banyak terkandung dalam biji-bijian (situmorang & zulham, 2019; wahjuni, 2012; ayuningati, murtiastutik, & hoetomo, 2018).

Omega-3 meningkatkan metabolit asam ekosapentanoat (EPA), dokosapentanoat (DPA), dan asam dekosaheksanoat (DHA) dimana proses metabolisme tersebut menghasilkan mediator-mediator yang berfungsi sebagai imunosupresif dan antiinflamasi. Omega-3 juga dapat menurunkan kadar asam arakhidonat pada sel imun manusia, murin, dan tikus, dengan cara menekan sitokin Th1 (IL-2) maupun sitokin Th2 (IL-4) dan respons immunoglobulin subklas Th 1 (IgG1) dan Th2 (IgG2a). Sedangkan omega-6 memiliki efek berlawanan di dalam tubuh yaitu menghasilkan asam arakhidonat yang berfungsi sebagai ekosanoid proinflamasi (wahjuni, 2012).

Terdapat tiga mekanisme molecular utama yang menunjukkan bahwa omega-3 dapat berfungsi untuk memodulasi respon imun, yaitu: (wahjuni, 2012)

1. Dengan merubah komposisi dan fungsi membrane sel
2. Memodifikasi produksi eicosanoid
3. Mengubah biosintesis sitokin.

Sitokin pada manusia diproduksi oleh berbagai sel, salah satunya adalah jaringan adiposa. Jaringan adiposa memiliki beberapa fungsi utama yaitu sebagai tempat metabolisme dan penyimpanan lemak serta sebagai jaringan yang menghasilkan pepride bioaktif yang disebut adipoktin. Salah satu adipoktin yang akan dibahas adalah *Free Fatty Acid* (FFA) (wahjuni, 2012).

Disebutkan sebelumnya, bahwa lapisan pemisah pada membrane sel terdiri dari komposisi fosfolipid, fosfolipid tersebut terbentuk dari FFA. Selain fosfolipid, membrane sel juga dibentuk oleh 55% protein, 15% kolesterol, 3% karbohidrat, dan 4% lemak-lemak lainnya. Dari 55% protein tersebut, terdapat protein dasar dan asam organic yang mengandung fosfor, dikenal sebagai asam nukleat yang terdiri dari DNA (wahjuni, 2012).

Mitokondria pada organisme aerobic secara konstan akan mengalami kerusakan yang progresif, walaupun tidak ada paparan terhadap karsinogen genotoksik. Proses kerusakan yang terjadi dapat meliputi sumber endogen seperti instabilitas DNA, kesalahan spontan selama replikasi DNA, sejumlah spesies oksigen relative (ROS) sebagai akibat metabolism oksigen, dan produk peroksidasi lipid (MDA) (wahjuni, 2012; ayuningati, murtiastutik, & hoetomo, 2018).

MDA digunakan sebagai penanda terjadinya peroksidasi lipid dan sebagai salah satu faktor resiko kerusakan oksidatif pada DNA, kerusakan DNA tersebut dikenal sebagai stress oksidatif (situmorang & zulham, 2019; wahjuni, 2012; ayuningati, murtiastutik, & hoetomo, 2018; harun, susanto, & rosidi, 2017).

Kerusakan DNA terjadi akibat peroksidasi lipid yang terjadi terus menerus dan akan dieksresi dalam serum DNA repair. Terdapat basa nukleotida yang telah dimodifikasi dan dapat dijadikan sebagai marker jika terjadi kerusakan DNA yaitu 8-hidroksi-2-dioksiguanosin (8-OHdG), hal tersebut terjadi karena 8-OHdG merupakan hasil sampingan dari kerusakan DNA (situmorang & zulham, 2019; wahjuni, 2012).

Pengukuran radikal bebas secara langsung sangat sulit dilakukan karena radikal bebas tidak menetap lama, waktu paruhnya pendek, dan segera hilang dalam hitungan detik. Substansi yang sudah dikenal dan banyak dipakai sebagai petanda biologis peroksidasi lipid dan stres oksidatif adalah MDA. Senyawa ini pertama kali digunakan pada tahun 1950 sebagai petanda kerusakan pada makanan. Saat ini MDA sering digunakan sebagai petanda stres oksidatif khususnya pada berbagai keadaan klinis yang berkaitan dengan proses peroksidasi lipid (situmorang & zulham, 2019; wahjuni, 2012).

Kadar MDA dapat diukur dengan beberapa cara, yaitu dengan cara tes *Thiobarbituric-Reactive Substance* (TBARS), dimana metode pengukuran TBA ini dapat dilakukan dengan metode kolorimetri, dan metode fluorosens. Metode ini yang paling sering digunakan. (situmorang & zulham, 2019; wahjuni, 2012; ayuningati, murtiastutik, & hoetomo, 2018).

Growth Hormone manusia ditemukan meningkatkan peroksidase lipid di tikus dimana terjadi peningkatan kadar MDA pada jaringan otak tikus baru lahir

yang mengalami hipoksia dan iskemik. Ditemukan pula, terjadi peningkatan kadar MDA pada pasien hipertensi dibandingkan dengan individu yang memiliki tensi normal (situmorang & zulham, 2019).

2.2.5 Antioksidan

Antioksidan merupakan molekul yang berfungsi untuk memberikan electron bebas dan menetralisirnya sehingga mengurangi kerusakan sel. Antioksidan berat molekul rendah akan berinteraksi dengan radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai sebelum molekul mengalami kerusakan. Beberapa jenis antioksidan yang dihasilkan secara normal dari metabolism tubuh adalah glutation, ubiquionon, dan askorbat. Sedangkan untuk antioksidan ringan lain dapat ditemukan dari asupan diet sehari-hari (wahjuni, 2012).

Antioksidan primer akan bekerja mencegah pembentukan radikal bebas baru dengan cara mengubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang kurang mempunyai dampak negative. Contoh antiodsidan primer adalah superoksida dismutase (SOD), glutation peroksidase (GPx), dan protein pengikat logam. *SOD* membantu tubuh menghilangkan superoxide radikal dengan mengubahnya menjadi hydrogen peroksida (H202). Katalase kemudian memebantu konversi H2O2 menjadi air dan oksigen. Untuk glutation peroksidase juga membantu proses konversi tersebut. Yang kedua adalah antioksidan sekunder yang bekerja dengan cara mengkhelat logam yang ebtindak sebagai pro-oksidan, emnangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Contohnya vitamin E, vitamin C, B karoten. Dan terakhir antioksidan tersier yang bekerja memperbaiki kerusakan biomolekul yang disebabkan radikal ebbas. Contohnya enzim-enzim yang memeprbaiki DNA dan metionin sulfosida reductase (situmorang & zulham, 2019; wahjuni, 2012; ayuningati, murtiastutik, & hoetomo, 2018

Beberapa studi memang mengatakan bahwa berolahraga dapat meningkatkan antioksidan namun ternyata didapatkan pula bahwa olahraga yang terlalu berat memiliki efek yang berbeda yaitu meningkatkan oksidan. Olahraga berlebihan akan memproduksi ROS yang berlebih sehingga menurunkan kadar antioksidan dalam tubuh yang menyebabkan stress oksidatif. Untuk mengurangi efek tersebut, maka digunakan suplemen multivitamin sintetik yang diperkirakan

dapat meningkatkan kapasitas fisik khususnya bagi atlit. Proses peroksidasi lipid yang berperan penting dalam pembentukan radikal bebas dapat dicegah dengan enzim SOD, namun aktivitas enzim tersebut bergantung pada logam mineral mangan (Mn), Zink (Zn) dan tembaga (Cu) agar dapat bekerja secara optimal (zaetun, dewi, & wiadnya, 2018).

Penelitian yang dilakukan di Birmingham berhasil membuktikan bahwa olahraga dengan berlari sejauh 142 mil dapat menyebabkan stress oksidatif yang bahkan mampu bertahan hingga satu bulan lamanya (ayuningati, murtiastutik, & hoetomo, 2018).

Penelitian lain kembali dilakukan dan membahas secara umum mengenai terbentuknya radikal bebas setelah aktivitas fisik yang berat. Didapatkan bahwa 12-24 jam setelah aktivitas fisik yang berlebihan dapat terjadi peningkatan pembentukan radikal bebas dalam tubuh, selanjutnya tetap meningkat hingga 48-72 jam dan normal Kembali setelah 72 jam. Waktu tersebut sesuai dengan intensitas dan lamanya aktivitas fisik yang dilakukan (zaetun, dewi, & Wwiadnya, 2018).

2.3 Restriksi Kalori

Kalori merupakan istilah umum dari satuan energi sistem metrik. Tubuh manusia memerlukan kalori dari asupan makanan yang dimakan sebagai sumber energy untuk beraktifitas sehari-hari. Tanpa asupan kalori yang memadai, tubuh manusia akan terasa lemas layaknya mobil tanpa bahan bakar. Selain itu kalori juga dapat diartikan sebagai satuan unit yang digunakan untuk mengukur nilai tenaga atau energi, Nilai kandungan kalori pada makanan tergantung pada kandungan protein, karbohidrat dan lemak yang terkandung pada makanan tersebut (asih, & widyastiti, 2016).

Kebutuhan kalori pada setiap manusia tidak sama tergntung usia, berat badan, dan tinggi badan serta aktivitas atau kegiatan yang dilakukan perhari. Kalori dapat diperoleh dari asupan yang mengandung nutrisi, seperti protein, karbohidrat, lemak dan lain-lain. Kekurangan kalori atau kelebihan kalori dalam tubuh tidaklah baik untuk kesehatan. Kelebihan kalori pada tubuh seseorang dapat menyebabkan obesitas. Obesitas merupakan ketidakseimbangan antara konsumsi kalori dan kebutuhan energi seseorang, yang mana input terlalu banyak dibandingkan dengan

kebutuhan atau pemakaian energi itu sendiri (asih, & widyastiti, 2016; most, tosti, redman, & fontana, 2017).

Obesitas merupakan salah satu masalah kesehatan dalam masyarakat yang berhubungan dengan penyakit jantung, darah tinggi, hiperlipidemia, diabetes melitus, hiperinsulinemia, dan kanker. Sedangkan jika tubuh seseorang kekurangan kalori dapat menyebabkan tubuh menjadi lemah dan kekurangan berat badan. Oleh karena itu, penting untuk memperhitungkan kebutuhan kalori harian. Biasanya orang akan melakukan *diet* atau mengatur pola makan guna mengatur jumlah asupan kalori di dalam tubuh (asih, & widyastiti, 2016; most, tosti, redman, & fontana, 2017).

Restriksi kalori merupakan intervensi nutrisi dengan pengurangan asupan energi tetapi dengan nutrisi yang memadai dan tidak menyebabkan kekurangan nutrisi, telah terbukti memperpanjang rentang kesehatan dan umur pada model hewan pengerat dan primata. Mengumpulkan data dari observasi dan *randomized clinical trials* menunjukkan bahwa restriksi kalori pada manusia menghasilkan beberapa adaptasi metabolik dan molekuler yang sama yang telah terbukti meningkatkan kesehatan dan memperlambat akumulasi kerusakan molekuler dan umur panjang pada hewan coba. Restriksi kalori juga memperbaiki beberapa faktor metabolik dan hormonal yang terlibat dalam patogenesis diabetes tipe 2, penyakit kardiovaskular, dan kanker, penyebab utama morbiditas, kecacatan, dan mortalitas (asih, & widyastiti, 2016; most, tosti, redman, & fontana, 2017).

Beberapa studi membuktikan pengurangan kalori sebanyak 30-40% akan meningkatkan angka harapan hidup dari hewan coba seperti lalat, cacing, dan muga tikus. Pada primata, terdapat dua pendapat yang berbeda namun keduanya memiliki hasil yang menunjukkan terjadinya perlambatan munculnya penyakit akibat usia tua. Hal ini dapat dijadikan indikasi akan terjadinyan peningkatan kesempatan untuk hidup. (barado, et al, 2017).

Pada penelitiannya, Troen mengemukan pendapat retriksi kalori juga dilakukan dalam upaya untuk menghambat proses penuaan. Restriksi kalori didefenisikan sebagai pengurangan jumlah kalori dalam makanan, tanpa membuat kandungan makanan itu menjadi *undernutrition.* Intervensi yang sederhana adalah

dengan mencapai ketersediaan suatu makanan mengandung semua jenis nutrien dan vitamin esensial tapi secara bermakna dibatasi jumlah kalorinya sebanyak 30–70% (most, tosti, redman, & fontana, 2017; harianja, widijanti, arsana, & handono, 2007).

Studi pembatasan kalori biasanya menggunakan diet yang diperkaya untuk menghindari malnutrisi. Secara umum diterima bahwa pengurangan asupan energi (kalori) menyebabkan perlambatan proses penuaan dan keterlambatan timbulnya kondisi kronis yang umumnya terkait dengan peningkatan morbiditas dan mortalitas pada usia lanjut. Pembatasan kalori memperpanjang masa hidup beragam organisme seperti ragi, cacing, lalat, ikan, dan hewan pengerat dan tampaknya memiliki efek yang sama pada primata bukan manusia (monyet rhesus) (most, tosti, redman, & fontana, 2017; harianja, widijanti, arsana, & handono, 2007; bales & kraus, 2013).

Dalam penelitian longitudinal selama 20 tahun mengenai Studi tentang pembatasan pada kera rhesus yang dipelihara di Wisconsin National Primate Research Center, kejadian kematian terkait penuaan lebih rendah pada kelompok pembatasan kalori (50%) dibandingkan pada kelompok yang tidak dilakukan pembatasan kalori (80%). Efek umur panjang dikaitkan dengan penurunan patologi terkait usia, termasuk diabetes, kanker, CVD, dan atrofi otak (harianja, widijanti, arsana, & handono, 2007; bales & kraus, 2013; capo et al, 2020).

Hipotesis asli yaitu pembatasan kalori meningkatkan rentang hidup dengan memperlambat laju pertumbuhan yang bertahan selama beberapa dekade; Namun, hal itu dihilangkan pada 1980-an oleh temuan bahwa efek pembatasan kalori dapat dibuktikan pada hewan dewasa. Teori yang mengusulkan bahwa efek pembatasan kalori berasal dari penurunan laju metabolisme atau pengurangan lemak tubuh, namun saat ini mekanisme yang diusulkan untuk memperpanjang lama kehidupan dengan pembatasan kalori termasuk peningkatan apoptosis (dengan demikian mengurangi akumulasi sel yang rusak), redaman kerusakan oksidatif, dan penurunan suhu tubuh. kemudian, baru-baru ini mencatat, kemungkinan bahwa beberapa proses menjelaskan efek antipenuaan dari pembatasan kalori. Kerangka yang lebih luas untuk mekanisme efek pembatasan kalori telah diusulkan, salah satu yang mencakup proses yang mengurangi produksi endogen agen perusak (seperti reactive oxygen

species) serta efek "hormesis," yang membantu melindungi organisme dari agen perusak dan memperbaiki kerusakan yang terjadi (bales & kraus, 2013).

Pembatasan kalori adalah strategi diet yang biasanya didasarkan pada penurunan asupan kalori (sekitar 20-40% dari diet ad libitum) tanpa membatasi asupan nutrisi penting. Intervensi ini telah terbukti memperpanjang umur tikus dan organisme lain, termasuk mamalia yang lebih tinggi seperti monyet. Selain itu, penelitian pada hewan pengerat menunjukkan bahwa pembatasan kalori menurunkan resiko aterosklerosis, obesitas, dan disfungsi vaskular terkait diabetes, sementara penelitian pada manusia dan monyet menunjukkan efek menguntungkan pada penyakit seperti diabetes tipe 2, obesitas, peradangan, hipertensi, kanker , dan penyakit kardiovaskular . (most, tosti, redman, & fontana, 2017; capo et al, 2020).

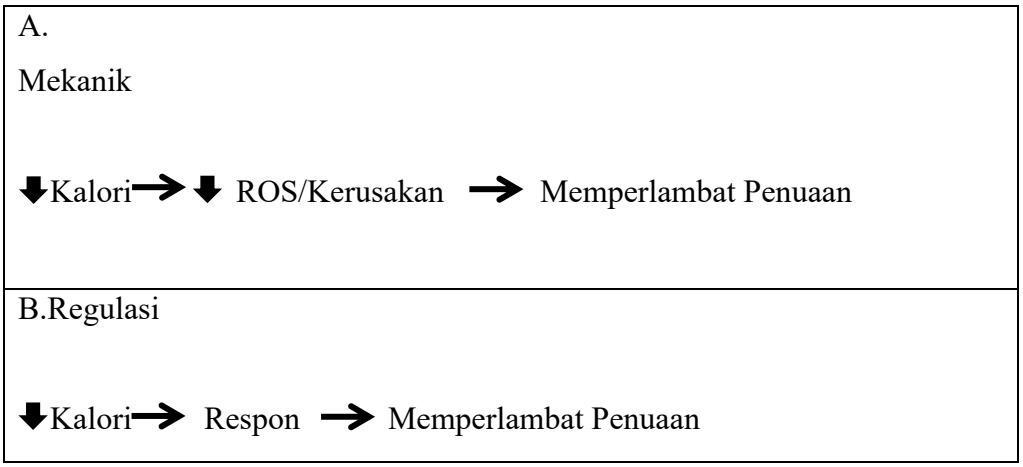
Studi yang berbeda memberikan perspektif mekanistik tentang efek pembatasan kalori pada homeostasis vaskular, termasuk menekan stres oksidatif dan inflamasi serta peningkatan bioaktivitas nitrit oksida. Pembatasan kalori memediasi pembuluh darah melalui sejumlah molekul target seperti sirtuins, AMP-activated protein kinase, target mamalia rapamycin, dan sintase nitrit oksida endotel, serta jalur regulasinya. Pembatasan kalori menginduksi proliferasi mitokondria dengan sistem transpor elektron yang lebih efisien, yang terkait dengan penurunan pemanfaatan oksigen seluruh tubuh dan menekan kerusakan oksidatif pada DNA mitokondria dan organel seluler lainnya (capo et al, 2020; koubova & guarente, 2003).

Mekanisme penuaan dan pandangan klasik tentang cara kerja restriksi kalori. Sebuah teori terkemuka menyatakan bahwa penuaan disebabkan oleh kerusakan oksidatif kumulatif yang dihasilkan oleh reactive oxygen species (ROS) yang dihasilkan selama respirasi. Kerusakan oksidatif pada DNA, RNA, protein, dan lipid memang telah dibuktikan terjadi dengan penuaan (capo et al, 2020; koubova & guarente, 2003).

2.3.1 Regulasi Masa Hidup Replikasi Ragi Melalui Restriksi Kalori

Efek pembatasan kalori pada homeostasis vaskular, termasuk menekan stres oksidatif dan inflamasi serta peningkatan bioaktivitas nitrit oksida. Logika yang sama menentang setiap model yang mengusulkan efek tunggal dari restriksi kalori

pada aspek mekanis dari proses penuaan, termasuk model antioksidan di bawah (Gbr. 1A). Studi restriksi kalori dalam ragi menunjukkan bahwa peningkatan masa hidup adalah respons yang diatur terhadap pembatasan makanan. Pada dasarnya, respon yang diatur untuk restriksi kalori menjelaskan kebanyakan efek yang dibutuhkan untuk memperlambat penuaan (capo et al, 2020; koubova & guarente, 2003).



Gambar 1. Dua Mekanisme Umum Tentang Bagaimana Pembatasan Kalori Memperpanjang Masa Hidup (koubova & guarente, 2003).

Restriksi kalori dapat dilakukan pada ragi dengan mengurangi konsentrasi glukosa dalam media dari biasanya 2% menjadi 0,5%. Karena sel-sel terus memakan ekstrak ragi ditambah pepton, yang kaya akan asam amino, nukleotida, dan vitamin, laju pertumbuhannya tetap cepat seiring dengan penurunan kadar glukosa. Dengan demikian, penurunan glukosa dari 2% menjadi 0,5%, meskipun sederhana, kemungkinan besar memberlakukan batasan energi parsial (ATP). Protokol pembatasan pola makan lainnya, yang juga membatasi asam amino dan nutrisi lain, secara drastis memperlambat laju pertumbuhan dan dapat mempersulit penerapan pembatasan energi (koubova & guarente, 2003).

Restriksi kalori dalam pecobaan menyebabkan sel induk membelah ~ 30% lebih banyak. Masa hidup tambahan ini tidak terjadi pada mutan sir2 atau pada strain dimana sintesis NAD berkurang. Oleh karena itu, aktivitas Sir2p diperlukan untuk memperpanjang masa hidup dengan pembatasan kalori dan memang, aktivitas peredaman Sir2p terbukti meningkat pada resrtriksi kalori sel. Hal penting dari studi

ragi adalah perpanjangan masa hidup dengan restriksi kalori bukanlah konsekuensi mekanis dari penurunan ROS . Sebaliknya, ekstensi adalah respons teregulasi yang membutuhkan SIR2. regulasi ini harus melibatkan pergeseran kualitatif dalam metabolisme yang dapat dirasakan oleh Sir2p. Aktivitas enzim deasetilase kemudian memperlambat proses degeneratif yang membatasi masa hidup (koubova & guarente, 2003; ong, lim, & setiawan, 2018).

Sejumlah penelitian telah menunjukkan bahwa mengurangi asupan kalori sebanyak 30-40 persen, akan memperpanjang umur organisme percobaan (cacing, lalat, dan tikus) setidaknya sebanyak kurang lebih sepertiga. Namun, pada primata (monyet rhesus), hasil restriksi kalori pada umurnya saling bertentangan dalam dua penelitian terbaru (koubova & guarente, 2003; ong, lim, & setiawan, 2018).

Studi selama 23 tahun dari NIH menunjukkan bahwa restriksi kalori tidak meningkatkan harapan hidup, sedangkan studi dari Wisconsin National Primate Research Center (WNPRC) dengan restriksi kalori setidaknya 30 persen meningkatkan kelangsungan hidup primata. Namun dalam kedua studi restriksi kalori memang menunda penyakit terkait usia dan menunjukkan perpanjangan rentang Kesehatan (bales & kraus, 2013; ong, lim, & setiawan, 2018).

Analisis respon terhadap restriksi kalori di beberapa jaringan mengungkapkan peningkatan ekspresi gen untuk jalur metabolisme energi mitokondria, metabolisme redoks mitokondria, sintesis protein, dan penurunan ekspresi gen yang terlibat dalam jalur inflamasi dan imun. Selain itu, restriksi kalori terkait dengan rata-rata umur spesies pada mamma dengan laju di mana DNA mengalami perubahan epigenetik terkait usia (koubova & guarente, 2003; ong, lim, & setiawan, 2018).

Restriksi kalori memperlambat proses penyimpangan epigenetik ini dan memperpanjang umur. terlepas dari beberapa kontroversi, restriksi kalori dianggap oleh sebagian besar sebagai cara yang bermanfaat untuk melawan penuaan. Bahkan dalam penemuan baru-baru ini bahwa restriksi kalori mempercepat hilangnya materi abu-abu di sebagian besar otak pada primata lemur tikus abu-abu, Dalam studi lain pada model hewan pengerat, diet rendah lemak dengan restriksi kalori mengakibatkan berkurangnya aktivasi mikroglia, dan menunjukkan bahwa ini

mungkin mekanisme untuk peran protektif dari restriksi kalori selama penuaan (koubova & guarente, 2003; ong, lim, & setiawan, 2018).

2.3.2 Restriksi Kalori Dalam Subjek Manusia

Bukti bahwa restriksi kalori menunda penuaan dan memperpanjang umur model hewan, menarik banyak penelitian restriksi kalori pada subjek manusia. Sebagian besar penelitian berfokus pada puasa intermiten, untuk meniru efek restriksi kalori, tetapi masih cocok bagi kebanyakan orang. Selain itu, restriksi kalori jangka panjang yang terus menerus, mungkin juga merugikan jika nutrisi penting tidak ditambahkan, dan dapat menyebabkan hilangnya kepadatan otot dan tulang. Namun, penelitian terbaru dari University of Southern California menunjukkan bahwa puasa berkepanjangan dapat melindungi limfosit pasien dari kemotoksisitas dan meregenerasi sel puncak dengan mengurangi transmisi sinyal IGF-1 (faktor pertumbuhan mirip insulin 1) atau PKA (protein kinase A) (koubova & guarente, 2003; ong, lim, & setiawan, 2018).

Di Okinawa Jepang, penduduknya terkenal dengan umur panjang mereka yang diperkirakan terutama dikarenakan pola makan mereka dan gaya hidup yang sehat. Perubahan pola makan dan gaya hidup dalam dekade terakhir telah mengurangi umur mereka ke umur rata-rata orang Jepang. Namun, pola makan asli mereka layak untuk dipelajari (ong, lim, & setiawan, 2018).

Diet tradisional ini ditekankan pada asupan sayur dan buah, dan dikurangi olahan daging, biji-bijian, lemak jenuh, gula, garam dan produk susu penuh lemak, dan relatif kaya akan karbohidrat dibandingkan dengan diet Mediterania, karena asupan kaya antioksidan, rendah kalori sayuran akar kuning-oranye seperti ubi jalar (ong, lim, & setiawan, 2018).

Diet Mediterania: Seperti diet Okinawa, diet mediteranea juga mencakup banyak buah dan sayuran, kacang-kacangan, biji-bijian dengan jumlah ikan, susu dan anggur dalam jumlah sedang, dan daging merah terbatas, tetapi banyak minyak zaitun. Dalam sebuah penelitian baru-baru ini terhadap orang tua yang mengikuti diet Mediterania menunjukkan bahwa mereka mempertahankan lebih banyak volume otak daripada mereka yang tidak mengikuti diet tersebut secara rutin.

2.4 Uraian Hewan Uji

2.4.1 Klasifikasi Hewan Coba

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Sub ordo	: Odontoceti
Familia	: Muridae
Genus	: Rattus
Spesies	: *Rattus norvegicus*

2.4.2 Karakteristik Tikus Putih (*Rattus norvegicus)*

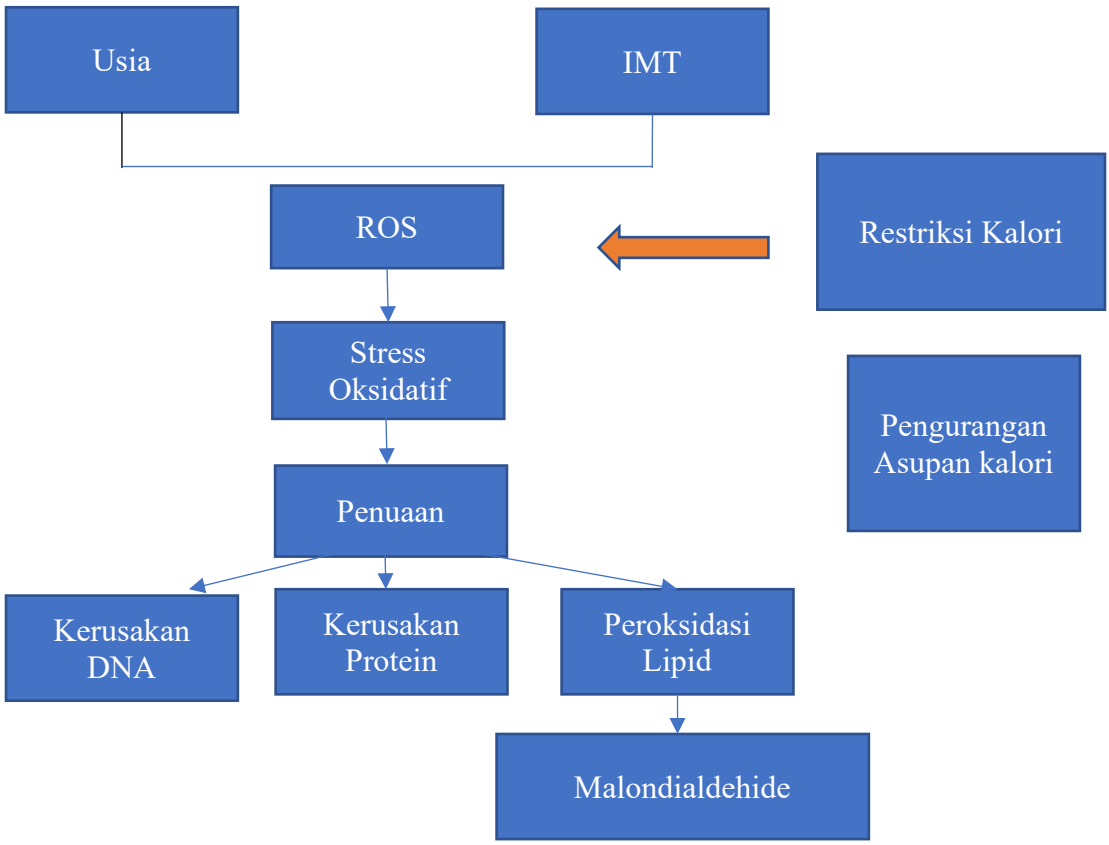
Umur	: 2-3 tahun
Berat badan	: 450-520 gr (jantan)
	250-300 gr (betina)
Berat lahir	: 5-6 gr
Luas permukaan tubuh	: 130 cm^2
Temperatur tubuh	: 35,9°-37,5°
Siklus birahi	: 60-110 hari
Jumlah pernapasan	: 94-163/menit
Sifat	: aktif

Tikus putih yang digunakan untuk percobaan laboratorium yang dikenal ada tiga macam galur yaitu Sprague Dawley, Long Evans dan Wistar. Tikus putih memiliki beberapa sifat yang menguntungkan sebagai hewan uji penelitian di antaranya perkembangbiakan cepat mempunyai ukuran yang lebih besar dari mencit, mudah dipelihara dalam jumlah yang banyak. Tikus putih juga memiliki ciri-ciri morfologis seperti albino, kepala kecil, dan ekor yang lebih panjang dibandingkan badannya, pertumbuhannya cepat, temperamennya baik, kemampuan laktasi tinggi, dan tahan terhadap arsenik tiroksid (Arifin *et* al, 2015).

Tikus Strain Wistar hidup sekitar 2 hingga 3.5 tahun (rata-rata tiga tahun). Sedangkan harapan hidup manusia adalah 80 tahun, dengan variasi di berbagai negara-negara sesuai dengan konsisi sosial dan ekonomi. Oleh karena itu, dapat

dianalogikan penuaan pada tikus dimulai pada usia diatas atau sama dengan 1 tahun atau 12 bulan (harianja, widijanti, arsana, & handono, 2007).

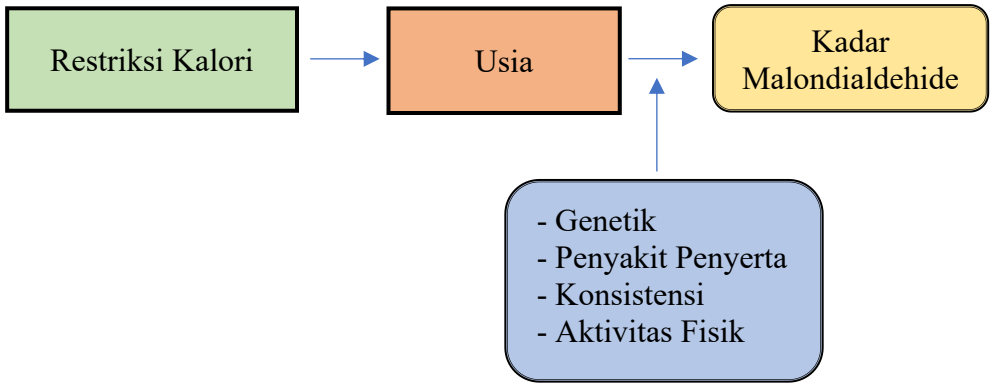
2.5 Kerangka Teori



Keterangan:

- ROS : *Reactive Oxygen Species*
- IMT : Indeks Massa Tubuh

2.6 Kerangka Konsep



Keterangan:

: Variabel bebas

: Variabel terikat

: Variabel Kontrol

: Variabel Perancu

2.7 Hipotesis

Berdasarkan uraian di atas, maka peneliti menguraikan beberapa hipotesis sebagai berikut:

"Terdapat pengaruh restriksi kalori terhadap kadar Malondialdehyde pada tikus usia muda dan usia tua".