

**PENGARUH PERBANDINGAN ANTARA *ALTERNATE DAY FASTING*
DENGAN DIET RESTRIKSI TERHADAP PENURUNAN BERAT
BADAN DAN KADAR ENDOTHELIN RESEPTOR (ET_A) GINJAL TIKUS
WISTAR (*Rattus norvegicus*) JANTAN OBESITAS**

**THE COMPARATIVE EFFECT OF ALTERNATE DAY
FASTING WITH A RESTICTION DIET ON WEIGHT LOSS AND
ENDOTHELIN RECEPTOR (ET_A) LEVELS IN THE KIDNEY OF
OBESE MALE WISTAR RATS (*Rattus norvegicus*)**



HERYL RUMTAL

P062221005



**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2024

**PENGARUH PERBANDINGAN ANTARA ALTERNATE DAY FASTING
DENGAN DIET RESTRIKSI TERHADAP PENURUNAN BERAT
BADAN DAN KADAR ENDHOLETIN RESEPTOR (ETA) GINJAL
TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*) JANTAN OBESITAS**

HERYL RUMTAL

P062221005



**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**PENGARUH PERBANDINGAN ANTARA *ALTERNATE DAY FASTING*
DENGAN DIET RESTRIKSI TERHADAP PENURUNAN BERAT
BADAN DAN KADAR ENDHOLETIN RESEPTOR (ET_A) GINJAL TIKUS
WISTAR (*Rattus norvegicus*) JANTAN OBESITAS**

Tesis

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Magister

Program Studi

Ilmu Biomedik

Disusun dan diajukan oleh:

HERYL RUMTAL

P062221005

Kepada

PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK

SEKOLAH PASCASARJANA

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024

TESIS

**PENGARUH PERBANDINGAN ANTARA ALTERNATE DAY FASTING
DENGAN DIET RESTRIKSI TERHADAP PENURUNAN BERAT BADAN DAN
KADAR ENDOTHELIN RESEPTOR (ET_A) GINJAL TIKUS WISTAR (*Rattus
norvegicus*) JANTAN OBESITAS**

HERYL RUMTAL

P062221005

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Magister pada tanggal Dua Puluh Tujuh
Bulan Agustus tahun Dua Ribu Dua Puluh Empat dan dinyatakan telah
Memenuhi syarat kelulusan

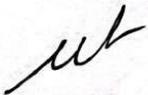
pada

Program Studi Ilmu Biomedik
Sekolah Pascasarjana
Universitas Hasanuddin
Makassar

Mengesahkan:

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping,


Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes
NIP. 196711031998021001


Prof. Dr. dr. Haerani Rasvid, M.Kes., Sp.GK., Sp.PD-KGH., FINASIM
NIP. 196805301996032001

Ketua Program Studi S2
Ilmu Biomedik,

Dekan Sekolah Pascasarjana
Universitas Hasanuddin,


Prof. dr. Rahmawati Minhajat, Ph.D., Sp.PD-KHOM., FINASIM
NIP. 196802181999032002


Prof. Dr. Budu, Ph.D., Sp.M(K), M.Med.Ed
NIP. 196612311995031009



PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "Pengaruh Perbandingan Antara Alternate Day Fasting (ADF) dengan Diet Restriksi (DR) Terhadap Penurunan Berat Badan dan Kadar Endothelin Reseptor (ETA) Ginjal Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Jantan Obesitas" adalah benar karya saya dengan arahan dari tim pembimbing (Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes sebagai pembimbing utama dan Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, SpPD-KGH, SpGK sebagai pembimbing pendamping). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini. Sebagian dari isi tesis ini telah dipublikasikan di Jurnal (Bali Medical Journal) sebagai artikel dengan judul "*The Comparative Effect of Alternate day Fasting with a Restrictive Diet on Weight Loss and Endothelin Receptor (ETA) Levels in the Kidney of Obese Male Wistar Rats (Rattus norvegicus)*". Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku. Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 20 Agustus 2024



Yang Menyatakan

Heryl Runtal

P062221005

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur dipanjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan kesehatan, rahmat dan kemudahan bagi penulis untuk menyelesaikan tesis yang berjudul “Pengaruh Perbandingan Antara *Alternate Day Fasting* dengan Diet Restriksi Terhadap Penurunan Berat Badan dan Kadar Endothelin Reseptor (ET_A) Ginjal Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Jantan Obesitas”.

Penyusunan tesis ini adalah untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan magister Ilmu Biomedik Konsentrasi Fisiologi Pascasarjana Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari tesis ini masih memiliki banyak kekurangan sehingga penulis meminta kritik dan saran yang membangun untuk hasil yang lebih baik. Dalam proses penyusunan tesis ini, penulis mendapatkan banyak bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya penulis sampaikan kepada:

1. **Prof. Budu, Sp.M(K), Ph.D., M.Med.Ed** selaku Dekan Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin dan **Prof. dr. Rahmawati Minhajat, Ph.D., Sp.PD-KOHH., FINASIM** selaku Ketua Program Studi Ilmu Biomedik yang telah menerima penulis sebagai mahasiswa untuk menempuh pendidikan magister.
2. **Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes** selaku pembimbing I dan **Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes., Sp.GK., Sp.PD-KGH., FINASIM** selaku pembimbing II yang telah meluangkan waktu dan pemikiran dalam membimbing penulis hingga tesis ini dapat terselesaikan.
3. **dr. Muhammad Husni Cangara, Ph.D., Sp.PA., DFM, dr. Aminuddin M.Nut&Diet., Ph.D dan dr. M. Aryadi Arsyad, M.BiomedSc., Ph.D** selaku tim penguji yang telah memberikan saran dan bimbingan demi kelancaran penelitian.
4. Seluruh dosen pengampuh yang telah mendidik, membimbing, serta membagikan ilmu dan pengalaman selama penulis menempuh pendidikan magister Ilmu Biomedik Kosentrasi Fisiologi di Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin.
5. Staf dan pegawai Laboratorium HUM-RC RS Universitas Hasanuddin yang telah banyak membantu terkhusus Ibu Handayani yang telah mendampingi penulis dalam proses pengerjaan sampel di Laboratorium.

6. Kedua orang tua Yulius Aso, S.Pd dan Damaris Tandilawa yang telah mendidik, membesarkan dan memberikan motivasi serta doa hingga tesis ini dapat terselesaikan.
7. Saudara laki-laki, Helmiko Runtal yang senantiasa memberikan motivasi dan semangat hingga tesis ini selesai.
8. Teman-teman seperjuangan Biomedik, khususnya konsentrasi Fisiologi 2022 (1), yang selalu memberikan dukungan, bantuan dan semangat dalam mendapatkan gelar magister.
9. Seluruh staf dan jajaran tenaga kependidikan Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin yang telah banyak membantu penulis dalam memenuhi kebutuhan administrasi selama menempuh proses pendidikan.
10. Semua pihak yang tidak sempat penulis sebutkan satu per satu yang telah membantu penulis menyelesaikan tesis ini baik secara langsung maupun tidak langsung.

ABSTRAK

HERYL RUMTAL. Pengaruh Perbandingan antara *Alternate Day Fasting* dengan Diet Restriksi terhadap Penurunan Berat Badan dan Kadar Endothelin Reseptor (ET_A) Ginjal Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Jantan Obesitas (dibimbing oleh Irfan Idris dan Haerani Rasyid)

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas antara *alternate day fasting* (ADF) dan diet restriksi (DR) terhadap penurunan berat badan dan kadar ET_A ginjal tikus Wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang mengalami obesitas. Dua puluh empat ekor tikus Wistar jantan yang digemukkan dengan diet tinggi kalori hingga mencapai indeks Lee >300 yang dibagi dalam 3 kelompok yaitu Kelompok Obesitas (n=8), kelompok ADF (n=8) dan kelompok DR (n=8). Kemudian kelompok obesitas tetap diberikan pakan diet tinggi kalori sedangkan pada kelompok ADF diberikan perlakuan puasa 16 jam dan makan 8 jam dan kelompok DR diberikan perlakuan pengurangan kalori harian 30% selama enam minggu. Perubahan berat badan diukur dengan timbangan digital dan kadar ET_A dengan ELISA kit. Analisis data diuji dengan paired T test untuk perubahan berat badan, sedangkan kadar ET_A ginjal dengan uji Anova. Berat badan tikus pada kelompok obesitas meningkat dari 247.37 gr menjadi 301.96 gr (P=0.001), kelompok tikus ADF menurun dari 281.81 gr menjadi 245.1 gr (P=0.001) dan kelompok tikus DR menurun dari 259.48 gr menjadi 250.73 gr (P=0.08). Kadar ET_A ginjal pada kelompok tikus obesitas 6762.52 pg/ml, kelompok ADF 4833.36 pg/ml dan pada kelompok DR 5286.91 pg/ml. Kadar ET_A ginjal kelompok tikus ADF lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok tikus obesitas (P=0.01), akan tetapi tidak bermakna jika dibandingkan dengan kelompok tikus DR (P=0.56) begitupun pada kelompok tikus DR jika dibandingkan dengan kelompok tikus obesitas (P=0.07). Kesimpulan: pemberian *alternate day fasting* dan diet restriksi memberi efek penurunan berat badan dan kadar ET_A ginjal tikus Wistar jantan yang mengalami obesitas, namun tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara *alternate day fasting* dengan diet restriksi dalam menurunkan kadar ET_A ginjal tikus Wistar Jantan yang mengalami obesitas

Kata kunci: *Alternate Day Fasting*, Diet Restriksi, Berat Badan, Endothelin Reseptor (ET_A), Obesitas.

	
GUGUS PENJAMINAN MUTU (GPM) SEKOLAH PASCASARJANA UNHAS	
Abstrak ini telah diperiksa.	Paraf Ketua / Sekretaris.
Tanggal : _____	

ABSTRACT

HERYL RUMTAL. **The Comparative Effect of *Alternate Day Fasting* with a Restrictive Diet on Weight Loss and Endothelin Receptor (ET_A) Levels in the Kidneys of Obese Male Wistar Rats (*Rattus norvegicus*)** (guided by Irfan Idris and Haerani Rasyid)

This study aimed to evaluate the effectiveness of alternate day fasting and restriction diet on weight loss and kidney ET_A levels of obese male Wistar rats (*Rattus norvegicus*). Twenty-four fattened male Wistar rats were divided into 3 groups: the obesity group (n=8), the ADF group (n=8), and the DR group (n=8). All rats were first fattened with a high calorie diet until they reached a Lee Index >300. Then the obese group was still fed a high-calorie diet while the ADF group was given a 16-hours fasting and 8-hour feeding treatment and the DR group was given a 30% daily calorie reduction treatment for six weeks. Changes in body weight were measured with a digital scale and ET_A levels with an ELISA kit. Data analysis was performed using a paired t-test for body weight changes, while renal ET_A levels were tested using ANOVA. The body weight of rats in the obese group increased from 247.37 g to 301.96 g (P=0.001), the ADF rat group decreased from 281.81 g to 245.1 g (P=0.001) and the DR rat group decreased from 259.48 g to 250.73 g (P=0.08). Renal ET_A levels in the obese rat group were 6762.52 pg/ml, in the ADF group 4833.36 pg/ml and in the DR group 5286.91 pg/ml. Renal ET_A levels in the ADF rat group were lower when compared to the obese rat group (P=0.01), but not significant when compared to the DR rat group (P=0.56) as well as in the DR rat group when compared to the obese rat group (P=0.07). Conclusion: alternate day fasting and diet restriction are effective in reducing body weight and kidney ET_A levels in obese male Wistar rats, but there is no significant difference in alternate day fasting with diet restriction in reducing kidney ET_A levels in obese male Wistar rats.

Keywords: Alternate Day Fasting, Restriction Diet, Body weight, Endothelin Receptor (ET_A), Obesity.

	GUGUS PENJAMINAN MUTU (GPM) SEKOLAH PASCASARJANA UNHAS
Abstrak ini telah diperiksa.	Paraf Ketua / Sekretaris.
Tanggal : _____	

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
PERNYATAAN PENGAJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	v
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.5 Kerangka Teori.....	5
1.6 Kerangka Konsep	6
1.7 Hipotesis.....	6
BAB II METODOLOGI PENELITIAN	8
2.1 Desain Penelitian	8
2.2 Variabel Penelitian.....	9
2.3 Waktu dan Tempat Penelitian	9
2.4 Populasi dan Sampel Penelitian.....	9
2.5 Alat dan Bahan.....	10
2.6 Prosedur Penelitian.....	11

2.7	Defenisi Operasional	13
2.8	Izin Penelitian Dan Kelayakan Etik	13
2.9	Teknik Analisis Data	14
2.10	Alur penelitian	15
BAB III HASIL PENELITIAN		16
BAB IV PEMBAHASAN.....		21
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....		29
DAFTAR PUSTAKA.....		30
LAMPIRAN		36

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1	Kerangka Teori	5
Gambar 2	Kerangka Konsep	6
Gambar 3	Desain Penelitian	20
Gambar 4	Perubahan Berat Badan Hewan Coba	30
Gambar 5	Perubahan Berat Badan Hewan Coba (Minggu Ke 10 – Minggu Ke 16)	31
Gambar 6	Rata-Rata Kadar ET _A Ginjal Hewan Coba.....	32

DAFTAR TABEL

Tabel 1	Defenisi Operasional	25
Tabel 2	Karakteristik Hewan Coba	29
Tabel 3	Perbandingan Kadar ET _A Ginjal Pada Setiap Kelompok Hewan Coba	32

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Obesitas merupakan kelebihan lemak di dalam tubuh yang tertimbun dalam jaringan subkutan (Susantiningsih, 2015). Obesitas terjadi karena asupan kalori lebih tinggi dari kalori yang dikeluarkan. Asupan kalori yang tinggi disebabkan oleh konsumsi makanan tinggi lemak sedangkan pengeluaran energi yang rendah akibat kurangnya aktivitas fisik dan pola hidup yang kurang sehat yang tetap dipertahankan. Penumpukan lemak ini disebabkan oleh adanya lemak berlebih dalam jaringan subkutan dan lemak visceral perut. Kondisi demikian diakibatkan karena fungsi jaringan lemak subkutan yang terganggu (Dewanti et al., 2022). Obesitas termasuk penyakit yang kompleks dan multifaktorial. Lebih dari sepertiga populasi dunia saat ini mengalami obesitas dan *overweight*, keadaan ini diperkirakan akan menyebabkan 20% orang obesitas serta 38% akan mengalami *overweight* dan obesitas (Hruby & Frank, 2015).

Obesitas di Indonesia terjadi pada semua kelompok umur dan di semua strata sosial ekonomi (Adi Supraba et al., 2020). Prevelensi obesitas berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (Riskedas) menunjukkan adanya peningkatan sebesar 4,4% dari tahun 2013 (26,6%) ke tahun 2018 (31%) (Kemenkes RI, 2018). Berdasarkan hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskedas), menunjukkan peningkatan angka obesitas umumnya dikaitkan dengan kebiasaan mengkonsumsi makanan dengan jumlah lebih dari yang dibutuhkan. Obesitas pada anak-anak, remaja dan dewasa memiliki risiko kanker (7-41%), diabetes (44%) dan penyakit jantung iskemik (23%). Di Indonesia, prevelensi obesitas pada penduduk berusia <18 tahun dari 11,7% (2010) menjadi 15,4% (2013). Peningkatan prevelensi ini berkaitan dengan perubahan gaya hidup serta pola makan yang tidak sehat seperti western diet yang tinggi lemak, karbohidrat dan rendah serat dapat berakibat terjadinya ketidakseimbangan asupan nutrisi dan menimbulkan obesitas (Dewanti et al., 2022).

Obesitas dikaitkan dengan sistem endothelin pada manusia yang hipertensi maupun tidak hipertensi, akan tetapi dampak obesitas pada vaskular ginjal belum sepenuhnya diketahui (Baretella et al., 2014). Pada kasus obesitas umumnya terjadi abnormalitas sel endothelium. Perubahan tersebut mengakibatkan terjadinya ketidakseimbangan antara ET-1 dan NO yang menyebabkan aktivitas yang berlebih

oleh sistem endogen ET-1 (Grassi et al., 2010). Obesitas berkaitan erat dengan disfungsi endotel yang merupakan tanda awal kelainan vaskular. Fungsi endotelium yang terganggu dapat mengakibatkan penurunan bioavailabilitas NO serta aktivitas ET-1 (Wibisono, 2022). Disfungsi endotel merupakan kelainan awal dalam perkembangan dalam perkembangan penyakit vaskular dan secara patofisiologis terkait dengan perkembangan aterosklerosis (Ratajczak et al., 2019). Disfungsi endotel mengakibatkan perubahan dinamis pada pembuluh darah yang menyebabkan penurunan laju filtrasi glomerulus, ekspansi volume cairan ekstrasel, keseimbangan ion dan hipoksia ginjal serta mengarah pada perkembangan penyakit CKD (Paolo et al., 2017).

Beberapa metode yang digunakan untuk mencegah kelebihan berat badan dan obesitas, salah satunya yakni mengurangi asupan energi dan meningkatkan pengeluaran energi dengan aktivitas fisik yang teratur. Adapun metode umum diterapkan untuk mengurangi asupan energi adalah metode *Intermittent Fasting* (IF) yang diindikasikan dapat menurunkan berat badan atau pengurangan lemak tubuh (Park et al., 2020). Selain metode IF, terdapat beberapa cara paling efektif untuk menerapkan perubahan gaya hidup seperti diet dan olahraga. Banyak penelitian telah mengkonfirmasi bahwa diet rendah kalori dapat menjadi suatu cara strategi yang efektif untuk mengendalikan rasa lapar sekaligus mengurangi asupan kalori. Selain diet rendah kalori, ada cara lain untuk mengurangi atau mencegah kelebihan berat badan dan obesitas yaitu dengan berpuasa, salah satunya yakni puasa berselang (Adi Supraba et al., 2020). Intervensi diet merupakan salah satu cara modifikasi gaya hidup yang efektif dalam pencegahan obesitas dan diabetes. Pembatasan kalori merupakan suatu bentuk intervensi diet yang melibatkan pengurangan asupan kalori harian yang memberikan manfaat fisiologis (Cui et al., 2022).

Bentuk intervensi diet yakni puasa alternatif (ADF), terbukti dalam menurunkan berat badan. Penurunan berat badan sebesar 5-10% secara signifikan mengurangi resiko penyakit jantung koroner (Bhutani et al., 2013). Pembatasan kalori dan puasa alternatif merupakan salah satu bentuk pembatasan diet. Pembatasan kalori melibatkan pengurangan asupan energi harian sebesar 15-40% dan telah terbukti mampu mencegah kanker dan memperpanjang rentang hidup (Varady et al., 2008). Pembatasan kalori merupakan pengurangan asupan energi tanpa malnutrisi yang

mampu meningkatkan indeks fungsional dan mengurangi risiko metabolik sebagai faktor penyebab penyakit kronis (Varady & Hellerstein, 2007).

Puasa alternatif (ADF) didefinisikan sebagai bentuk lain dari pembatasan diet yang dilakukan secara bergantian antara makan dan puasa. ADF mampu mengurangi tingkat proliferasi serta meningkatkan tingkat kelangsungan hidup (Varady et al., 2008). Pada orang dewasa sehat dengan kelebihan berat badan atau obesitas, ADF dan restriksi kalori dapat menyebabkan penurunan berat badan antara 6-8% selama periode 2 sampai 12 bulan (Gabel et al., 2019).

Saat ini telah banyak peneliti yang mengungkapkan bahwa penurunan berat badan dapat menurunkan kadar ET-1. Akan tetapi masih sangat kurang penelitian tentang bagaimana pengaruh alternate day fasting dan diet restriksi terhadap kadar ET_A terutama pada kasus obesitas. Sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui bagaimana pengaruh alternate day fasting dengan diet restriksi pada kadar ET_A. Studi ini bertujuan untuk menganalisis efek perbedaan antara alternate day fasting dan diet restriksi terhadap fungsi ginjal. Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus jantan (*Rattus norvegicus*) galur Wistar yang akan dianalisis efek ke ginjal dengan parameter yakni kadar ET_A.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh alternate day fasting terhadap berat badan dan kadar endotelin reseptor alpha (ET_A) ginjal tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang mengalami obesitas ?
2. Bagaimana pengaruh diet restriksi terhadap berat badan dan kadar endotelin reseptor alpha (ET_A) ginjal tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang mengalami obesitas?
3. Bagaimana perbandingan antara alternate day fasting dan diet restriksi terhadap berat badan dan kadar endotelin reseptor alpha (ET_A) ginjal tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang mengalami obesitas?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui efektivitas antara alternate day fasting dan diet restriksi terhadap penurunan berat badan dan kadar endothelin reseptor alpha (ET_A) ginjal tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang mengalami obesitas.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Untuk menganalisis efek alternate day fasting terhadap penurunan berat badan dan kadar endothelin reseptor alpha (ET_A) ginjal pada tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang mengalami obesitas.
- b. Untuk menganalisis efek restriksi diet terhadap penurunan berat badan dan kadar endothelin reseptor alpha (ET_A) ginjal pada tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang mengalami obesitas.
- c. Untuk menganalisis hubungan antara alternate day fasting dengan diet restriksi terhadap penurunan berat badan dan kadar endothelin reseptor alpha (ET_A) ginjal pada tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang mengalami obesitas.

1.4 Manfaat Penelitian

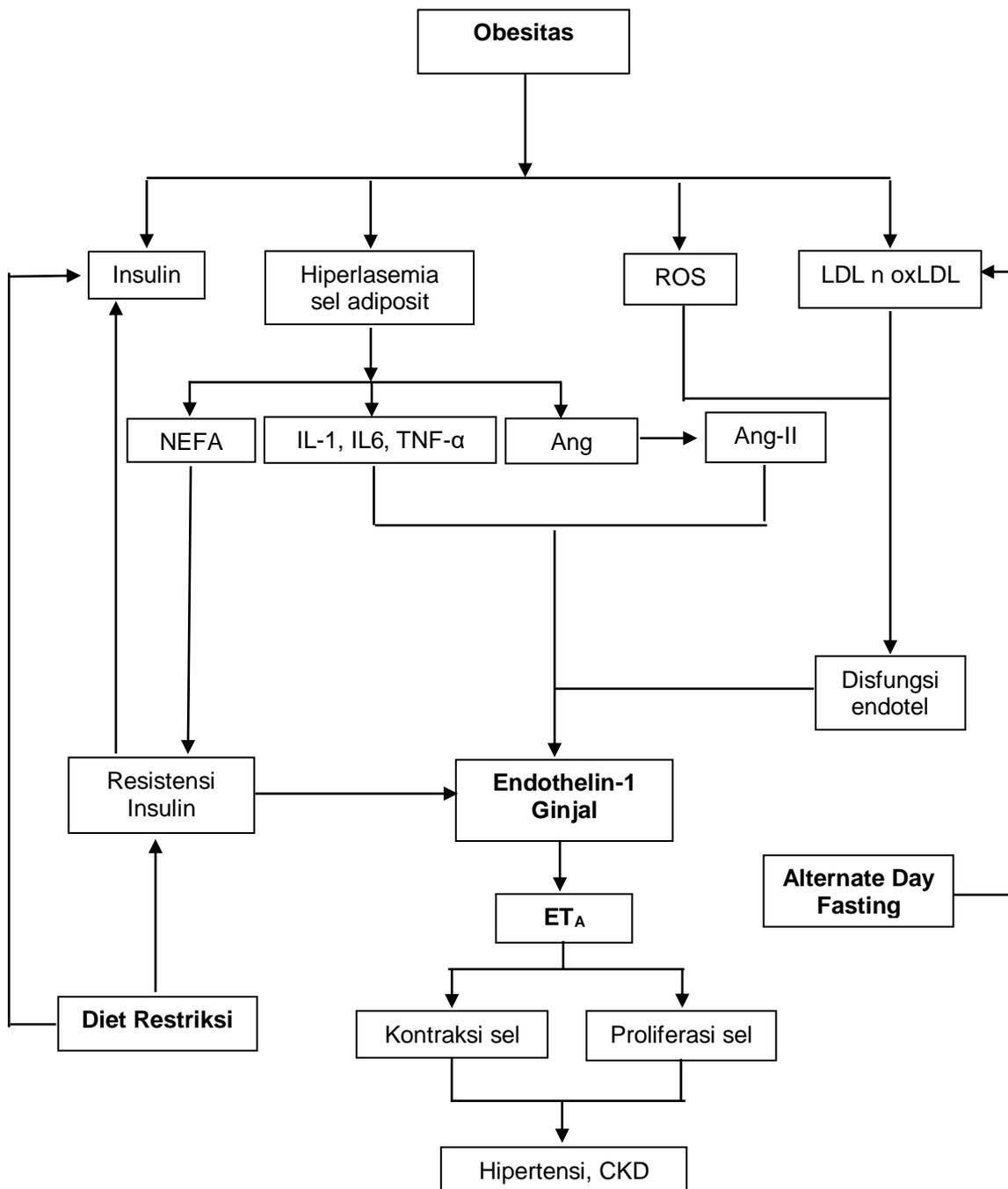
1.4.1 Manfaat Pengembangan Ilmu

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi ilmiah serta menambah wawasan peneliti dalam memahami efek alternate day fasting dan diet restriksi terhadap berat badan dan kadar reseptor ET_A ginjal tikus wistar jantan yang mengalami obesitas.

1.4.2 Manfaat Praktis

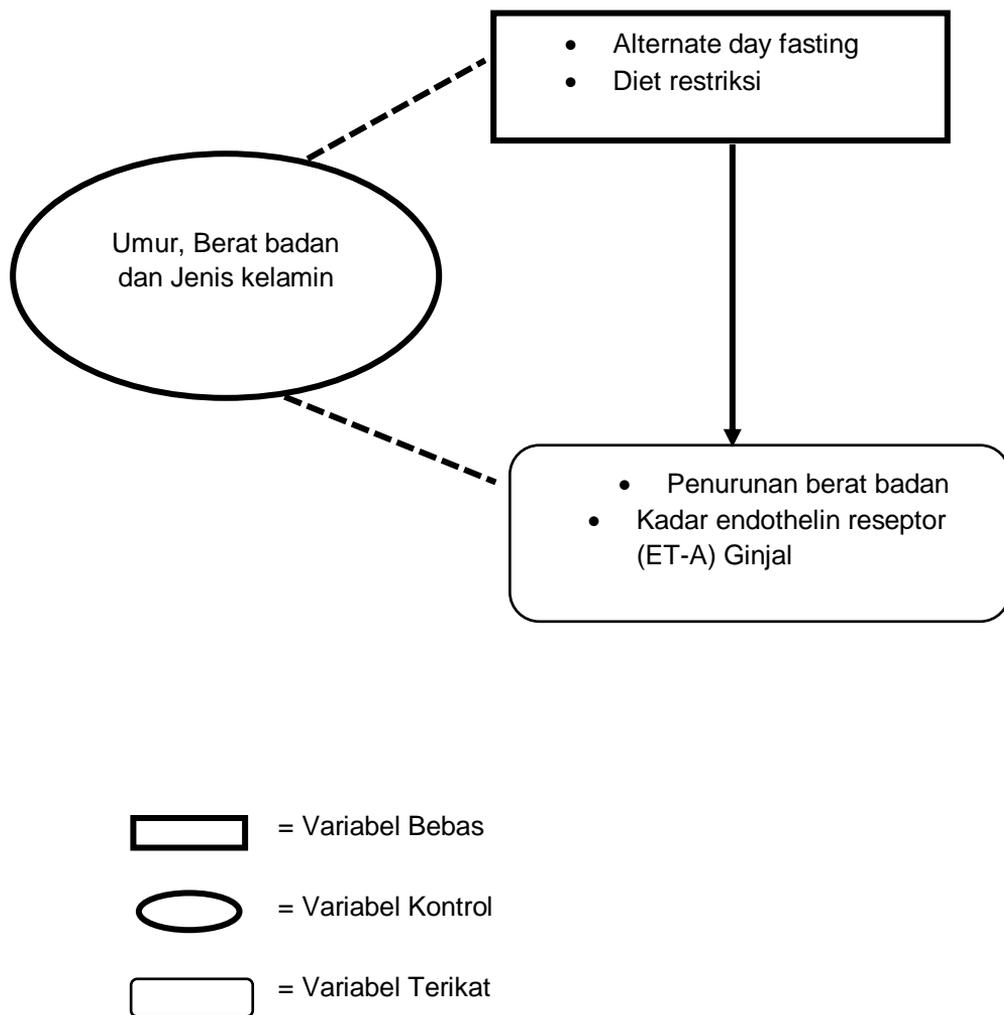
Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai bahan referensi bagi pembaca dan sebagai acuan terhadap penelitian selanjutnya tentang alternate day fasting dan diet restriksi.

1.5 Kerangka Teori



Gambar 1. Kerangka Teori

1.6 Kerangka Konsep



Gambar 2. Kerangka Konsep

1.7 Hipotesis

1.7.1 Hipotesis Nol (H₀)

Tidak ada pengaruh pemberian alternate day fasting dan diet restriksi terhadap penurunan berat badan dan kadar endothelin reseptor (ET_A) pada ginjal tikus Wistar jantan yang obesitas.

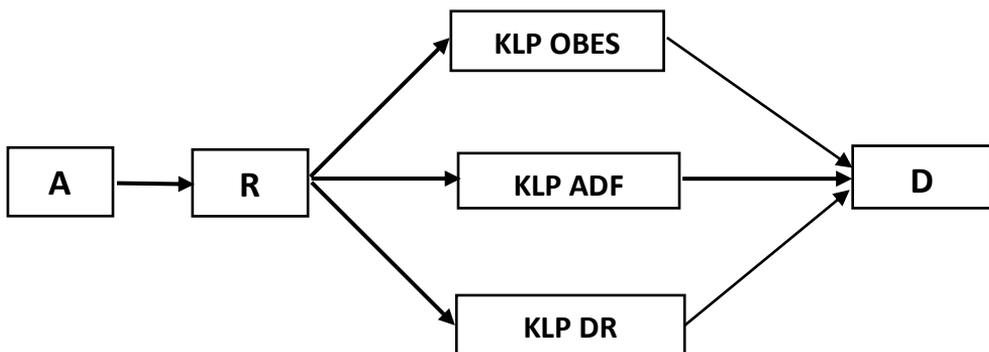
1.7.2 Hipotesis Alternatif

Ada pengaruh pemberian alternate day fasting dan diet restriksi terhadap penurunan berat badan dan kadar endothelin reseptor (ET_A) pada ginjal tikus Wistar jantan yang obesitas.

BAB II METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratorik dengan desain penelitian *Post Test Control Group Design*. Pada penelitian ini diamati pengaruh dari alternate day fasting (ADF) dan diet restriksi (DR) terhadap berat badan dan kadar reseptor ET_A ginjal tikus wistar jantan yang obesitas.



Gambar 3. Desain Penelitian

- A** : **Adaptasi**. Saat masa adaptasi hewan coba diberikan pakan standar serta air minum secara *ad libitum* selama 7 hari.
- R** : **Random**. Hewan coba dibagi ke dalam 3 kelompok perlakuan yang dipilih secara acak dan masing masing kelompok terdiri atas 8 ekor tikus.
- KLP OBES** : **Kelompok obesitas**. Tikus diberikan pakan diet tinggi kalori dan air minum secara *ad libitum* selama 6 minggu.
- KLP ADF** : Tikus diberikan pakan diet tinggi kalori dan air minum secara *ad libitum* lalu diberikan intervensi puasa alternatif selama 6 minggu.
- KLP DR** : Tikus diberikan pakan diet tinggi kalori dan air minum secara *ad libitum* lalu diberikan intervensi diet restriksi selama 6 minggu.
- D** : **Pengambilan Organ Ginjal**. Semua hewan coba pada kelompok perlakuan dilakukan pengambilan sampel organ di awal minggu ke-

7 setelah perlakuan. Hewan coba dianastesi kemudian dilakukan *servical dislocation* pada hewan untuk selanjutnya dilakukan pembedahan dan diambil organ ginjalnya.

2.2 Variabel Penelitian

2.2.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah alternate day fasting dan diet restriksi.

2.2.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah penurunan berat badan dan kadar reseptor endothelin (ET_A) ginjal tikus wistar jantan

2.2.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah umur, berat badan dan jenis kelamin.

2.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2023 – Maret 2024 di Laboratorium Hewan Lantai 4 Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin untuk pemeliharaan hewan coba dan Laboratorium HUM-RC RS Universitas Hasanuddin untuk pemeriksaan endothelin ginjal.

2.4 Populasi dan Sampel Penelitian

2.4.1 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) jantan.

2.4.2 Sampel Penelitian

a. Kriteria Inklusi

- 1) Tikus Wistar dengan jenis kelamin Jantan
- 2) Berumur \pm 1 bulan
- 3) Berat badan 70-90 gram
- 4) Tikus dalam keadaan sehat ditandai dengan gerakan yang aktif, bulu yang tebal dan mata yang jernih.

b. Kriteria Eksklusi

Tikus Wistar jantan yang mengalami masalah atau gangguan kesehatan sebelum dilakukan pemberian alternate day fasting dan restriksi diet akan dikeluarkan dari penelitian (dieksklusi).

c. Besar sampel

Alokasi sampel dalam penelitian ini menggunakan metode *Simple Random Sampling*. Sampel dalam penelitian dibagi menjadi 3 kelompok. Sampel diambil dari populasi tikus Wistar jantan dan besar sampel ditentukan berdasarkan rumus Federer:

$$(t - 1)(n - 1) \geq 15$$

Keterangan:

t= Jumlah kelompok

n= Jumlah sampel kelompok

$$(t - 1)(n - 1) \geq 15$$

$$(3 - 1)(n - 1) \geq 15$$

$$2(n - 1) \geq 15$$

$$n - 1 \geq 15/2$$

$$n - 1 \geq 7,5$$

$$n \geq 7,5 + 1$$

$$n \geq 8$$

2.5 Alat dan Bahan

2.5.1 Alat

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan digital, kandang dan label kandang, tempat pakan dan botol minum, microplate, vial tube, gelas ukur 50 mL, gelas beaker 250 mL, *Elisa Reader*, mikropipet single & tip, mikropipet Multichannel 20-200 μ l, incubator, sentrifuge, vortex, tabung Ependof.

2.5.2 Bahan

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus Wistar jantan, pakan standar AD II, pakan sindrom metabolik, serbuk kayu, air minum,

tissue, larutan pengencer, sarung tangan lateks, masker bedah, kapas, ether, alcohol 70%, *Pre-coated, stabilized 96-well micotiter*, plate, sample diluent standards dan controls, *conjugated detection antibody*, *10x wash solution* dan *substrate*.

2.6 Prosedur Penelitian

2.6.1 Pemeliharaan Hewan Coba

Sebelum memulai percobaan, tikus diadaptasi selama 7 hari. Kesehatan tikus dipantau setiap hari serta berat badan tikus ditimbang setiap 3 hari sekali. Masing-masing tikus ditempatkan dalam kandang terpisah dan diberikan pakan standar serta air minum secara *ad libitum*. Selain itu, kandang dibersihkan tiap 3 hari sekali dan lingkungan kandang diatur dengan sirkulasi udara yang cukup, suhu ruangan standar ($28 \pm 32^{\circ}\text{C}$) serta lampu ruangan diatur dalam siklus gelap 12 jam dan siklus terang 12 jam.

2.6.2 Pengamatan Perilaku Hewan Coba

Pengamatan perilaku hewan coba dilakukan untuk menilai ada tidaknya perubahan kondisi yang timbul pada tikus selama proses intervensi pakan diet tinggi kalori, pemberian puasa alternate day fasting dan diet restriksi. Pertama, pengamatan perilaku tikus, untuk menilai apakah tikus aktif bergerak atau kurang aktif bergerak ataupun menjadi lebih gelisah serta sensitif. Kedua, mengamati perubahan kondisi bulu tikus, untuk menilai apakah terjadi kebotakan atau kerontokan dan ada tidaknya perubahan warna pada bulu tikus yang normalnya berwarna putih. Ketiga, mengamati defekasi tikus, untuk menilai apakah ada perubahan konsistensi menjadi encer, serta ada tidaknya diare. Keempat, mengamati ada tidaknya kematian pada tikus selama proses intervensi diet tinggi kalori maupun pemberian puasa alternate day fasting dan diet restriksi.

2.6.3 Pemberian Diet Tinggi Kalori

Pemberian diet tinggi kalori dilakukan selama 5 minggu setelah masa aklimatisasi. Setelah 5 minggu pemberian diet tinggi kalori, berat badan tikus ditimbang dan jika telah mencapai Lee index >300 maka berat badan tikus dipertahankan lagi selama 5 minggu sebelum dilakukan proses intervensi. Pada proses intervensi kelompok kelompok perlakuan (ADF dan DR) diberikan

diet laboratorium atau pakan standar. Proses intervensi dilakukan selama 6 minggu kemudian setelah proses intervensi dilakukan pembedahan untuk mengambil organ ginjal tikus.

2.6.4 Pemberian puasa alternate day fasting dan diet restriksi pada tikus dibagi menjadi 1 kelompok kontrol dan 2 kelompok perlakuan yang terdiri dari:

• Kelompok Obesitas	8 ekor	(+) Diet tinggi kalori	(-) Puasa 16 jam/hari (-) Diet restriksi 30%
• Kelompok ADF	8 ekor	(+) Diet tinggi kalori	(+) Puasa 16 jam/hari
• Kelompok DR	8 ekor	(+) Diet tinggi kalori	(+) Diet restriksi 30%

Pemberian pakan diet tinggi kalori pada tikus dilakukan selama 10 minggu kemudian pemberian intervensi puasa alternate day fasting serta diet restriksi pada tikus dilakukan selama 6 minggu.

2.6.5 Pengambilan Sampel

Setelah diberi perlakuan selama 6 minggu, tikus dimatikan dengan cara dibius dengan menggunakan ether. Sampel tikus yang dikorbankan dimasukkan ke dalam stoples kemudian ditutup rapat, selanjutnya 10-20 mL ether dituangkan ke dalam kapas dan dimasukkan ke dalam stoples yang telah berisi tikus yang dikorbankan, kemudian dilakukan pengamatan terhadap napas dan denyut jantung, apabila sampel tikus sudah tidak bernapas, tutup stoples dibuka. Selanjutnya dilakukan pembedahan untuk diambil organ ginjal dibersihkan dengan NaCl 0,9%.

2.6.6 Uji Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Organ ginjal dicuci dengan menggunakan larutan PBS untuk menghilangkan sel darah merah, kemudian organ ginjal dihancurkan secara mekanik menggunakan mortar dan dihomogenasi menggunakan homogenizer. Selanjutnya cairan jaringan di sentrifugasi selama 20 menit pada kecepatan 2000-3000 RPM. Serum yang diperoleh kemudian dipindahkan pada microtube yang diberi label, kemudian dilakukan pemeriksaan kadar reseptor endothelin alpha menggunakan uji Elisa. Hasil pemeriksaan kemudian dicatat.

2.7 Defenisi Operasional

Tabel 1. Defenisi Operasional

No	Variabel	Defenisi	Alat dan Metode	Hasil Ukur	Skala
1	Obesitas	Berat badan hewan coba yang mencapai nilai indeks Lee >300	Intervensi obesitas pada tikus wistar dengan pemberian pakan tinggi kalori yang diberikan selama 10 minggu	Dalam satuan kg/BB	Rasio
2	Endothelin Ginjal	Kadar reseptor ET _A yang terukur dari endotelin ginjal	Pengukuran kadar reseptor ET-A menggunakan uji ELISA yang disentrifugasi pada 3000 rpm	Dalam satuan µg/ml	Nominal
3.	Alternate day fasting	Metode puasa berseling waktu selama 16 jam puasa dan 8 jam makan (ad libitum)	Pemberian puasa ADF dilakukan selama 16 jam/hari selama 6 minggu (17.00 – 08.00 WITA)	Dalam satuan kg/BB	Nominal
4	Diet restriksi	Pengurangan asupan kalori 30% dengan tetap memperhatikan kecukupan nutrisi agar tidak terjadi malnutrisi	Pemberian diet restriksi sebesar 30% selama 6 minggu	Dalam satuan kg/BB	Nominal

2.8 Izin Penelitian Dan Kelayakan Etik

Dalam penelitian ini, setiap tindakan yang dilakukan telah memperoleh izin untuk dijadikan sampel penelitian dan dinyatakan memenuhi persyaratan etik untuk dilaksanakan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) FKUH-RSPTN UH-RSUP Dr. Wahidin Sudirohusudo Makassar dan telah mendapatkan rekomendasi persetujuan etik dengan nomor etik 151/UN4.6.4.5.31/PP36/2024.

2.9 Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis menggunakan aplikasi program *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versi 25.0.

- 2.9.1 Analisis univariat merupakan deskripsi data dasar berupa nilai minimum, maksimum, median (nilai tengah), mean (rerata) dan SD (standar deviasi).
- 2.9.2 Analisis bivariat, sebelum analisis bivariat dilakukan uji normalitas data menggunakan uji *Saphiro Wilk*, dimana data dikatakan terdistribusi normal jika nilai $p > 0.05$. Selanjutnya dilakukan uji komparatif untuk menguji perbedaan rerata dari dua variabel kelompok yang tidak berpasangan (kelompok obesitas dan kelompok perlakuan) dengan menggunakan uji *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan derajat pemaknaan 5% ($p > 0.05$) yang dilanjutkan dengan uji *LSD* untuk melihat perbedaan antar kelompok.

2.10 Alur penelitian

