

**TESIS**

**PENGARUH *INTERMITTENT FASTING*  
TERHADAP BERAT BADAN DAN KADAR *MALONDIALDEHYDE (MDA)*  
PADA TIKUS YANG DI INDUKSI DENGAN *HIGH FAT DIET***

**THE EFFECT OF *INTERMITTENT FASTING*  
ON BODY WEIGHT AND *MALONDIALDEHYDE (MDA)* LEVELS  
IN RATS INDUCED WITH *HIGH FAT DIET***



**Disusun dan diajukan oleh  
WEDARI GUSTI ANGGRAENI  
P062212009**

**PROGRAM MAGISTER ILMU BIOMEDIK  
KONSENTRASI *AGING REGENERATIVE MEDICINE*  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**PENGARUH *INTERMITTENT FASTING*  
TERHADAP BERAT BADAN DAN KADAR *MALONDIALDEHYDE (MDA)*  
PADA TIKUS YANG DI INDUKSI DENGAN *HIGH FAT DIET***

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Ilmu Biomedik

Disusun dan diajukan oleh

**WEDARI GUSTI ANGGRAENI**

**P062212009**

Kepada

**SEKOLAH PASCA SARJANA**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2024**

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

PENGARUH INTERMITTENT FASTING TERHADAP BERAT BADAN DAN KADAR  
MALONDIALDEHYDE (MDA) PADA TIKUS YANG DIINDUKSI DENGAN  
HIGH FAT DIET

Disusun dan diajukan oleh

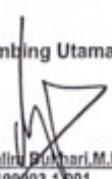
**WEDARI GUSTI ANGGRAENI**  
P062212009

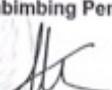
Telah dipertahankan di hadapan Panitia ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Program Studi Magister Ilmu Biomedik  
Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin  
Pada tanggal 11 Januari 2024  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

  
Prof. dr. Agus Salim Puhari, M.Med, Ph.D, Sp. GK(K)  
NIP. 19700821199903 1 001

  
dr. Muhammad Husni Cangara, Ph.D, Sp. PA, DFM  
NIP. 19770409 200212 1 002

Ketua Program Studi Ilmu Biomedik

Dekan Fakultas/ Sekolah pascasarjana

  
Prof. dr. Rahmawati, Ph.D., Sp. PD-KHOM., FINASIA  
NIP. 19680218 199903 2 002

  
Prof. dr. Budiy, Ph.D., Sp. M(K), M.Med.Ed  
NIP. 19661231 199503 1 009

## PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Wedari Gusti Anggraeni  
NIM : P062212009  
Program Studi : Ilmu Biomedik  
Konsentrasi : Aging and Regenerative Medicine  
Jenjang : S2

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

*PENGARUH INTERMITTENT FASTING  
TERHADAP BERAT BADAN DAN KADAR MALONDIALDEHYDE (MDA)  
PADA TIKUS YANG DI INDUKSI DENGAN HIGH FAT DIET*

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, 11 Januari 2024

Yang menyatakan

  
Wedari Gusti Anggraeni

## KATA PENGANTAR



Alhamdulillah Rabbil Alamin, puji dan syukur kehadirat Allah SWT atas segala Rahmat dan Karunia-Nya, akhirnya penulis dapat menyelesaikan penyusunan tesis yang berjudul: **PENGARUH *INTERMITTENT FASTING* TERHADAP BERAT BADAN DAN KADAR *MALONDIALDEHYDE (MDA)* PADA TIKUS YANG DI INDUKSI DENGAN *HIGH FAT DIET*.**

Tesis ditulis dalam rangka memenuhi persyaratan untuk memperoleh gelar master di program studi Ilmu Biomedik Konsentrasi (*Aging and Regenerative Medicine*) 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. Dekan Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin Prof.dr.Budu, Ph.D, Sp.M (K), M.Med.Ed , Ketua Program Studi Prof. dr. Rahmawati Minhajat Ph.D, Sp.Pd-KHOM,FINASIM, yang telah memberikan arahan, dukungan dan motivasi kepada penulis selama proses pendidikan.
2. Tim pembimbing : Prof. dr. Agussalim Bukhari, M.Med, Ph.D, Sp.GK (K) sebagai Pembimbing I dan dr. Muhammad Husni Cangara, Ph.D Sp.PA (K),DFM sebagai Pembimbing II, atas segala saran dan arahnya yang telah diberikan selama penulisan tesis ini.
3. Tim penguji : Dr.dr. Irfan Idris, M.Kes , dr. Aminuddin,M.Nut & Diet, Ph.D,Sp.GK dan dr. Arif Santoso,Sp.P, Ph.D, FAPSR segala saran dan arahnya yang telah diberikan selama penulisan tesis ini.

4. Segenap dosen Ilmu Biomedik Konsentrasi Aging and Regenerative Medicine yang telah memberikan waktu dan ilmunya kepada penulis.
5. Kedua orangtuaku, Dr. H. Ahmad Choirun Ulum ,SH, & Hj. Masruati yang telah memberikan doa, kasih sayang serta dukungan yang luar biasa selama penulis menjalani pendidikan.
6. dr. Andi Muhammad Late Reza yang selalu memberikan semangat dan pengertiannya untuk menyelesaikan tesis ini.
7. Teman Seperjuangan Prodi Ilmu Biomedik Konsentrasi Aging and Regenerative Medicine dr. Irene Hongdyanto atas kerjasama dan kebersamaannya selama menempuh pendidikan semoga kelak kita bisa bertemu kembali dengan kabar kesuksesan masing-masing.
8. Para staff Laboran di laboratorium terpadu Fakultas Kedokteran Hewan UNHAS dan laboratorium HUMRC RSP UNHAS yang telah memberikan bantuan dan kerjasamanya selama penelitian.
9. Bapak dan Ibu staff akademik Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin yang dengan sabar memberikan pelayanan berkaitan dengan pelaksanaan seminar, ujian, dan administrasi lainnya.
10. Banyak pihak yang telah membantu penyelesaian pendidikan pascasarjana dan penerbitan tesis ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu. Dengan ketulusan hati, saya sampaikan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya. Semoga Allah SWT membalas semua kebaikan Bapak,Ibu, Saudara dan Saudari dengan pahala yang berlipat ganda. Amin.

Penulis menyadari tentunya terdapat kekurangan dan keterbatasan selama penelitian dan penyusunan tesis ini, oleh karena itu dengan segala kerendahan hati menyampaikan maaf sebesar-besarnya. Kiranya hasil penelitian ini dapat memberikan manfaat bagi kepentingan ilmu pengetahuan dan aplikasi kepada masyarakat.

Makassar, 15 Januari 2024

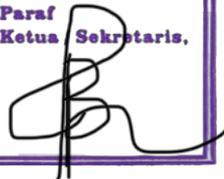
Wedari Gusti Anggraeni

## ABSTRAK

**WEDARI GUSTI ANGGRAENI.** *Pengaruh Intermitten Fasting Terhadap Berat Badan dan Kadar Malondialdehyde (MDA) Pada Tikus Yang diinduksi dengan High Fat Diet (HFD).* (dibimbing oleh **Agussalim Bukhari** dan **Husni Cangara**)

Kelebihan berat badan merupakan salah satu masalah kesehatan terbesar di dunia. dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan sindrom metabolik. Intermitten Fasting merupakan salah satu metode diet dengan pembatasan kalori yang dapat mempengaruhi berbagai fungsi tubuh, termasuk berat badan dan kadar MDA. Tujuan: Untuk mengetahui pengaruh Intermitten Fasting terhadap berat badan dan kadar Malondialdehyde (MDA) pada tikus yang diinduksi High Fat Diet (HFD). Metode: Penelitian ini adalah studi eksperimental pretest dan post-test group design. Subjek penelitian dibagi atas tiga Perlakuan A kontrol pakan biasa, perlakuan B diinduksi HFD, perlakuan C HFD+IF selama 16 jam. Serum diambil setelah HFD dan setelah IF kemudian Kadar MDA diperiksa menggunakan metode (ELISA), uji statistik yang digunakan paired t test dan uji Pearson. Hasil: terjadi peningkatan signifikan perubahan berat badan HFD kelompok A (Kontrol) p (0,043), kelompok B (HFD) p (0,004). tidak terdapat perbedaan signifikan pada HFD+IF. hasil uji kadar MDA pre- test dan post-test terdapat perbedaan signifikan, kelompok B (HFD) p (0,017) , kelompok C (HFD+IF) p (0,039). Uji korelasi Pearson perubahan berat badan dan kadar MDA Pre-Test dan Post-Test, terdapat korelasi signifikan pada Kelompok C (HFD+IF) 0,926 (p=0,008). kesimpulan, penelitian ini menunjukkan intermitten fasting secara signifikan menurunkan berat badan dan kadar MDA, dan terdapat korelasi antara perubahan berat badan dan kadar MDA.

**Kata Kunci :** *Berat Badan, Malondialdehyde (MDA), High Fat Diet, Intermittent Fasting*

	
<b>Abstrak ini telah diperiksa.</b>	<b>Paraf</b> <b>Ketua / Sekretaris,</b>
<b>Tanggal :</b> _____	

## ABSTRACT

**WEDARI GUSTI ANGGRAENI.** *The Effect of Intermittent Fasting on Body Weight and Malondialdehyde (MDA) Levels in Rats Induced with a High Fat Diet (HFD).* (supervised by **Agussalim Bukhari** and **Husni Cangara**)

Being overweight is one of the biggest health problems in the world. over a long period of time can cause metabolic syndrome. *Intermittent Fasting* is a diet method with calorie restriction that can affect various body functions, including body weight and *MDA* levels. Purpose: To know the effect of Intermittent Fasting on body weight and *Malondialdehyde (MDA)* levels in rats induced by a *High Fat Diet (HFD)*. Method: This research is an experimental study *pre-test* and *post-test* group design. Research subjects were divided into three treatments A, control with regular feed, treatment B, induced by HFD, and treatment C, HFD+IF for 16 hours. Serum was taken after HFD and after IF then *MDA* levels examined using the method (*ELISA*), statistical tests used *paired t test* and *Pearson test*. Results: there was a significant increase HFD weight change group A (Control)  $p$  (0.043), group B (HFD)  $p$  (0.004). there was no significant difference in HFD+IF. test results There were significant differences in *pre-test* and *post-test MDA* levels, group B (HFD)  $p$  (0.017), group C (HFD+IF)  $p$  (0.039). *Pearson correlation test* for changes in body weight and *MDA* levels *Pre-Test* and *Post-Test*, there is a significant correlation in Group C (HFD+IF) 0.926 ( $p=0.008$ ). In conclusion, this study shows that intermittent fasting significantly reduces body weight and *MDA* levels, and there is a correlation between changes in body weight and *MDA* levels.

**Keywords :** *Body Weight, Malondialdehyde (MDA), High Fat Diet, Intermittent Fasting*

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

## DAFTAR ISI

SAMPUL.....	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN.....	iv
KATA PENGANTAR.....	vi
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1 Tujuan Umum.....	6
1.3.2 Tujuan Khusus.....	6
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Penuaan.....	7
2.2 Obesitas.....	8
2.3 Radikal Bebas.....	15
2.3.1 Definisi Radikal Bebas.....	15
2.3.2 Mekanisme Pembentukan Radikal Bebas.....	16
2.3.3 Etiologi Radikal Bebas.....	16
2.3.4 Jenis – jenis Radikal Bebas.....	17
2.3.5 Radikal Bebas & Stress Oksidatif.....	18
2.4 <i>Malondialdehyde</i> .....	21
2.4.1 Definisi MDA.....	21
2.4.2 Mekanisme Pembentukan MDA.....	21
2.4.3 Pengukuran Kadar MDA.....	23

2.5 <i>Intermittent Fasting</i> .....	26
2.6 <i>High Fat Diet</i> .....	29
2.7 Kerangka Teori.....	32
2.8 Kerangka Konsep.....	33
2.9 Hipotesis.....	34
BAB III METODE PENELITIAN.....	34
3.1 Rancangan Penelitian.....	34
3.2 Waktu dan Lokasi Penelitian.....	34
3.3 Materi Penelitian.....	34
3.4 Populasi.....	36
3.5 Sample .....	36
3.6 Kriteria Inklusi, Eksklusi, & Drop Out	37
3.6.1 Kriteria Inklusi.....	37
3.6.2 Kriteria Eksklusi.....	37
3.6.3 Drop Out .....	38
3.7 Definisi Operasional.....	38
3.8 Variable Penelitian.....	40
3.9 Prosedur Penelitian	41
3.9.1 Persiapan Pakan Tinggi Lemak.....	41
3.9.2 Persiapan Intermitten Fasting.....	41
3.9.3 Persiapan Hewan Coba .....	41
3.10 Analisis Data.....	43
3.11 Etika Penelitian.....	44
3.12 Alur Penelitian.....	45
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	46
4.1 Hasil Penelitian.....	47
4.2 Pembahasan.....	58
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	65
A. Kesimpulan.....	65
B. Saran .....	65
DAFTAR PUSTAKA.....	66
LAMPIRAN.....	70

## DAFTAR GAMBAR

	Hal
Gambar 1 Kerangka Teori-----	30
Gambar 2 Kerangka Konsep-----	31
Gambar4.1 Grafik Perubahan Berat Badan pada Tikus Kelompok Kelompok Pertahankan HFD selama 8 minggu -----	48
Gambar4.2 Grafik Perubahan Berat Badan Pada Tikus Kelompok kelompok HFD+ Intermittent Fasting Selama 8-12 Minggu-----	50
Gambar 4.3 Grafik Perbedaan Perubahan Kadar MDA Pada Pre Test Dan Post Test -----	55

## DAFTAR TABEL

	Hal
Tabel 2.1 Jenis-jenis Reactive Oxygen Species (ROS) -----	17
Tabel 4.1 Berat Badan Pada Tikus Kelompok Intervensi HFD Selama 8 Minggu-----	47
Tabel 4.2 Berat Badan Pada Tikus Kelompok Intervensi HFD + Intermittent Fasting selama 8 – 12 minggu -----	49
Tabel 4.3 Uji Statistik Perubahan Berat Badan Pada Tikus Kelompok Intervensi selama 12 minggu-----	51
Tabel 4.4 Uji Statistik perbedaanPerubahan Berat Badan Pada Tikus minggu ke-1 , ke-8 dan ke-12 Minggu untuk setiap Perlakuan -----	52
Tabel 4.5 Kadar Malondialdehyde (MDA) Tikus pada Pre-Test dan Post-Test -----	53
Tabel 4.6 Uji Statistik Perbedaan Perubahan Kadar MDA pada Pre-Test dan Post-Test -----	54
Tabel 4.7 Uji Statistik Selisih Perubahan Kadar MDA pada Pre-Test dan Post-Test Antar Kelompok Perlakuan--	56
Tabel 4.8 Korelasi Perubahan Berat Badan dan Kadar MDA-----	57

## DAFTAR SINGKATAN

PTL	: Pakan Tinggi Lemak
HFD	: <i>High Fat Diet</i>
MDA	: Malondialdehyde
IF	: Intermittent Fasting
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DMT2	: Diabetes Melitus Tipe 2
NAFLD	: <i>Non-Alcoholic Fatty Liver Disease</i>
FFA	: <i>Free Fatty Acid</i>
VAT	: <i>Viseral Adiposa Tissue</i>
TNF- $\alpha$	: <i>Tumor Necrosis Factor-<math>\alpha</math></i>
NF- $\kappa$ B	: <i>Nuclear Factor Kappa-Light-Chain-Enhancer of Activated B Cells</i>
IL-6	: Interleukin 6
TGF $\beta$	: <i>transforming growth factor-beta</i>
PAI-1	: <i>plasminogen activator inhibitor type-1</i>
TF	: <i>tissue factor</i>
PGF2a	: <i>prostaglandin F-2 alpha</i>
IGF-1	: <i>insulin like factor- 1</i>
MIF	: macrophage inhibitory factor
NO	: <i>Nitric Oxide</i>
hsCRP	: <i>high sensitivity C-Reactive Protein</i>
CRP	: C-Reactive Protein
LPL	: <i>Lipoprotein-Lipase</i>
VLDL	: <i>Very-Low-Density Lipoprotein</i>
AMPK	: <i>AMP-Activated Protein Kinase</i>
SREBP-1	: <i>Sterol Regulatoty Element Binding Frotein</i>
CETP	: <i>Cholesterol Ester Transfer Protein</i>
HPLC	: High Performance Liqiud Chromatography

FOXO	: Forkhead O
CE	: <i>Cholesterol Ester</i>
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	: <i>Anion Superoksida</i>
OH	: <i>Radikal Hidroksil</i>
LO <sub>2</sub>	: <i>Radikal Peroksil</i>
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: <i>Hydrogen Peroksida</i>
NO	: <i>Nitrogen Oksida</i>
ONOO <sup>-</sup>	: <i>Peroksinitrit</i>
HOCl	: <i>Asam Hipoklor</i>
ELISA	: <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
BMI	: <i>Body Mass Index</i>

# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Proses penuaan merupakan suatu mekanisme fisiologis yang kompleks. Berbagai teori tentang proses penuaan 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).

Teori radikal bebas belakangan ini lebih banyak dianut dan dipercaya secara luas sebagai teori yang dapat menjelaskan proses penuaan. 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; Ii'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 penuaan (Brian, Weinert, & Timiras, 2003; Yoshikawa & Naito, 2002).

Proses ini menyebabkan terjadinya perubahan struktural dan fungsi semua sistem secara alamiah dan bertahap yang menyebabkan penurunan, peningkatan mortalitas dan morbiditas. 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 akan tetap masuk kedalam tubuh, Bahkan semakin lanjut usia seseorang semakin banyak radikal bebas yang terbentuk sehingga kerusakan terus terjadi. Antioksidan endogen ini juga mengalami penurunan seiring dengan penambahan usia (Mao et al, 2019; Winarsi, 2007; Yoshikawa & Naito, 2002)

Pola konsumsi makanan berlemak yang berlebih juga akan makin menambah risiko terjadinya berbagai gangguan metabolisme di dalam tubuh seperti timbulnya hiperfagia, penurunan lipolisis, penurunan sekresi

dan sensitivitas leptin serta timbulnya resistensi insulin. Lemak yang terus terakumulasi di dalam tubuh akan merangsang jaringan adiposa untuk mensintesis dan melepas adipositokin, proses ini kemudian diikuti dengan peningkatan mediator-mediator inflamasi. 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.

Peroksidasi lipid mengalami dekomposisi membentuk beberapa produk termasuk *malondialdehyde (MDA)*. Konsentrasi *Malondialdehyde (MDA)* yang tinggi menunjukkan terjadinya proses oksidasi membran sel (Mao et al, 2019; Winarsi, 2007; Singh et al, 2014).

*Intermittent Fasting* adalah diet dengan bentuk pembatasan waktu dan kalori dalam makanan yang berfungsi untuk menurunkan berat badan. Beberapa studi membuktikan penelitian diet intermitten fasting didapatkan hasil pengurangan massa lemak secara statistik.

Metode intervensi diet yang bisa dilakukan sangat beragam, salah satunya yaitu *Intermittent Fasting* (Diet Puasa Intermiten). Saat ini, metode diet *Intermittent Fasting* dikenal sebagai metode alternatif untuk menurunkan kerusakan oksidatif karena memiliki waktu yang relatif lebih singkat, memiliki tingkat kepatuhan lebih baik dan perubahan biologis yang dihasilkan sama dengan metode restriksi kalori.

Penelitian yang dilakukan oleh Ruth E. Patterson dan Dorothy D. Sear dari *University of California* dengan judul penelitian *Metabolic Effects*

*of Intermittent Fasting* pada tahun 2017 menyebutkan bahwa *Intermittent Fasting* pada tikus terbukti bisa mengurangi total kolesterol dalam darah dan menurunkan konsentrasi trigliserida didalam darah. Serta, berdasarkan penelitian oleh Ayudia EI, Agustina A, Harahap H, Septadina IS tentang Pengaruh *Intermittent Fasting* terhadap kadar trigliserida pada tikus putih sprague dawley pada tahun 2021 mendapatkan hasil yang signifikan terhadap penurunan kadar trigliserida dalam darah.

Ketika berpuasa, akan terjadi lipolisis pada jaringan adiposa yang menghasilkan asam lemak. Pada saat puasa, terjadi restriksi kalori yang ekstrim sehingga terjadi ketogenesis yang memicu pemecahan lemak (18). Mekanisme inilah yang menyebabkan terjadinya penurunan berat badan.

Berdasarkan uraian dan penjelasan di atas bahwa telah dilakukan penelitian pada tikus yang diberikan perlakuan berupa *intermittent fasting* sehingga mendorong peneliti untuk melakukan penelitian yang lebih dalam dengan melakukan pengukuran Berat Badan dan kadar *Malondialdehyde (MDA)* sebelum dan setelah perlakuan *High Fat Diet dan Intermittent Fasting* pada tikus obesitas. Pemilihan 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 *intermittent fasting* terhadap berat badan dan kadar *malondialdehyde (MDA)* pada tikus usia dewasa yang diinduksi dengan *High Fat Diet (HFD)*.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Bagaimana pengaruh *Intermittent Fasting* terhadap Berat Badan dan kadar *Malondialdehyde (MDA)* pada tikus yang diinduksi *High Fat Diet (HFD)* ?

## **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 *Intermittent Fasting* terhadap Berat Badan dan kadar *Malondialdehyde (MDA)* pada tikus yang diinduksi *High Fat Diet (HFD)*.

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

1. Untuk mengetahui pengaruh *Intermittent Fasting* terhadap Berat Badan pada tikus yang di induksi *High Fat Diet (HFD)*.
2. Untuk mengetahui pengaruh *Intermittent Fasting* terhadap kadar *Malondialdehyde (MDA)* pada tikus obesitas yang diinduksi *High Fat Diet (HFD)*.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh *Intermittent Fasting* terhadap kadar *Malondialdehyde (MDA)* pada tikus yang diinduksi *High Fat Diet (HFD)* sebagai salah satu biomarker radikal bebas dalam proses penuaan.
2. Bagi masyarakat menambah pengetahuan dan informasi kepada masyarakat tentang manfaat *Intermittent Fasting*.

## **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 ber sel 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 Obesitas**

Obesitas adalah salah satu penyakit metabolik yang paling umum di negara berkembang dan maju karena prevalensi gaya hidup dan makanan cepat saji yang mengandung kadar lemak dan glukosa yang tinggi. Obesitas pada manusia berkorelasi dengan banyak penyakit kronis seperti hiperlipidemia, hiperglikemia, diabetes, peradangan tingkat rendah, penyakit arteri koroner hipertensi, sindrom metabolik dll. Oleh karena itu, perlu dipelajari bagaimana perkembangan obesitas dan mengurangi gejala yang terkait. (Lu, J. Bi, Y. dan Ning, G. 2016. Vandevijvere, S., Chow, CC, Hall, KD, Umali, E. and Swinburn, BA Zuo)

Pada keadaan obesitas bisa memicu timbulnya keadaan stres oksidatif karena ketidakseimbangan prooksidan dan antioksidan di dalam tubuh. Pada obesitas

terjadi lipogenesis yang berlebihan dan penghambatan lipolisis. Lipogenesis dirangsang oleh diet tinggi karbohidrat. *Sterol Regulatory Element Binding Protein* (= *SREBP-1*) adalah mediator penting pada kerja pro-lipogenik atau anti-lipogenik beberapa hormon dan nutrisi. Faktor transkripsi lain yang berhubungan dengan lipogenesis adalah *peroxisome proliferator activated receptor- $\gamma$* . (Spiegelman BM, Flier IS. Elsevier 2006)

Lipogenesis harus dibedakan dengan adipogenesis yang merupakan proses diferensiasi pra-adiposit menjadi sel lemak dewasa. Lipogenesis adalah proses deposisi lemak dan meliputi proses sintesis asam lemak dan kemudian sintesis trigliserida yang terjadi di hati pada daerah sitoplasma dari mitokondria dan jaringan adiposa. Energi yang berasal dari lemak dan melebihi kebutuhan tubuh akan disimpan dalam jaringan lemak. Demikian pula dengan energi yang berasal dari karbohidrat dan protein yang berasal dari Jaringan lemak. (Spiegelman BM, Flier IS. Elsevier 2006, Rismawati I, Usmar, Pakki E, Haryono K 2012)

Asam lemak dalam bentuk trigliserida dan asam lemak yang terkait pada albumin didapat dari asupan makanan atau hasil sintesis lemak di hati. Trigliserida yang dibentuk dari kilomikron atau lipoprotein akan dihidrolisis menjadi gliserol dan asam lemak bebas oleh *enzim lipoprotein lipase (LPL)* yang dibentuk oleh adiposit dan disekresi ke dalam sel endotelial yang berdekatan dengannya (adjacent). Aktivasi LPL dilakukan oleh apoprotein C-II yang dikandung oleh kilomikron dan lipoprotein (VLDL). Kemudian asam lemak bebas akan diambil oleh sel adiposit sesuai dengan deralat konsentrasinya oleh suatu protein transpor transmembran. Bila asam lemak bebas sudah masuk ke dalam adiposit maka akan membentuk *pool* asam lemak. (Rismawati I, Usmar, Pakki E, Haryono K 2012)

Lemak visceral memiliki reseptor glukokortikoid dan androgen lebih banyak, metabolisme yang lebih aktif, lebih sensitif terhadap lipolisis dan lebih resisten insulin. *Viseral Adipose Tissue (VAT)* memiliki kapasitas lebih besar menghasilkan *Free Fatty Acid (FFA)*, meningkatkan glukosa dan lebih sensitif terhadap stimulasi adrenergik. (Alrasyid H, 2007)

Insulin mungkin merupakan faktor hormonal terpenting yang mempengaruhi lipogenesis. Insulin menstimulasi lipogenesis dengan cara

meningkatkan pengambilan glukosa di jaringan adiposa melalui transporter glukosa menuju membran plasma. Insulin juga mengaktivasi enzim lipogenik dan glikolitik melalui modifikasi kovalen. Efek tersebut dicapai dengan mengikat insulin pada reseptor insulin di permukaan sel sehingga mengaktivasi kerja tirosin kinasenya dan meningkatkan efek downstream melalui fosforilasi tirosin. Insulin juga mempunyai efek jangka panjang pada gen lipogenik, mungkin melalui faktor transkripsi SREBP-1. Selain itu, insulin menyebabkan SREBP-1 meningkatkan ekspresi dan kerja enzim glitkokinase, dan sebagai akibatnya meningkatkan konsentrasi metabolit glukosa yang dianggap menjadi perantara dari efek glukosa pada ekspresi gen lipogenik. (Meigs JH, Mittleman MA, Nathan DM, Tofler GH, Singer DE, Murphy-Sheehy PM, et al. JAMA. 2000).

Resistensi insulin pada obesitas sentral diduga merupakan penyebab sindrom metabolik. Insulin mempunyai peran penting karena berpengaruh baik pada penyimpanan lemak maupun sintesis lemak dalam jaringan adiposa. Resistensi insulin dapat menyebabkan terganggunya proses penyimpanan lemak maupun sintesis lemak. Hubungan sebab-akibat (kausatif) antara resistensi insulin dan penyakit jantung koroner dan stroke dapat diterangkan dengan adanya efek anabolik insulin. Insulin merangsang lipogenesis pada jaringan arterial dan jaringan adiposa melalui produksi acetyl-COA meningkatkan asupan trigliserida dan glukosa. (Abe J, Berk BC, 2004).

Dislipidemia yang ditandai dengan peningkatan konsentrasi trigliserida dan penurunan kolesterol HDL merupakan akibat dari pengaruh insulin terhadap *Cholesterol Ester Transfer Protein (CETP)* yang memperlancar transfer *Cholesterol Ester (CE)* dari HDL ke VLDL (trigliserida) dan mengakibatkan terjadinya Katabolisme dan apoA, komponen protein HDL. (Susantiningih T. 2012.)

Obesitas dapat meningkatkan lipogenesis, peningkatan jumlah insulin, menurunkan sensitivitas insulin sehingga terjadi resistensi insulin, akumulasi trigliserida, serta meningkatkan apoptosis adiposit. Obesitas akhirnya meningkatkan pelepasan ROS dan akan menyebabkan suatu kondisi yang disebut

dengan stres oksidatif. (Abe J, Berk BC 2004, Isnaini, Sartono A, Winaryati E 2012).

Sindrom metabolik merupakan satu kelompok kelainan metabolik yang, selain obesitas, meliputi, resistensi insulin, gangguan toleransi glukosa, abnormalitas trigliserida disfungsi endotel dan hipertensi yang Kesemuanya secara sendiri-sendiri atau bersama-sama merupakan faktor risiko utama untuk terjadinya aterosklerosis dengan manifestasi penyakit jantung koroner atau stroke. (Isnaini, Sartono A, Winaryati E 2012).

Obesitas erat kaitannya dengan stres oksidatif, dikarenakan adanya peranan CAMP dalam pengaturan keseimbangan energi pada obesitas. Jaringan adiposa selain berperan sebagai tempat penyimpanan energi juga berfungsi sebagai organ endokrin. Hal ini terbukti dengan ditemukannya struktur protein spesifik yang disekresikan oleh adiposit ke sirkulasi darah. Beberapa substansi seperti *leptin*, *adiposin*, *tumor necrosis factor-alfa (TNF $\alpha$ )*, *transforming growth factor-beta (TGF $\beta$ )*, *interleukin-6 (IL-6)*, *angiotensinogen*, *apolipoprotein-E*, *plasminogen activator inhibitor type-1 (PAI-1)*, *tissue factor (TF)*, *adiponectin*, *peroxisome proliferators activated receptor gamma (PPAR- $\gamma$ )*, *resistin*, *metallothionein*, *prostaglandin F-2 alpha (PGF2 $\alpha$ )*, *insulin like factor- 1 (IGF-1)*, *macrophage inhibitory factor (MIF)*, *nitric oxide (NO)* serta beberapa senyawa bioaktif lain diketahui berasal dari jaringan adiposa, khususnya pada visera abdomen. Masing-masing senyawa bertanggung jawab terhadap patofisiologi stres oksidatif serta sindrom metabolik dan kelainan kardiovaskular. ( Alrasyid H. ; 2009 Cooper GM, Press; 2003. Spiegelman BM, Flier IS. Elsevier 2006 )

Pada keadaan obesitas juga terjadi proses inflamasi, Penanda inflamasi yang dianggap terbaik saat ini adalah *high sensitivity C-Reactive Protein (hsCRP)* karena disintesis di hati di bawah kontrol IL-6 sitokin adiposa sebagai respon terhadap berbagai rangsangan inflamasi baik inflamasi akut (infeksi) maupun inflamasi kronik (pembentukan plak aterosklerosis). Pengukuran hsCRP merupakan prediktor terbaik untuk mengetahui risiko penyakit Kardiovaskuler Karena dapat memprediksi kejadian thromboembolic akibat aterosklerosis. (Isnaini, Sartono A, Winaryati E.2012)

Signifikan antara keadaan obesitas dengan proses terjadinya stres oksidatif yang dapat dilihat dari beberapa marker yang menggambarkan kecenderungan adanya ketidakseimbangan antara prooksidan dan antioksidan di dalam tubuh akibat adanya proses inflamasi pada kondisi obesitas.

Hewan percobaan adalah pengganti yang cocok bagi manusia untuk mempelajari obesitas dan biomarker terkaitnya. Di antara banyak hewan yang digunakan, tikus banyak digunakan untuk mengembangkan obesitas karena beberapa keunggulan. Tikus percobaan relatif murah dan tersedia secara komersial untuk sebagian besar laboratorium<sup>5</sup>. juga, pertumbuhan tikus lebih cepat dan mengkonsumsi lebih sedikit pakan daripada kebanyakan hewan percobaan seperti ayam, kelinci dan babi dll.

Sebagian besar masyarakat, tikus dianggap sebagai hama dan lebih sedikit menimbulkan kontroversi etnis daripada hewan lain seperti sapi atau monyet. Mencit pada galur yang berbeda menunjukkan karakteristik fenotipik yang jauh berbeda seperti laju pertumbuhan, kecenderungan obesitas, dan kemampuan mengatur glukosa darah dan lipid. Jadi, ketika mengembangkan model obesitas menggunakan tikus, perlu dipelajari bagaimana tikus dalam respon strain yang berbeda terhadap *High Fat Diet (HFD)*.

Strain tikus umumnya digunakan dalam studi obesitas yang diinduksi makanan dan gejalanya yang relevan seperti hiperlipidemia, hiperglikemia, diabetes, dan peradangan tingkat rendah. Banyak faktor yang dapat mempengaruhi perkembangan obesitas. di antaranya, strain tikus yang digunakan adalah salah satu faktor terpenting. Namun, sedikit informasi yang tersedia tentang kinerja galur tikus yang berbeda ketika digunakan untuk mengembangkan model obesitas. Ada lebih sedikit perbandingan dan diskusi tentang strain tikus ketika hasilnya dianalisis. Selain itu, bahkan menggunakan strain tikus yang sama untuk mengembangkan model obesitas, perbedaan dalam biomarker obesitas utama biasanya dilaporkan dengan sedikit penjelasan.

Dalam penelitian ini tikus yang digunakan dibuat menjadi obesitas dengan pemberian *High Fat Diet (HFD)*, Biomarker utama yang dipantau yaitu kadar

*Malondialdehyde (MDA)*. Hasil penelitian ini bermanfaat untuk membangun tikus obesitas yang diinduksi makanan dan penelitian terkait.

Diet pakan tinggi lemak yang digunakan berasal dari 65 ml susu sapi dan 35 gr margarin. Formula pakan tinggi lemak dibuat dengan cara memanaskan margarin yang masih berupa padatan pada nyala api dengan suhu 45 ° Celcius. Margarin yang telah dipanaskan akan berubah bentuk menjadi cair kemudian dicampurkan dengan susu sapi dan diperoleh formula pakan tinggi lemak sebanyak 100 ml.

## **2.3 Radikal Bebas**

### **2.3.1 Definisi Radikal Bebas**

Radikal bebas merupakan suatu molekul, satu atom, atau beberapa atom yang mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbit luarnya sehingga bersifat sangat reaktif. Molekul bersifat stabil bila elektronnya berpasangan, tetapi bila tidak berpasangan (single) molekul tersebut menjadi tidak stabil dan memiliki potensi untuk merusak. Bila molekul tidak stabil ini mengambil satu elektron dari senyawa lain maka molekul tersebut menjadi stabil sedangkan molekul yang diambil elektronnya menjadi tidak stabil berubah menjadi radikal dan memicu reaksi pembentukan radikal bebas berikutnya (Danusantoso, 2003).

### **2.3.2 Mekanisme Pembentukan Radikal Bebas**

Secara umum menurut Winarsi 2011 tahapan reaksi pembentukan radikal bebas melalui tiga tahapan reaksi sebagai berikut :

- a. Tahapan inisiasi, yaitu tahapan reaksi pembentukan radikal bebas.
- b. Tahapan propagasi, yaitu pemanjangan rantai radikal.
- c. Tahapan terminasi, yaitu bereaksinya senyawa radikal dengan radikal lain atau dengan penangkapan radikal, sehingga potensi propagasinya rendah. (Setiawan & Suhartono, 2007).

### 2.3.3 Etiologi Radikal Bebas

Radikal bebas bersumber dari berbagai hal, antara lain: radiasi sinar X dan sinar ultraviolet, polusi udara akibat asap kendaraan bermotor, gas buang dari pabrik, atau asap roko. Beberapa kondisi juga bisa memicu terbentuknya radikal bebas didalam tubuh misalnya stress, sakit, olah raga berlebihan dan lain-lain. Radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan pada sel karena dapat menimbulkan kerusakan pada protein (aktivitas enzim terganggu) dan asam nukleat (kerusakan DNA, mutasi sel). Sebagai akibatnya pertumbuhan dan perkembangan sel menjadi tidak wajar, bahkan dapat menyebabkan kematian sel. Radikal dalam tubuh berasal dari dalam (endogen) atau dari luar tubuh (eksogen). Secara endogen, radikal bebas terbentuk sebagai respon normal dari rantai peristiwa biokimia dalam tubuh. Secara alamiah radikal bebas dibentuk dalam tubuh makhluk hidup termasuk manusia, binatang dan tumbuhan. Dalam kondisi normal jumlah radikal tersebut berada dalam keseimbangan atau terkendali. Sumber radikal bebas endogen tersebut berasal dari proses otooksidasi, oksidasi enzimatik, respiratory burst, reaksi yang dikatalisis ion logam transisi, dan *ischemia reperfusion injury* (simanjuntak,2012).

### 2.3.4 Jenis Radikal Bebas

Berbagai jenis *Reactive Oxygen Species (ROS)* dalam tubuh diperlihatkan pada tabel 2.1 dari tabel tersebut terlihat bahwa diantara berbagai ROS terdapat molekul yang bukan radikal bebas, yaitu O<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, namun karena sifatnya yang sangat reaktif maka dimasukkan ke dalam kelompok ini :

**Tabel.2.1 Jenis-jenis *Reactive Oxygen Species (ROS)***

ROS	Keterangan
Anion superoksida O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Tidak terlalu merusak, tetapi dapat membentuk hidrogen peroksida yang merupakan reduktan logam transisi dalam pembentukan radikal hidroksil
Radikal hidroksil OH	Radikal pengoksidasi yang sangat reaktif dan dapat bereaksi dengan hampir seluruh biomolekul
Radikal peroksil LO <sub>2</sub>	Dihasilkan antara lain pada proses peroksidasi lipid
Hydrogen peroksida H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrogen peroksida bukan radikal bebas tetapi dikategorikan sebagai ROS. Molekul ini merupakan sumber radikal hidroksil dalam kondisi jenuh ion logam transisi, juga terlibat dalam pembentukan HOCl
Oksigen singlet O <sub>2</sub>	Meskipun bukan radikal bebas, tetapi merupakan pengoksidasi yang kuat
Nitrogen oksida NO	Radikal bebas dalam bentuk gas
Peroksinitrit ONOO <sup>-</sup>	Terbentuk dari reaksi NO dengan O <sub>2</sub>
Asam hipoklor HOCl	Dihasilkan oleh netrofil pada proses inflamasi terbentuk dari H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> dan Cl <sup>-</sup> yang dikatalisis oleh mieloperoksidase

(Simanjuntak, 2012)

### 2.3.5 Radikal Bebas dan Stress Oksidatif

Radikal bebas merupakan suatu bahan kimia berkelompok yang terdiri dari atom dan molekul yang memiliki lebih dari satu electron tidak berpasangan. Tubuh manusia memiliki sistem untuk menurunkan kadar radikal bebas namun jika jumlahnya berlebihan maka tubuh akan lebih sulit untuk mengatasinya. Sistem yang dimaksud disini adalah seluruh sel dalam jaringan tubuh dengan bantuan beberapa enzim khusus dapat menurunkan kadar radikal bebas, namun seiring meningkatnya usia, sistem 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 oksidatif 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 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).

## **2.4 Malondialdehyde (MDA)**

### **2.4.1 Definisi Malondialdehyde (MDA)**

*Malondialdehyde* adalah senyawa dialdehida yang merupakan produk akhir peroksidasi lemak tak jenuh dalam tubuh oleh radikal bebas. Tingginya kadar MDA dalam plasma, merupakan ukuran dimana terjadi peningkatan radikal bebas dan penurunan antioksidan dalam tubuh. MDA bersifat toksin terhadap sel dan dapat menimbulkan perubahan pada DNA bahkan sampai oksidasi lesi mutagenik (Arkhaesi, 2008 ).

### **2.4.2 Mekanisme Pembentukan Malondialdehyde (MDA)**

Produksi dan metabolisme MDA dapat dijelaskan sebagai berikut, radikal bebas oksigen (O<sub>2</sub>) diproduksi melalui proses enzimatik dan non enzimatik. Sel-sel

tubuh yang dapat membentuk radikal bebas oksigen dan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> adalah sel polimorfonuklir, monosit dan makrofag. Radikal bebas yang terbentuk akan bereaksi dengan SOD dan ion Cu<sup>2+</sup> menjadi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ini banyak diproduksi di mitokondria dan mikrosom. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ini dapat menembus membran sel sedangkan superoksida anion (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) tidak. Hidrogen peroksida ini merupakan oksidan yang kuat oleh karena dapat bereaksi dengan berbagai senyawa. Sebagai sistem pertahanan tubuh, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oleh katalase dapat diubah menjadi H<sub>2</sub>O dan O<sub>2</sub>. Selain itu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oleh enzim glutathion peroksidase diubah pula menjadi H<sub>2</sub>O. pada stress oksidatif, radikal bebas oksigen dan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yang terbentuk akan berlebihan, sehingga sistem proteksi tubuh seperti enzim katalase dan glutathion peroksidase tidak dapat lagi menetralkan semua radikal bebas oksigen yang terbentuk. Selanjutnya jika H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bereaksi dengan Fe<sup>2+</sup> dan Cu<sup>2+</sup> maka terbentuklah radikal bebas hidroksil melalui reaksi fenton dan Haber-Weiss. Radikal hidroksil adalah spesies yang sangat reaktif. Membran sel terdiri dari banyak komponen penting yaitu fosfolipid, glikolipid, (keduanya mengandung asam lemak tak jenuh) dan kolesterol. Asam lemak tak jenuh ini sangat peka terhadap radikal hidroksil (irawan, 2015).

Kemampuan radikal hidroksil ini akan membentuk reaksi rantai dengan satu atom hidrogen dari membran sel dan terbentuk peroksidasi lipid. Kelanjutan dari reaksi ini adalah terputusnya rantai asam lemak menjadi senyawa aldehid yang memiliki daya perusak yang tinggi terhadap sel-sel tubuh antara lain malondialdehid, 4-hidroksinenal, etana dan pentana. Demikian pula dengan DNA dan protein juga mengalami kerusakan yang seringkali cukup hebat (irawan,2015).

### **2.4.3 Pengukuran Kadar Malondyaldehyde (MDA)**

Radikal bebas memiliki waktu paruh yang sangat pendek sehingga harus cepat dilakukan pengukuran dalam laboratorium. Pengukuran kadar MDA serum dapat dilakukan melalui beberapa cara, yaitu sebagai berikut :

#### **1. Tes Thiobarbituric acid-reactive substance (TBARS)**

Dasar pemeriksaan adalah reaksi spektrofotometrik sederhana, dimana satu molekul MDA akan terpecah menjadi 2 molekul 2-asam thiobarbiturat. Reaksi ini

berjalan pada pH 2-3. TBA akan memberikan warna pink-kromogen yang dapat diperiksa secara spektrofotometrik. Tes TBA selain mengukur kadar MDA yang terbentuk karena proses peroksidasi lipid juga mengukur produk aldehyd lainnya termasuk produk non-volatil yang terjadi akibat panas yang ditimbulkan pada asal pengukuran kadar Mda serum yang sebenarnya. Kadar MDA dapat diperiksa baik di plasma, jaringan maupun urin.

### **1.1 Pengukuran Reaksi TBA**

#### **a. Pengukuran reaksi TBA dengan metode kolorimetri**

Pengukuran reaksi TBA dengan metode kolorimetri dengan spektrofotometri merupakan kadar MDA yang paling sering dilakukan. Metode ini mudah dilakukan akan tetapi bersifat tidak spesifik oleh karena mengukur produk aldehyd lainnya

#### **b. Pengukuran reaksi TBA dengan metode fluoresens**

Metode ini memiliki keunggulan dibanding metode kolorimetri oleh karena tidak terganggu oleh beberapa substansi produk reaksi TBA yang larut air. Pemeriksaan dilakukan dengan metode spektrofotometri.

### **1.2 Pengukuran MDA-TBA dengan HPLC (High Performance Liquid Chromatography)**

Metode ini secara spesifik dapat mengukur kompleks MDA-TBA, sehingga pengukuran kadar MDA. Lebih akurat. Namun demikian metode ini membutuhkan kondisi asam dengan suhu tinggi sehingga tetap ada kemungkinan terbentuknya MDA yang bukan karena peroksidasi lipid.

### **1.3 Pengukuran kadar MDA serum bebas dengan metode HPLC (High Performance Liquid Chromatography)**

Merupakan metode pengukuran kadar MDA serum yang paling sensitif dan spesifik. MDA bukan produk yang spesifik dari proses peroksidasi lipid sehingga dapat menimbulkan positif palsu yang berakibat nilai duga positif yang rendah, da

telah dilaporkan dapat meningkatkan spesifisitas pada pemeriksaan kadar MDA serum (Arkhaesi, 2008).

## **2. Analisis MDA metode kolorimetri**

Analisis MDA merupakan analisis radikal bebas secara tidak langsung dan mudah dalam menentukan jumlah radikal bebas yang terbentuk. Analisis radikal bebas secara langsung sangat sulit dilakukan karena senyawa radikal sangat tidak stabil dan bersifat elektrofil serta reaksinya pun berlangsung sangat cepat. Pengukuran MDA dapat dilakukan dengan pereaksi thiobarbituric acid (TBA) dengan mekanisme reaksi penambahan nukleofilik membentuk senyawa MDA-TBA. Senyawa ini berwarna merah jambu yang dapat diukur intensitasnya dengan menggunakan spektrofotometer. Metode ini merupakan metode yang paling banyak digunakan untuk mengukur keberadaan radikal bebas dan peroksidasi lipid, mempunyai kepekaan yang cukup tinggi, mudah diaplikasikan untuk tergantung dengan metode yang digunakan, untuk kadar MDA dengan metode spektrofotometri nilai normalnya  $1,04 \pm 0,43$   $\mu\text{mol/l}$  (Irawan, 2015).

### **2.5 Intermittent Fasting**

*Intermittent Fasting* adalah diet dengan bentuk pembatasan waktu dan kalori dalam makanan yang berfungsi untuk menurunkan berat badan. Beberapa studi membuktikan penelitian diet intermitten fasting didapatkan hasil pengurangan massa lemak secara statistik.

Ketika berpuasa, akan terjadi lipolisis pada jaringan adiposa yang menghasilkan asam lemak. Pada saat puasa, terjadi restriksi kalori yang ekstrim sehingga terjadi ketogenesis yang memicu pemecahan lemak (18). Mekanisme inilah yang menyebabkan terjadinya penurunan berat badan. Hal serupa juga disebutkan oleh studi lain yang menyatakan bahwa dengan puasa akan menstimulasi lipolisis untuk memenuhi kebutuhan energi (19). Sesuai dengan uraian tersebut, asam lemak akan memicu ketogenesis untuk menghasilkan energi yang diperlukan oleh tubuh. Oleh karena itu, terjadi perubahan bahan bakar untuk menghasilkan energi yaitu dari glukosa menjadi asam lemak.

Penurunan sel lemak pada jaringan adiposa dapat menurunkan produk-produk *reactive oxygen species* (ROS) dengan menurunkan pelepasan mediator dan

sitokin yang memicu kerusakan oksidatif. Hal inilah yang dapat menyebabkan adanya penurunan MDA akibat puasa intermiten.

Penurunan sel lemak dapat ditandai dengan penurunan berat badan. Pada penelitian ini, terdapat penurunan berat badan antara sebelum dan setelah intervensi pada kelompok puasa ( $p < 0,05$ ), tetapi tidak ditemukan perbedaan bermakna penurunan berat badan antara kelompok puasa dengan kelompok kontrol ( $p > 0,05$ ). Hal ini mungkin dapat disebabkan oleh penambahan asupan makan subjek saat tidak berpuasa, tetapi dugaan penambahan asupan makan di luar waktu puasa tidak dapat dibuktikan karena subjek hanya mencatat asupan makan di hari puasa.

Hal ini menjadi keterbatasan dalam penelitian ini, Pada kelompok kontrol yang tidak menjalani puasa intermiten, terjadi penurunan asupan energi dan makronutrien setelah intervensi meskipun tidak bermakna secara statistik. Hal ini mungkin disebabkan oleh penerapan edukasi mengenai pedoman gizi seimbang pada kelompok kontrol yang dipaparkan sebelum intervensi dimulai. Kecenderungan penurunan asupan tersebut kemungkinan menjadi penyebab terjadinya penurunan kadar MDA pada kelompok kontrol. Meskipun demikian, faktor-faktor lain seperti aktivitas fisik, merokok serta paparan polusi perlu dipertimbangkan dan dianalisis lebih lanjut sebagai variabel perancu.

Mekanisme lain yang menjelaskan penurunan MDA pada puasa intermitent yaitu peningkatan faktor transkripsi *Forkhead O* (FOXO) yang meregulasi ekspresi antioksidan endogen sehingga terjadi penurunan radikal bebas. Selain itu, puasa intermiten juga meningkatkan mekanisme autofagi dalam sel, yaitu proses katabolik untuk mendaur ulang nutrisi yang penting sebagai sistem pertahanan tubuh terhadap kerusakan oksidatif sehingga mengembalikan fungsi normal organel dalam sel.

Saat puasa intermitent, tubuh menghasilkan badan keton (*acetoacetate*,  $\beta$ -*hydroxybutyrate*, dan *acetone*) yang dapat menekan produk *reactive oxygen species* (ROS) dengan meningkatkan fungsi glutathion peroksidase setelah intervensi yang terjadi pada kelompok puasa. Hal ini sesuai dengan literatur yang menyatakan bahwa puasa intermitent menstimulasi aktivasi mTOR, *foxo family*, dan mekanisme autofagi sehingga terjadi penurunan radikal bebas (21,22). Pada penelitian ini, tidak

dilakukan pengukuran antioksidan endogen maupun analisis molekuler ekspresi FOXO serta autofagi.

Dengan demikian, penelitian selanjutnya yang menilai perubahan antioksidan endogen dan analisis molekuler ekspresi FOXO maupun autofagi pada puasa intermiten diperlukan untuk mengetahui mekanisme penurunan kadar MDA tersebut.

Studi ini merupakan studi mengenai puasa intermitent yang hanya menilai efek puasa intermitent terhadap penanda stres oksidatif yaitu MDA pada tikus wistar (*Rattus Novergicus*) yang diinduksi dengan *high fat diet (HFD)* tanpa disertai pembatasan kalori. Dengan demikian, hasil penelitian ini menunjukkan secara langsung manfaat puasa intermittent untuk mengurangi radikal bebas pada obesitas.

## **2.6 Diet Tinggi Lemak (*High Fat Diet*)**

*High fat diet (HFD)* banyak digunakan sebagai model untuk menginduksi *Non Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD)*. HFD mengandung komposisi lemak yang berlebih (>40% kcal) dan diberikan secara ad libitum pada hewan coba dalam jangka waktu tertentu (Licholai et al, 2018).

Penelitian yang dilakukan Panchal dan Brown (2011) menyatakan bahwa terdapat beberapa jenis komposisi diet pada hewan coba yang dapat menyebabkan terjadinya obesitas, antara lain :

### **1. *High Fat Diet* (Diet Tinggi Lemak)**

Diet tinggi lemak telah banyak digunakan untuk penelitian model obesitas, dislipidemia dan resistensi insulin pada hewan pengerat. Pemberian diet tinggi lemak, akan terjadi peningkatan berat badan secara signifikan setidaknya 2 minggu setelah pemberian diet. Meskipun diet tinggi lemak menyebabkan sebagian besar gejala sindrom metabolik manusia pada hewan pengerat, hal itu tidak menyerupai diet yang menyebabkan sindrom metabolik dan komplikasi yang terkait pada manusia, karena diet manusia lebih kompleks daripada diet tinggi lemak.

## 2. *High Fructose Diet* (Diet Tinggi Fruktosa)

Fruktosa telah dilaporkan menyebabkan obesitas namun hal ini tidak dikonfirmasi karena dalam beberapa penelitian pemberian diet tinggi fruktosa menunjukkan hasil yang bervariasi. Pemberian diet tinggi fruktosa menyebabkan cedera tubulus ginjal, pengendapan kolagen di interstitium dan peningkatan infiltrasi makrofag bersamaan dengan proliferasi dan hiperplasia tubulus proksimal ginjal, serta resistensi leptin tanpa perubahan berat badan dan adiposit.

## 3. *High Sucrose Diet* (Diet Tinggi Sukrosa)

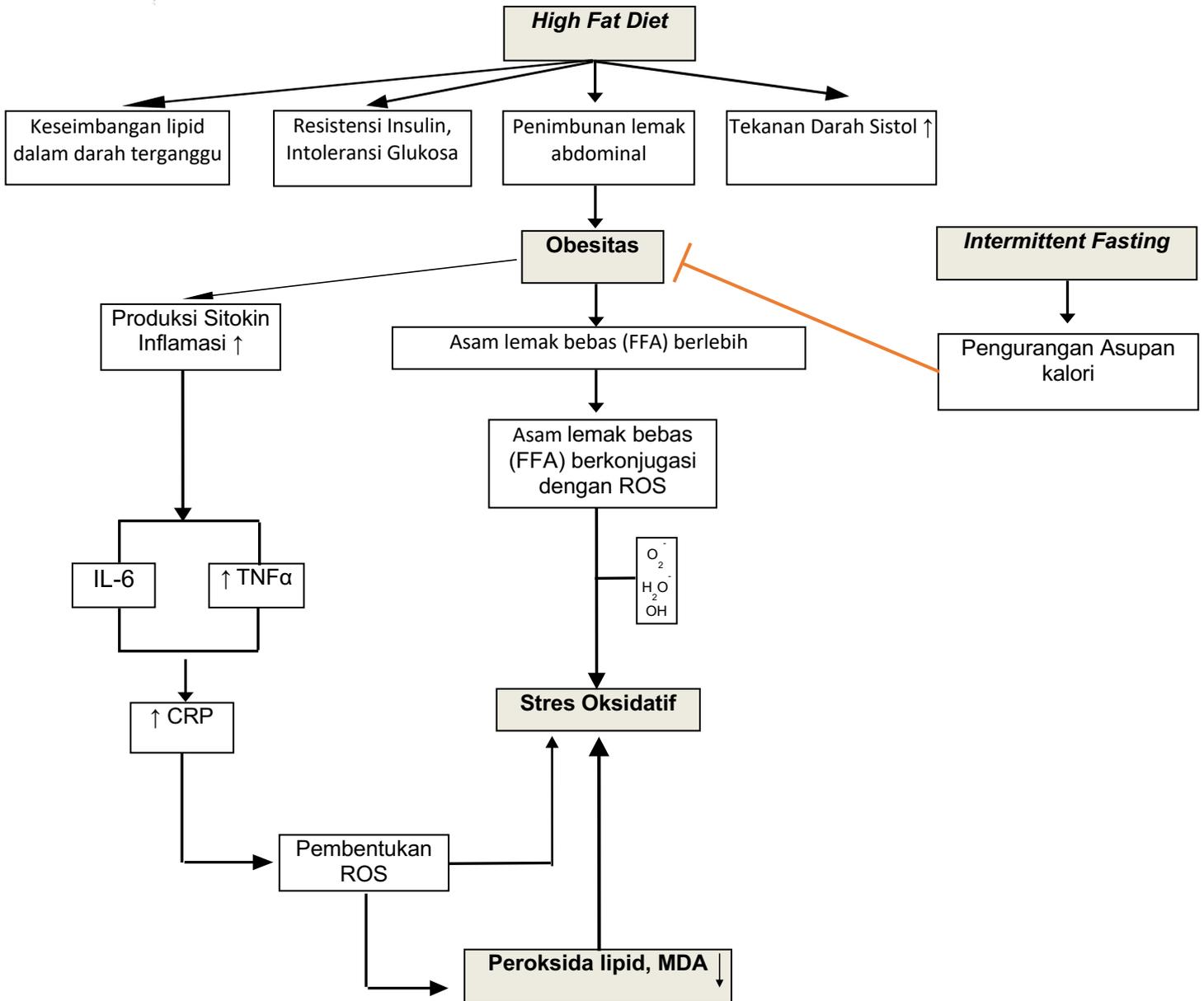
Mirip dengan fruktosa, pemberian diet tinggi sukrosa juga menunjukkan hasil yang bervariasi, khususnya pada kejadian obesitas.

## 4. *High Fat Carbohydrate Diet* (Diet Tinggi Lemak Tinggi Karbohidrat)

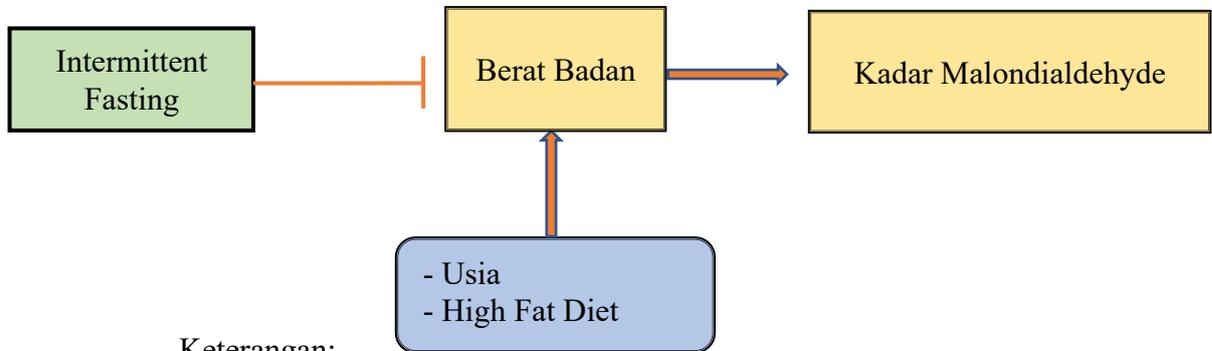
Diet tinggi karbohidrat dan tinggi lemak, baik yang sumbernya dari hewan maupun tumbuhan, lebih menyerupai pola diet manusia. Pemberian diet tinggi lemak dan tinggi fruktosa meningkatkan berat badan dan konsentrasi trigliserida, kolesterol, asam lemak bebas, dan leptin. Penelitian yang dilakukan oleh Rodrigues et al. (2014) pada hewan coba tikus menunjukkan bahwa penggantian sukrosa menjadi fruktosa dalam sekali makan sudah cukup untuk menyebabkan inflamasi di hati dan jaringan adiposa. Selain itu, satu jam setelah pemberian intervensi, kadar TNF- $\alpha$  pada tikus yang diberi fruktosa lebih tinggi daripada yang diberi sukrosa, dan terus meningkat setidaknya 4 jam setelah intervensi.

Karena pemberian diet tinggi lemak dan tinggi karbohidrat pada hewan pengerat menyebabkan terjadinya semua komplikasi metabolik sindrom pada manusia dan dietnya juga menyerupai diet manusia (biasanya disebut dengan "cafeteria diet"), diet ini yang sangat baik digunakan untuk mempelajari metabolik sindrom pada manusia.

## 2.7 Kerangka Teori



## 2.8 Kerangka Konsep



-  : Variabel bebas
-  : Variabel terikat
-  : Variabel Kontrol

## 2.9 Hipotesis

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

*“Intermittent Fasting Dapat menurunkan kadar Malondialdehyde (MDA) pada tikus obesitas yang diinduksi dengan High Fat Diet (HFD)”.*