

**EFEK *ALTERNATE DAY FASTING* TERHADAP
PENURUNAN BERAT BADAN DAN KADAR
ENDOTHELIN-1 (ET-1) RENAL PADA TIKUS
WISTAR JANTAN DENGAN OBESITAS**



**NURINAYAH
P062212028**

*Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Magister Kesehatan
Pada Program Studi Biomedik Konsentrasi Fisiologi*

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

**EFEK *ALTERNATE DAY FASTING* TERHADAP
PENURUNAN BERAT BADAN DAN KADAR
ENDOTHELIN-1 (ET-1) RENAL PADA TIKUS
WISTAR JANTAN DENGAN OBESITAS**

Tesis

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Ilmu Biomedik

Disusun dan diajukan oleh

**NURINAYAH
P062212028**

Kepada

**PROGRAM MAGISTER ILMU BIOMEDIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

TESIS

**EFEK ALTERNATE DAY FASTING TERHADAP PENURUNAN BERAT
BADAN DAN KADAR ENDOTELIN-1 (ET-1) RENAL PADA TIKUS WISTAR
JANTAN DENGAN OBESITAS**

NURINAYAH

P062212028

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Magister pada 14 Juni 2024 dan
dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

pada

Program Studi S2 Ilmu Biomedik
Fakultas Sekolah Pascasarjana
Universitas Hasanuddin
Makassar

Mengesahkan:

Pembimbing Utama,



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

Pembimbing Pendamping



dr. Andriany Qanitha., M.Sc., Ph.D
NIP. 198601252009122003

Ketua Program Studi S2
Ilmu Biomedik,



Prof. dr. Rahmawati, Ph.D., Sp.PD-KHOM., FINASIM
NIP. 19680218199932002

Dekan Sekolah Pascasarjana
Universitas Hasanuddin,



Prof. Dr. Budu, Ph.D. Sp. M(K) M.med
NIP. 196612311995031006

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "Efek *Alternate Day Fasting* Terhadap Penurunan Berat Badan Dan Kadar Endothelin-1 (Et-1) Renal Pada Tikus Wistar Jantan Dengan Obesitas" adalah benar karya saya dengan arahan dari tim pembimbing (Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes sebagai pembimbing utama dan dr. Andriani Qaniitha., M.Sc., Ph.D 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 (*Journal of advance in medical and biomedical research*) sebagai artikel dengan judul "*Effect Of Alternate Day Fasting On Renal Endothelin-1 (Et-1) Levels In Obese Male Wistar Rats*". 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, 14 Juni 2024

Yang Menyatakan

Nurinayah
P062212038

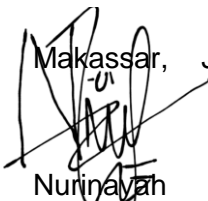


UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala nikmat dan hidayahnya yang telah berikan kepada kami sehingga kami dapat menyelesaikan tesis ini. Selama proses penyusunan tesis ini, tidak lepas dari bantuan banyak pihak. Penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih kepada

1. Prof. dr. Rahmawati Minhajat, Ph.D, Sp.PD, K-HOM., FINASIM selaku ketua program studi biomedik.
2. dr. Aryadi Arsyad, M.Biomed, Ph.D selaku ketua konsentrasi Fisiologi dan selaku Penguji kedua, Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes selaku pembimbing pertama, dan dr. Andriani Qanitha., M.Sc., Ph.D selaku pembimbing kedua dengan penuh keikhlasan memberikan waktu, tenaga dan pemikiran dalam membimbing penulis.
3. Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes., Sp.PD-KGH, Sp.GK, FINASIM, dan dr. Muhammad Husni Cangara, Ph.D., Sp.PA., DFM. selaku penguji.
4. dr. Isra Wahid, Ph.D. selaku kepala laboratorium entomologi FK Unhas.
5. dr. Rusdina Bte Ladju, Ph.D selaku kepala HUMRC Unhas memberikan izin kami untuk melakukan penelitian di HUMRC. Seluruh staff HUMRC terkhusus ada ibu handayani yang telah banyak membantu dan mengawasi kami selama melakukan penelitian di HUMRC.
6. Kepada kedua orang ku tercinta yang telah tidak henti-hentinya mendoakan Bapak Nurdin dan Ibu Fatimah. Terkhusus Suami ku Ade RahmatJaya yang telah memberikan motivasi, membantu menemani selama proses penelitian dan memberikan semangat kepada saya dalam menjalani program magister ini.
7. Teman-teman S2 Fisiologi angkatan 2021 untuk kebersamaan, kekompakan, dan dorongan semangat selama penulis menempuh pendidikan S2.
8. Semua pihak yang tak sempat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu penulis menyelesaikan tesis ini.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari kata kesempurnaan. Untuk itu kritik,saran, dan penelitian selanjutnya sangat penulis harapkan untuk melengkapi tesisini. Akhir kata, semoga tesis ini dapat bermanfaat bagi kita semua.


Makassar, Juni 2024

Nurinayah

ABSTRAK

Nurinayah. **Efek Alternate Day Fasting Terhadap Penurunan Berat Badan dan Kadar Endotelin-1 (ET-1) Renal Pada Tikus Wistar Jantan dengan Obesitas** (dibimbing oleh Irfan Idris dan Andriany Qanitha)

Salah satu cara menurunkan kadar ET-1 pada penderita obesitas adalah dengan menggunakan metode alternate day fasting. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh alternate day fasting terhadap kadar ET-1 tikus Wistar jantan dengan obesitas. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental posttest control group design. Populasi penelitian ini adalah tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar dengan total sampel 23 ekor tikus jantan, kelompok uji dibagi menjadi 3 kelompok yaitu kelompok tikus kontrol (n=7), tikus obesitas puasa (n=8) dan tikus obesitas tidak puasa (n=8). Tahap penelitian yaitu penggemukan, intervensi, preparasi sampel dan uji elisa untuk menguji ET-1 tikus. Tikus obesitas diinduksi dengan pakan tinggi kalori selama 2,5 bulan dipuasakan selama 6 minggu dengan metode puasa 16 jam dan 8 jam makan. Kelompok kontrol diinduksi dengan pakan standar. Hasil penelitian menunjukkan rerata ET-1 pada tikus kelompok obesitas 1455,07 pg/ml, obesitas tidak puasa 2394,17 pg/ml dan kelompok kontrol 1208,02 pg/ml. Hasil uji Anova menunjukkan nilai $p < 0,005$. Delta berat badan tikus obesitas puasa mengalami penurunan 13,94 gram, tikus obesitas tidak puasa tetap naik 18,8 gram dan kontrol 48,05 gram, hasil uji Paired Test menunjukkan $p < 0,005$. Jadi kesimpulnya ada perubahan signifikan terhadap penggunaan metode alternate day fasting dalam menurunkan kadar ET-1 ginjal pada tikus obesitas.

Kata Kunci: ADF, Obesitas, ET-1, Tikus, Ginjal



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

ABSTRACT

Nurinayah. **Effect of Alternate Day Fasting on Weight Loss and Renal Endothelin-1 (ET-1) Levels in Male Wistar Rats with Obesity** (supervised by Irfan Idris and Andriany Qanitha)

One way to reduce ET-1 levels in obese patients is by using the alternate day fasting method. This study aims to evaluate the effect of alternate day fasting on ET-1 levels in male Wistar rats with obesity. This study is an experimental study with posttest control group design. The population of this study was Wistar strain *Rattus norvegicus* rats with a total sample of 23 male rats, the test group was divided into 3 groups, namely the control group (n = 7), fasting obese rats (n = 8) and non-fasting obese rats (n = 8). The research stages are fattening, intervention, sample preparation and ELISA test to test ET-1 in rats. Obese rats were induced with high-calorie feed for 2.5 months, fasted for 6 weeks with the 16-hour fasting and 8-hour feeding method. The control group was induced with standard feed. The results showed that the average ET-1 in obese rats was 1455.07 pg / ml, non-fasting obese 2394.17 pg / ml and the control group 1208.02 pg / ml. The results of the Anova test showed a p value <0.005. The delta weight of obese fasting mice decreased by 13.94 grams, obese non-fasting mice still increased by 18.8 grams and control 48.05 grams, the results of the Paired Test showed p <0.005. So the conclusion is that there is a significant change in the use of the alternate day fasting method in reducing kidney ET-1 levels in obese mice.

Keywords: ADF, Obesity, ET-1, Rat, Kidney

	
Abstrak ini telah diperiksa.	Paraf/ Ketua / Sekretaris.
Tanggal : _____	

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGAJUAN.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS.....	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR GRAFIK.....	xi
BAB I.....	1
PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II.....	5
TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Tinjauan Obesitas.....	5
2.2 Tikus Wistar.....	8
2.3. Tinjauan Endotelin.....	12
2.4 Tinjauan Puasa.....	23
2.5 Kerangka teori.....	26
2.6 Kerangka konseptual.....	27
2.7 Hipotesis penelitian.....	27
BAB III.....	28

METODE PENELITIAN.....	28
3.1 Rancangan Penelitian.....	28
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	28
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian	28
1.6 Variabel Penelitian.....	29
1.7 Definisi Operasional Variabel.....	29
1.8 Instrumen Penelitian	29
3.10 Etika Penelitian.....	34
3.11 Alur Penelitian	35
3.12 Analisi Data	36
BAB IV.....	37
HASIL DAN PEMBAHASAN	37
4.1. Hasil Penelitian.....	37
4.2. Karakteristik Hewan Coba	37
4.3. Perubahan Berat Badan Tikus Wistar.....	38
4.4. Analisi Uji One Way Anova Pada Kadar ET-1.....	38
4.5. Pembahasan	39
BAB V.....	43
KESIMPULAN DAN SARAN.....	43
5.1. Kesimpulan.....	43
5.2. Saran.....	43
DAFTAR PUSTAKA.....	44
LAMPIRAN.....	48

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Data Fisiologis Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	9
Tabel 4.1 Karakteristik Hewan Coba.....	37
Tabel 4.2 Perbandingan Endhotelin-1 Level.	38

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	9
Gambar 2.2. Anatomi Ginjal.....	10
Gambar 2.3. Potongan ginjal dan skema mikrosirkulasi setiap nefron	11
Gambar 2.4. Percabangan tubulus dasar nefron	11
Gambar 2.5 Struktur susunan asam amino endothelin	13
Gambar. 2.6. Biosintesis ET-1 oleh sel endotel	14
Gambar 2.7 Persinyalan ET-1 di Pembuluh Darah	15
Gambar 2.8. Jalur Pensinyalan Intraseluler Untuk ET	18

DAFTAR GRAFIK

Grafik 4.1 Perubahan Berat Badan Hewan Coba Setiap Kelompok	38
Grafik 4.2 Perbandingan Kadar ET-1 pada Minggu ke-16	39

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Data Prevelensi obesitas pada tahun 2021 menunjukkan di antara semua anak-anak dan remaja usia 2–19 tahun, prevalensi obesitas meningkat seiring bertambahnya usia (12,7% untuk mereka berusia 2–5 tahun, 20,7% untuk 6–11 tahun, dan 22,2% untuk usia 12-19 tahun), data ini merupakan data yang tertinggi di antara anak-anak usia 12-19 tahun Hispanik (26,2%) dan non-Hispanik berkulit hitam (24,8%) anak-anak dan remaja, diikuti oleh kulit putih non-Hispanik (16,6%) dan anak-anak Asia non- Hispanik (9,0%) (NHANES, 2021).

Data dari *World Health Organization* (WHO) Tahun 2016, jumlah penderita obesitas 650 juta jiwa. Di Indonesia jumlah populasi obesitas meningkat dari 14% menjadi 21,8% pada tahun 2018 (Yudhistina et al.,2021). Prevalensi kelebihan berat badan dan obesitas akan meningkat menjadi 58% dari populasi orang dewasa pada tahun 2030. Obesitas bukan hanya masalah kecantikan namun obesitas juga bertanggung jawab untuk meningkatnya prevalensi penyakit kronis (Dahlan et al, 2020). Studi tentang obesitas memperlihatkan bahwa seseorang yang obesitas akan mengalami inflamasi pada dinding vaskuler dan memiliki hubungan yang erat dengan risiko kematian pada kasus obesitas (Billy et al., 2016).

Penelitian lain menunjukkan kaitan antara kadar ET-1 ginjal penderita obesitas menyebabkan disfungsi ginjal, hiperfiltrasi glomerulus, retensi natrium, pembesaran ruang Bowman, peningkatan proliferasi sel glomerulus, ekspansi matriks mesangial, infiltrasi sel inflamasi, dan lesi tubulointerstitial. Perubahan ginjal dapat berkembang menjadi lesi yang lebih intens dan menyebar di ginjal, seperti glomerulosklerosis segmental fokal, proteinuria, dan lesi tubulointerstitial, yang diamati pada obesitas yang berkepanjangan (Dahlan et al, 2020).

Endothelin-1 memiliki 2 reseptor yaitu ETA dan ETB. Cara kedua reseptor ini bekerja yaitu ketika ETA berikatan dengan endotelin 1, endhotelin A merangsang fibroblas ginjal, mendorong peningkatan sintesis matriks ekstraseluler, menginduksi produksi kolagen, dan proliferasi sel mesangial dengan sekresi fibronektin dan pembentukan jaringan parut kolagen tipe IV (Raina et al., 2019),

sementara endothelin B bertindak untuk membersihkan ET1 dan memediasi vasodilatasi sel endotel serta pelepasan NO dan prostasiklin (Houde et al, 2016).

ET-1 kortikal bersifat prohipertensi dengan meningkatkan resistensi pembuluh darah ginjal, dan secara langsung mendorong infiltrasi sel inflamasi, khususnya ke glomerulus. Berbeda dengan korteks ginjal, ET-1 medula ginjal mengurangi tekanan darah dengan secara langsung menghambat reabsorpsi natrium pada saluran pengumpul dan meningkatkan aliran darah medula melalui aktivasi reseptor ETB. Saluran pengumpul medula bagian dalam menghasilkan ET-1 paling banyak di dalam ginjal (≈ 10 kali lebih banyak dibandingkan segmen nefron lainnya) (Joshua et al, 2013).

Penelitian yang dilakukan oleh Varady et al (2013) menunjukkan *alternate day fasting* efektif menurunkan berat badan sebesar 5-6% dan hilangnya masa lemak visceral sebanyak 5-7 cm diukur dari lingkar pinggang dalam waktu 8-12 minggu. ADF membantu retensi masa tanpa lemak pada individu yang mengalami obesitas sehingga hal ini membantu memperbaiki resiko penyakit jantung, menurunkan konsentrasi kolesterol LDL sebanyak 20-25%, konsentrasi trigliserol (15-30%) (Rochmah et al., 2017).

Sedangkan efek ADF pada ET-1 yaitu mengurangi kadar glukosa darah puasa dan penilaian model homeostatis untuk resistensi insulin (HOMA-IR), dan meningkatkan sensitivitas insulin. ADF memberikan manfaat perlindungan metabolik dan endotel. Peningkatan fungsi endotel sebagian dimediasi oleh peningkatan adiponektin. Dalam proses penurunan berat badan ADF membantu menurunkan hormon adipokin. Leptin dan resistin adalah adipokin yang berkorelasi positif dengan berat badan dan massa lemak, dan penurunan berat badan dapat menurunkan kadar leptin dan resistin. Leptin dan resistin dapat menyebabkan disfungsi endotel dengan meningkatkan stres oksidatif (Cui et al, 2022).

Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk menurunkan berat badan penderita obesitas yaitu dengan melakukan puasa. Pada penelitian ini peneliti menggunakan metode puasa *alternate day fasting* untuk membantu menurunkan berat badan penderita obesitas. Pada keadaan berpuasa terjadi perubahan pola makan, waktu makan, dan asupan makanan. Pola waktu makan dibatasi menjadi 16 jam puasa dan 8 jam dengan mengikuti ritme waktu biologis. Selama puasa tubuh akan mulai memecah glikogen dan cadangan lemak sebagai sumber

energi, salah satunya trigliserida. Menurut penelitian yang dilakukan Cho Y , et al tahun 2019 tentang penelitian diet puasa ADF terhadap kadar lemak didapatkan hasil pengurangan massa lemak secara statistik. Hal tersebut dapat menyebabkan terjadinya perubahan keseimbangan glukosa dalam darah. Hal ini tentunya juga berpengaruh pada produksi ET-1 (Ayu et all, 2019).

Penurunan berat badan dapat menormalkan jumlah endothelin-1 pada ginjal, pengurangan ET-1 karena penurunan berat badan dapat berkontribusi terhadap perbaikan disfungsi endotel yang disebabkan oleh obesitas karena ET-1 terlibat dalam regulasi vaskular tonus dan perkembangan aterosklerosis. Penurunan berat badan juga menurunkan resiko CKD. Untuk peningkatan kesehatan metabolisme, ambang batas penurunan berat badan sebesar 5% secara konvensional dianggap signifikan. Fakta bahwa penurunan berat badan dapat menurunkan resiko CKD sebesar 38% dibandingkan dengan mereka yang masih mengalami obesitas. Mereka yang kehilangan >10% berat badannya mengalami penurunan risiko CKD sebesar 42%. Penurunan berat badan sebesar 7,0% hingga <10% menghasilkan penurunan CKD sebesar 47% (Hu et al,2022).

Berdasarkan uraian tersebut peneliti akan melakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh *alternate day fasting* terhadap penurunan IMT dan kadar endothelin-1 ginjal pada tikus obesitas, hasil yang diperoleh dapat dijadikan sebagai implementasi untuk dunia kedokteran dan pengobatan guna mengurangi angka obesitas terutama di Indonesia.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana efek *alternate day fasting* terhadap penurunan berat badan dan kadar endothelin-1 (ET- 1) renal tikus wistar jantan dengan obesitas ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Mengetahui efek *alternate day fasting* pada penurunan berat badan dan kadar endothelin-1 renal tikus jantan wistar dengan obesitas

1.3.2 Tujuan khusus

1.3.2.1 Membandingkan penurunan berat badan pada kelompok tikus Obese dengan dan tanpa ADF dan tikus kontrol pada minggu ke 10 dan 16

1.3.2.2 Membandingkan kadar endothelin-1 renal pada kelompok tikus Obese dengan dan tanpa ADF dan Tikus kontrol pada minggu

ke 16

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Memperluas khasanah ilmu dalam menunjang perkembangan pengetahuan tentang endothelin-1 sebagai agen yang menyebabkan munculnya penyakit yang disebabkan oleh berat badan berlebih.

1.4.2 Manfaat Praktis

Memberikan kontribusi dan membantu mengurangi peningkatan jumlah penderita obesitas dengan berbagai jenis komplikasi sehingga dapat meningkatkan usia harapan hidup jika kadar ET-1 pada ginjal terbukti mengalami peningkatan pada penderita obesitas maka akan dilakukan tindakan preventif.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Obesitas

2.1.1 Pengertian Obesitas

Obesitas berkaitan dengan suatu kondisi peradangan sistemik tingkat rendah yang ditandai dengan respons fase akut yang didorong oleh jaringan adiposa, dengan interleukin-6, interleukin-1, interleukin-8 dan tumor necrosis factor memainkan peranan terbesar (Purdy et al., 2022). Adiponektin adalah peptida turunan adiposit lainnya yang kadarnya berkurang pada obesitas (Seravalle et al., 2017).

Data prevalensi obesitas diperoleh dengan menggunakan dua platform di AS; yang dilakukan oleh Departemen Kesehatan negara bagian bersama dengan sistem pengawasan BRFSS dan survei oleh Pusat Statistik Kesehatan Nasional sebagai Survei Pemeriksaan Kesehatan dan Gizi Nasional (NHANES), berdasarkan data NHANES adalah 42,4% penderita obesitas pada tahun 2017-2018. Data dari BRFSS secara konsisten melaporkan tingkat prevalensi obesitas lebih rendah dibandingkan survei NHANES (30,9% pada tahun 2019), mungkin karena bias laporan mandiri pada survei telepon. Selain itu, laporan CDC tentang prevalensi obesitas di AS memperkirakan bahwa 31,4% orang dewasa mengalami obesitas pada tahun 2019 (Bautari et al., 2022)

Perubahan pola makan, cara berpikir, dan lingkungan menjadi penyebab utama terjadinya peningkatan prevalensi obesitas pada remaja. Arus globalisasi meningkatkan kecenderungan pola hidup yang tidak sehat. Pada pengukuran indeks masa tubuh (IMT), dimana pada orang ASIA $IMT > 25$ dikategorikan sebagai obesitas (Jonathan et al., 2020). Indeks massa tubuh (BMI), yang merupakan berat badan (kg) dibagi dengan tinggi (m^2), indeks ini untuk menentukan status gizi seseorang termaksud dalam menentukan kelebihan berat badan/obesitas. BMI pada orang dewasa 25,0-29,9 kg/m^2 dikategorikan kelebihan berat badan (*overweight*) dan BMI 30 kg/m^2 atau lebih tinggi dikategorikan obesitas (Uzogara, 2017).

Untuk mengetahui individu mengalami obesitas, dapat menggunakan BMI sebagai indikator untuk menentukan berat badan. Beberapa penelitian telah

menunjukkan bahwa adipositas dan indeks massa tubuh tinggi (BMI) digunakan untuk mengukur berat badan per tinggi badan yang diakumulasikan menandakan seseorang mengalami berat badan kurang, normal, berlebih dan obesitas. Selama 30 tahun terakhir, tingkat obesitas terus meningkat di antara populasi Barat sementara prevalensinya di wilayah Timur tetap rendah secara konsisten. Saat ini, Asia menunjukkan tingkat prevalensi terendah (3,2% pada laki-laki, 6,8% pada perempuan) sedangkan Amerika Serikat mencatat yang tertinggi (24% pada laki-laki, 29,6% pada perempuan) dan Eropa menunjukkan tingkat menengah (21,5% pada laki-laki, 24,5% pada perempuan) (Mengardo et al., 2017).

2.1.2 Faktor Penyebab Obesitas

Faktor resiko penderita obesitas dapat kadar gula darah pada diabetes mellitus tipe 2, dan resistensi insulin. Tingginya resiko tergantung dari BMI semakin bertambah berat badan maka semakin tinggi gula dalam (hiperglikemi) dan meningkatkan resiko terkena diabetes mellitus tipe 2 (Utami et al, 2017). Resistensi insulin suatu kondisi dimana tubuh tidak dapat menggunakan glukosa dengan baik sehingga glukosa pada aliran darah tidak dapat masuk ke jaringan dan menyebabkan glukosa yang berlebih pada cairan ekstraseluler sehingga menjadi penyebab vasokonstriksi pembuluh darah. Selain itu obesitas juga dapat disebabkan oleh kolesterol. Peningkatan jumlah kolesterol dapat meningkatkan akumulasi kolesterol dalam darah atau hiperkolesterolemia dan efek terburuk menyebabkan kematian. Hiperkolesterolemia dapat diketahui melalui pengukuran kolesterol total yang diambil dari darah perifer (> 240 mg/dl) menggunakan reagen kolesterol (Listiyani et al.,2013).

Manifestasi klinis dari gangguan yang mendasari obesitas yaitu adipositas sentral, peningkatan glukosa darah, TG plasma, darah tekanan, dan kolesterol HDL plasma rendah. Penyebab lain obesitas yaitu disfungsi endotel, dislipidemia aterogenik, resistensi insulin, dan peradangan tingkat rendah kronis (Andersen et al., 2016). Zat adipositokin paling banyak dihasilkan oleh sel lemak yang melapisi organ-organ diperut. Zat tersebutlah yang menyebabkan resistensi insulin (Refialdinata, 2018).

Naiknya trigliserida dapat mempengaruhi naiknya kolesterol dalam darah juga dapat meningkatkan kenaikan kolesterol yang terdapat pada *very low-density lipoprotein* dan *low-density lipoprotein* sekunder (Rochmah et al., 2017). Selain faktor makanan dan faktor stress obesitas juga dapat disebabkan oleh faktor genetik. Para ilmuwan mengamati bahwa anak-anak obesitas berasal dari

keluarga dengan orang tua obesitas. Bila salah satu orang tua dengan obesitas maka resiko anak untuk mengalami obesitas sebesar 40 –50% jika kedua orang tua obesitas, maka 80% anak-anaknya akan berisiko obesitas. Hasil penelitian ditemukan terdapat hubungan obesitas orangtua terhadap kejadian obesitas pada remaja (Gozali et al, 2017).

2.1.3 Dampak/masalah kesehatan akibat obesitas

Pasien dengan obesitas memiliki banyak resiko terhadap kesehatan. Penumpukan lemak menyebabkan penumpukan plak pada pembuluh darah yang tentunya akan mengurangi konsentrasi oksigen yang menuju kebagian tubuh. Wanita gemuk lebih cenderung mengalami disfungsi ovulasi karena disregulasi aksis hipotalamus-hipofisis- ovarium. Wanita dengan sindrom ovarium polikistik yang juga obesitas menunjukkan fenotipe metabolik dan reproduksi yang lebih parah. Wanita gemuk telah mengurangi kesuburan bahkan ketika eumenore dan menunjukkan hasil yang lebih buruk dengan penggunaan fertilisasi in vitro. Obesitas muncul untuk mempengaruhi oosit dan embrio praimplantasi, dengan gangguan pembentukan gelendong meiosis dan dinamika mitokondria. Kelebihan FFA mungkin memiliki efek toksik pada jaringan reproduksi, yang menyebabkan kerusakan sel dan keadaan peradangan kronis tingkat rendah (Broughton et al., 2017).

Resiko lain yang dapat disebabkan oleh obesitas yaitu gagal jantung. Jaringan adiposa menghasilkan beberapa sitokin proinflamasi, seperti IL-1 dan IL-18, yang memiliki sifat kardiodepresan langsung, oleh karena itu meningkatkan risiko disfungsi jantung dan akhirnya gagal jantung. Demikian pula, jaringan adiposa dapat menghasilkan hormon yang disebut adipokin, seperti leptin, adiponektin, dan resistin. Meskipun hormon-hormon ini sangat terlibat dalam pengaturan berat badan dan metabolisme glukosa. Leptin mengatur asupan makanan dengan menginduksi rasa kenyang di tingkat pusat. Namun, individu dengan obesitas mengembangkan keadaan resistensi leptin, mengakibatkan penurunan sinyal kenyang yang mengarah ke peningkatan asupan makanan, berkontribusi pada peningkatan obesitas lebih lanjut (Carbone et al., 2020)

Dalam sebuah studi dari 5.881 peserta Framingham Heart Study, Kenchaiah et al. menunjukkan bahwa untuk setiap 1 kg/m² peningkatan BMI (*Body Mass Index*), risiko gagal jantung selama 14 tahun tindak lanjut meningkat sebesar 5% pada pria dan 7% pada wanita, dengan tingkat peningkatan risiko gagal jantung yang dicatat di semua kategori BMI (*Body Mass Index*). Namun, dalam studi dari

550 subjek tanpa diabetes di Yunani, BMI (*Body Mass Index*) tidak dikaitkan dengan risiko gagal jantung, sedangkan sindrom metabolik dikaitkan dengan risiko gagal jantung 2,5 kali lipat lebih tinggi. Berbeda dengan pasien dengan berat badan normal dengan sindrom metabolik, subjek obesitas yang sehat secara metabolik mengalami penurunan risiko gagal jantung dalam studi lanjutan selama 6 tahun. Dalam sebuah studi lain megemukakan dari 74 pasien obesitas morbid, hampir sepertiga memiliki bukti klinis gagal jantung dan kemungkinan gagal jantung meningkat secara dramatis dengan meningkatnya durasi obesitas morbid, dengan tingkat prevalensi melebihi 70% pada 20 tahun dan 90% pada 30 tahun (Lavie et al., 2013).

Studi tentang dampak obesitas dilakukan juga pada penderita kanker esophagus. Pada pasien kanker esofagus, 23% pasien mengalami obesitas. Hal ini terkait dengan peningkatan morbiditas, khususnya kebocoran anastomosis, tetapi hal ini tidak menyebabkan kematian dini atau penurunan kelangsungan hidup jangka panjang. Studi yang berkaitan dengan obesitas dan reseksi kanker kerongkongan telah menunjukkan hasil yang bertentangan. Beberapa telah menggambarkan hubungan antara obesitas dan komplikasi parah termasuk kebocoran anastomosis. Studi Timur menganalisis pengaruh BMI tinggi pada pasien yang menjalani esophagec-tomy menggunakan klasifikasi yang berbeda dari definisi WHO, termasuk pasien dengan BMI>27,5 sebagai obesitas. Konsultasi pakar WHO telah menerbitkan rekomendasi tentang BMI pada populasi Asia yang menunjukkan bahwa BMI>23 mewakili peningkatan risiko dan BMI>27,5 mewakili risiko tinggi (Mengardo et al., 2017).

2.2 Tikus *Rattus norvegicus*

2.2.1 Tinjauan *Rattus norvegicus*

Rattus norvegicus adalah salah satu hewan coba yang umum digunakan dalam penelitian ilmiah. *Rattus norvegicus* memiliki karakter seperti, mudah dipelihara, bersifat lebih tenang dan mudah dikerjakan beberapa intervensi, tidak terlalu takut terhadap cahaya. Pola Aktivasnya tidak mudah terganggu oleh kehadiran manusia. Selayaknya hewan lainnya tikus galur ini tidak dapat diperlakukan secara kasar atau kekurangan makanan, tikus akan menjadi agresif dan stress serta cenderung menggigit. Pola tingkah laku tikus umumnya paling banyak dilakukan pada saat malam hari. Tikus memiliki kebiasaan menggali, mengunyah, menyelidiki tanda aroma sesuatu, memanjat, bersarang, dan mencari makan. Secara genetik tikus memiliki genetik 98% mirip dengan

manusia dengan letak kesamaan sistem reproduksi, sistem saraf, penyakit (kanker dan diabetes), dan kecemasannya (Rejeki et al. 2018).

Menurut Kartika *et al.* (2013) taksonomi dari tikus putih, yaitu:

Kingdom : Animalia
 Filum : Chordata
 Kelas : Mammalia
 Ordo : Rodentia
 Famili : Muridae
 Genus : *Rattus*
 Spesies : *Rattus norvegicus*



Gambar 2.1. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) (Sharp dan La Regina, 1998).

Hewan ini memiliki karakteristik kepala, badan, leher, dan tubuhnya tertutup rambut, memiliki ekor bersisik, termasuk binatang liar, memiliki sepasang daun telinga dan bibir yang lentur. Usia hidup selama 2–3 tahun, masa reproduksi aktif selama 1 tahun, dan lama masa kehamilan 20–22 hari. Usia tikus dewasa 40–60 minggu, durasi umur kawin 2 minggu dengan siklus estrous 4-5 hari, dan berat tikus dewasa mencapai 300–400 gram (Rejeki *et al.* 2018).

Tabel 2.1. Data Fisiologis Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

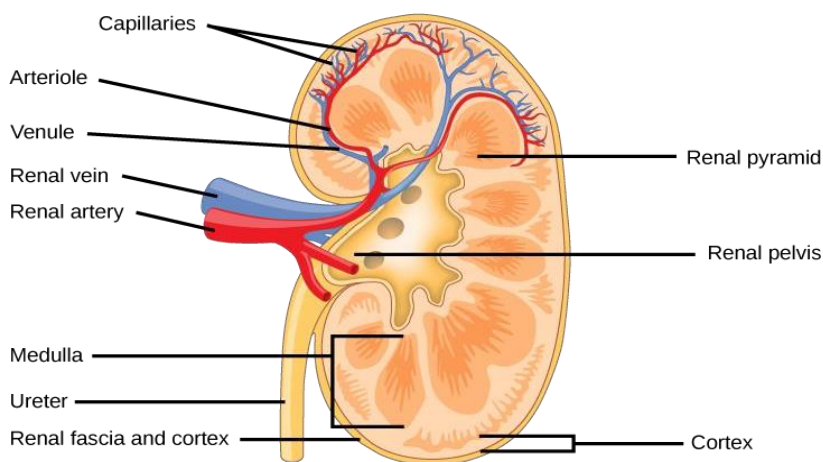
Parameter	Nilai
Masa hidup (Tahun)	2,5-3,5
Berat badan jantan (g)	450-520
Berat badan betina (g)	250-300
Suhu Tubuh (rectum)	35,9-37,5°C atau 96,6-99,5°F
Konsumsi oksigen (ml/m ² /g berat badan)*	0.84
Pemasukan makanan (g/100g berat badan/hari)	5-6

Pemasukan air (g/100g berat badan/ hari)	10-12
Waktu transit di saluran pencernaan (jam)	12-24
Volume urin (ml/100g berat badan/ hari)	5,5
pH urin	7,3-8,5
Cairan interselular (ml)	92,8
Cairan ekstraselular (ml)	74,2
Volume plasma (ml)	7,8

*berdasarkan tikus dengan berat badan 250 g (Sharp dan La Regina,1998).

2.2.2 Anatomi dan Fisiologis Ginjal

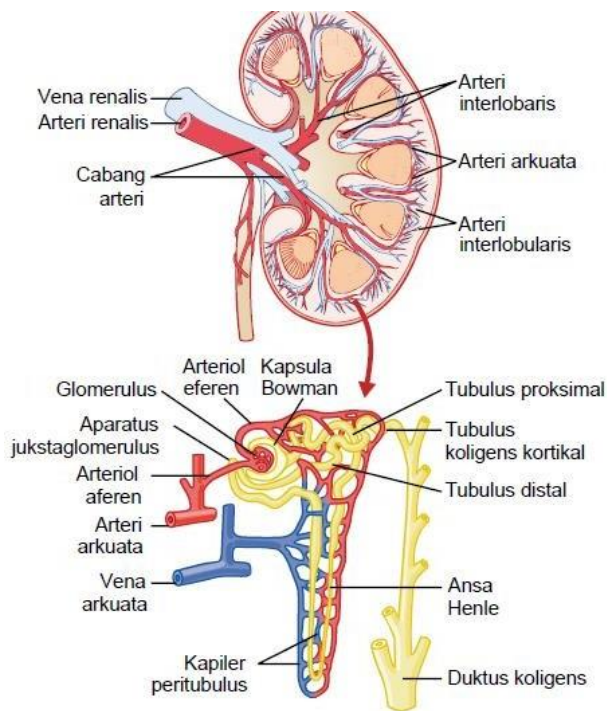
Ginjal mempunyai berat hampir 150 gram dan kira-kira seukuran kepalan tangan. Sisi medial setiap ginjal merupakan daerah lekukan yang disebut hilum tempat lewatnya arteri dan vena renalis, pembuluh limfatik, saraf dan ureter yang membawa urin akhir dari ginjal ke kandung kemih, tempat urin disimpan hingga dikeluarkan. Ginjal dibungkus oleh kapsula fibrosa yang keras untuk melindungi struktur dalamnya yang rapuh (Sherwood L, 2013).



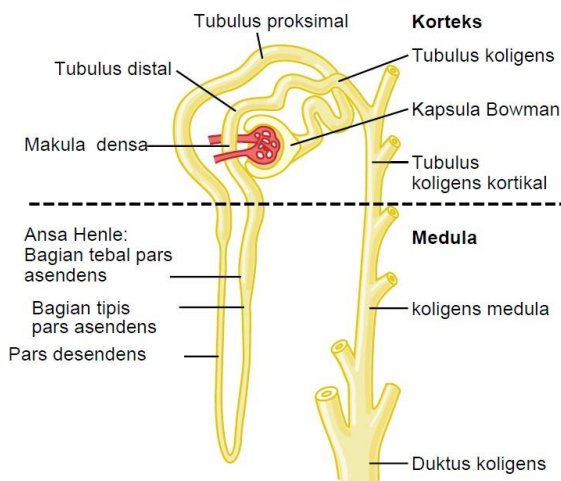
Gambar 2.2. Anatomi Ginjal

Sirkulasi ginjal ini unik karena memiliki dua jejaring kapiler, yaitu kapiler glomerulus dan kapiler peritubulus, yang tersusun seri dan dipisahkan oleh arteriol eferen yang membantu mengatur tekanan hidrostatis dalam kedua perangkat kapiler. Tekanan hidrostatis yang tinggi pada kapiler glomerulus (kira-kira 60 mm Hg) menyebabkan filtrasi cairan yang cepat, sedangkan tekanan hidrostatis yang jauh lebih rendah pada kapiler peritubulus (kira-kira 13 mm Hg) memungkinkan reabsorpsi cairan yang cepat. Darah yang mengalir ke kedua ginjal normalnya sekitar 22 persen dari curah jantung, atau 1.100 ml/menit. Arteri renalis memasuki

ginjal melalui hilum dan kemudian bercabang-cabang secara progresif *membentuk arteri interlobaris, arteri arkuata, arteri interlobularis* (juga disebut arteri radialis), dan *arteriol aferen*, yang menuju ke *kapiler glomerulus* tempat sejumlah besar cairan dan zat terlarut (kecuali protein plasma) difiltrasi untuk memulai pembentukan urine (Guyton, 2013).



Gambar 2.3. Potongan ginjal dan skema mikrosirkulasi setiap nefron (sumber : Guyton, 2013)



Gambar 2.4. Percabangan tubulus dasar nefron (Guyton, 2013)

Cairan yang difiltrasi dari kapiler glomerulus mengalir ke dalam kapsula Bowman dan kemudian masuk ke *tubulus proksimal*, yang terletak dalam korteks ginjal. Dari tubulus proksimal, cairan mengalir ke ansa Henle yang masuk ke dalam

medula ginjal. Setiap lengkung terdiri atas *pars descendens* dan *asendens*. Dinding *pars descendens* dan ujung *pars asendens* yang paling rendah sangat tipis, dan oleh karena itu disebut *bagian tipis ansa Henle*. Bagian awal dari 8 sampai 10 duktus koligens kortikal bergabung membentuk duktus koligens tunggal yang lebih besar, yang turun ke medula dan menjadi *duktus koligens medula* (Guyton, 2013).

2.3. Tinjauan Endotelin

2.3.1. Biosintesis Endotelin

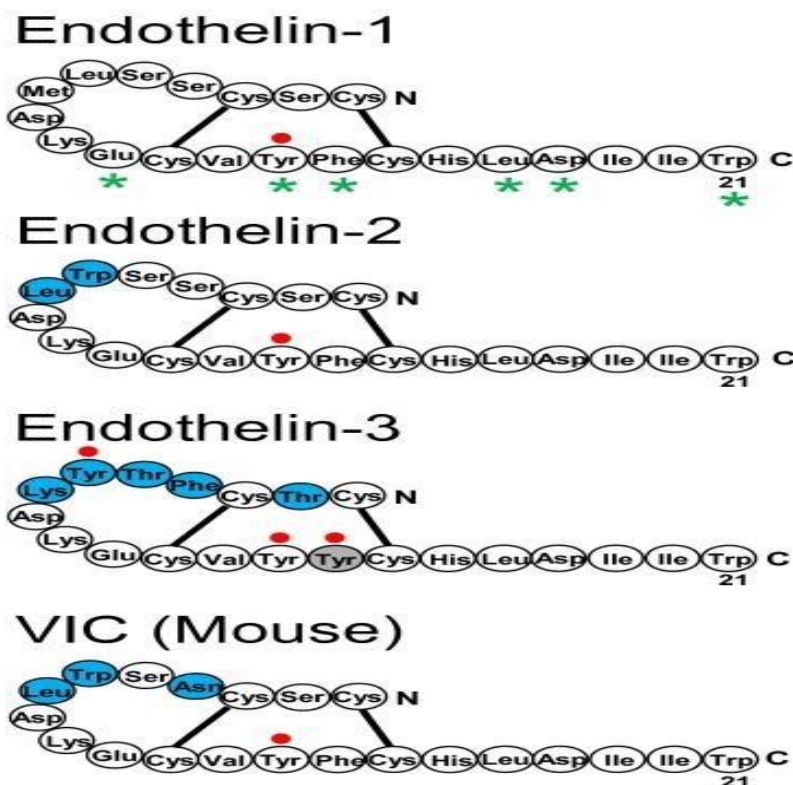
Peptida ET-1 dihasilkan dari gen *End1*, panjang pasangan basa 6838, terletak pada kromosom 6. Ini mengandung 5 ekson, yang mengkode 2026 -nucleotide mRNA (Arinami et al., 1991; Inoue, Yanagisawa, Takuwa, et al., 1989). Setelah proses proteolitik, N-terminal peptida aktif berasal dari ekson 2, sedangkan C-terminal ekor ET-1 besar (tanpa urutan ET-1) dibagi antara ekson 2 dan 3. Urutan mirip endotelin lainnya, mempertahankan residu sistein N-terminal 4 yang sama dari ET-1, terletak di ekson 3, tetapi perannya masih belum jelas (Houde et al., 2016).

Endotelin adalah peptida panjang asam amino 21 yang merupakan vasokonstriktor yang dihasilkan dari sel endotel, sel otot polos pembuluh darah, makrofag, dan medula ginjal. Mereka diketahui menghasilkan endotelin-1 (ET-1) yang bekerja pada reseptor ETA dan ETB. ET-1 merupakan vasokonstriktor yang kuat yang telah diidentifikasi sampai saat ini, menghasilkan kontraksi yang kuat dari berbagai darah pembuluh darah mamalia secara *in vitro*, termasuk arteri dan vena manusia, memiliki respon yang kuat dan tahan lama (Davenport et al., 2016).

Berdasarkan residu asam amino 7-20 dari endotelin, beberapa jenis oligonukleotida disintesis sesuai dengan statistik penggunaan kodon mamalia. Menggunakan satu dari oligonukleotida yang disintesis sebagai satu "optimal" Probe DNA, sekitar 2×10^6 klon disaring dari perpustakaan cDNA λ gt10 dibangun untuk endotelin babi mRNA sel, dan 38 klon hibridisasi-positif segera diidentifikasi. Empat dari klon ini menjadi sasaran untuk karakterisasi lebih lanjut, dan akhirnya, nukleotida lengkap urutan cDNA preproendotelin babi dan deduksi urutan asam amino ditentukan (Miyachi et al, 2013).

Endotelium adalah sel monolayer yang terdiri dari permukaan luminal

semua pembuluh darah dan limfatik. Disela antara aliran darah atau getah bening, endotelium mengatur interaksi dinding pembuluh darah dengan sel-sel yang bersirkulasi, trombosit, eksosom, dan faktor humoral. Sejumlah besar parakrin endotel faktor memodulasi nada dan pertumbuhan yang mendasari pembuluh darah halus otot. Paradigma dari faktor-faktor parakrin ini adalah oksida nitrat yang diturunkan dari endotelium (NO), suatu vasodilator poten yang juga menekan proliferasi pembuluh darah halus sel otot dan infiltrasi leukosit (John et al, 2020).



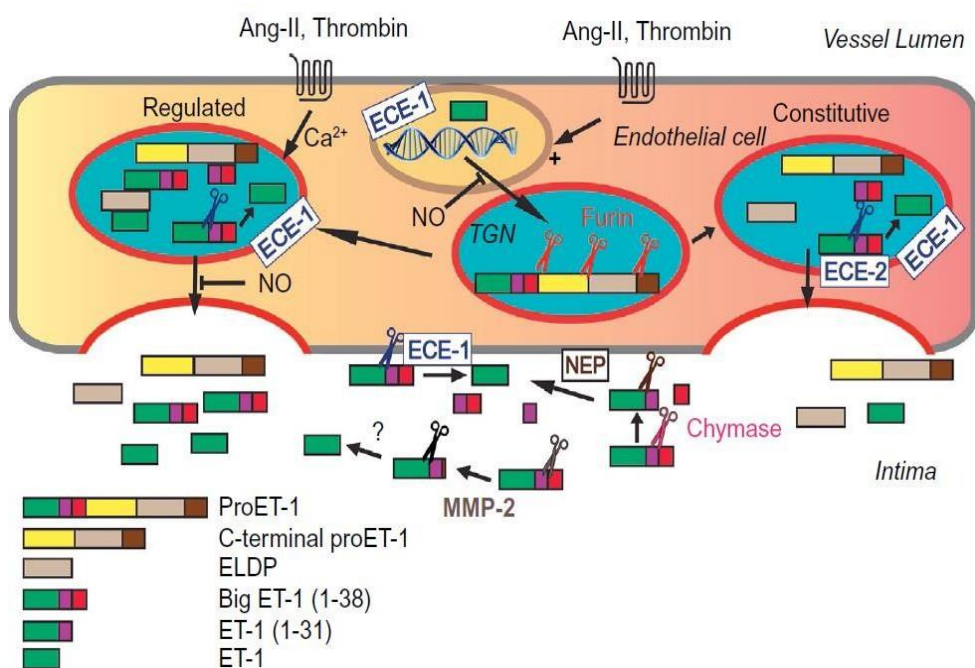
Gambar 2.5 Struktur susunan asam amino endothelin (Anthony P. Davenport et al, 2016)

Struktur ET-1 tidak biasa di antara mamalia peptida bioaktif dalam memiliki dua intramolekul ikatan disulfida antara residu Cys berikatan silang di posisi 1 dan 15 dan 3 dan 11. Secara eksperimental, residu pada posisi 10, 13, 14, 17, 18, dan 21 adalah penting untuk mengikat. Residu ini terletak secara berurutan, dipisahkan oleh dua asam amino, yang konsisten dengan struktur heliks sekunder (Anthony et al., 2016).

Sintesis Endotelin-1 dalam Sel Endotel. ET-1 adalah isoform yang paling melimpah pada manusia sistem kardiovaskular dan sumber utamanya adalah dianggap sel endotel vaskular, meskipun peptida diproduksi oleh jenis sel lain,

termasuk sel epitel, misalnya di paru-paru, ginjal, dan usus besar; makrofag dan monosit, sel glia enterik perifer, serta pleksus koroid dan tertentu neuron dan sel glial reaktif di saraf pusat sistem. Namun, sebagian besar informasi tentang ET-1 sintesis telah ditentukan dari mempelajari endotel sel-sel yang membentuk satu lapisan sel lapisan setiap Pembuluh darah pada sistem kardiovaskuler yang memiliki a massa sebanding dengan kelenjar endokrin lainnya. ET-1 punya telah terdeteksi dalam sel endotel di semua jenis kapal, dari arteri saluran besar, arteri resistensi (berkontribusi untuk pemeliharaan tekanan darah), pembuluh darah besar, dan venula. ET-1 kemungkinan akan hadir dan berperan dalam mengontrol perfusi di setiap organ dalam tubuh (Anthony et al., 2016)

Banyak faktor yang mempengaruhi ekspresi ET-1. Angiotensin-II, transformasi faktor pertumbuhan- β , trombin, bradikinin, hipoksia, dan kepadatan rendah lipoprotein (baik teroksidasi atau diasetilasi) menginduksi ekspresi ET-1. Itu juga dapat diatur oleh microRNAs. Di sisi lain, tegangan geser fluida dan nitric oxide (NO) adalah penghambat kuat ekspresi gen ET-1. Faktanya, nitric oxide synthase (NOS) inhibitor yang dapat meningkatkan tekanan darah dapat dibalikkan oleh antagonis reseptor ET-1, menunjukkan bahwa NO menghambat keduanya Ekspresi gen ET-1 dan kontraksi VSMC (Houde et al., 2016).



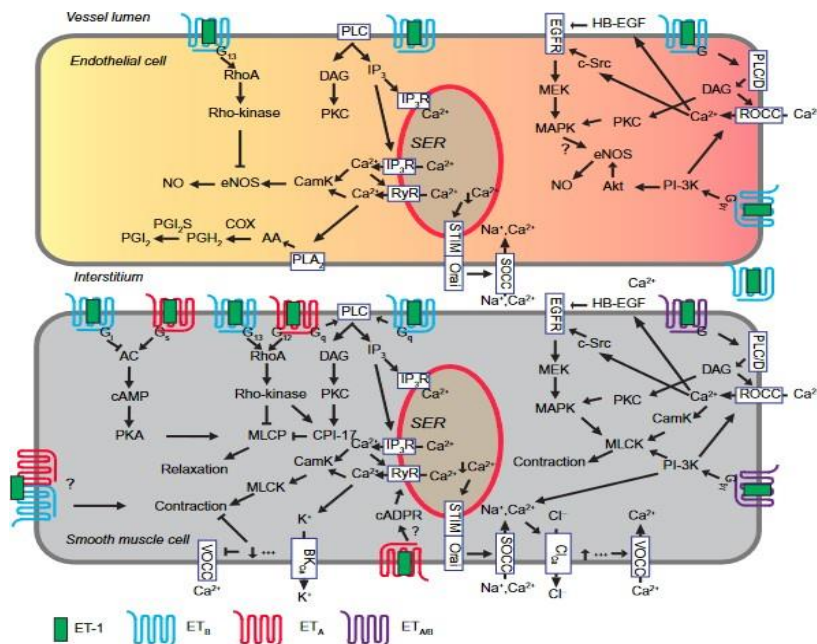
Gambar. 2.6. Biosintesis ET-1 oleh sel endotel

ET-1 disintesis dan dilepaskan terus menerus dari sel endotel, dan kadar pre-

proendotelin (preproET-1) dimodulasi secara dominan pada level transkripsi, dengan bukti yang melibatkan banyak transkripsi termasuk, aktivator proton 1, nuklir faktor kappa B, FOXO1, VezF1, HIF-1, dan GATA2. Rangsangan fisik dan kimia berkontribusi untuk perubahan tingkat mRNA preproET-1 secara fisiologis dan kondisi patofisiologis [misalnya, geser stres, hipoksia, trombin, dan faktor vasoaktif seperti sebagai angiotensin II (ANGII)] (untuk tinjauan rinci ET-1 regulasi gen, lihat Stow et al., 2011).

Di dalam pembuluh darah, tegangan geser sangat penting dalam menentukan keseimbangan antara produksi ET-1 dan NO, dan, setidaknya pada tikus in vivo, perubahan tegangan geser pada gen endotel ekspresi tampaknya melibatkan protein yang diaktifkan AMP stimulasi kinase dari transkripsi anti-inflamasi faktor. Hipoksia, misalnya pada tumor, juga penting peran dalam meningkatkan ekspresi gen endotel termasuk ET-1 yang memiliki elemen responsif hipoksia dalam promotor mereka, berkontribusi terhadap perkembangan penyakit (Anthony et al., 2016)

2.3.2 Persinyalan ET-1



Gambar 2.7 Persinyalan ET-1 di Pembuluh Darah

Persinyalan ET-1 di pembuluh darah. Dalam sel endotel, reseptor ET_B digabungkan dengan G₁₃, yang mengaktifkan jalur Rho-kinase, yang mengarah ke penghambatan eNOS. Sebaliknya, aktivasi G_q mengarah ke aktivasi PLC, yang memproses PIP₂ menjadi DAG dan IP₃. IP₃ mengikat reseptornya pada

sarko/endoplasma retikulum, yang kemudian terbuka untuk pelepasan Ca^{2+} . Sinyal Ca^{2+} ini dapat diamplifikasi oleh reseptor ryanodine, yang terbuka setelah deteksi Ca^{2+} sitosolik. Kalsium juga dapat berasal dari ruang ekstraseluler, karena pengosongan penyimpanan SER mengaktifkan saluran kation yang dioperasikan toko, dan DAG dapat mengaktifkan saluran kation yang dioperasikan reseptor, kedua jenis saluran ini memungkinkan masuknya Ca^{2+} . Ca^{2+} sitosolik kemudian mengikat kalmodulin, untuk mengaktifkan calmodulin kinase (CamK) untuk memfosforilasi eNOS dan memulai sintesis NO. eNOS juga dapat diaktifkan dengan fosforilasi dari Akt (yang diaktifkan oleh ETB melalui aktivasi PI-3K yang dimediasi oleh $\text{G}\beta\gamma$). ETB, melalui transaktivasi EGFR dan PKC yang diaktifkan DAG, juga dapat mengaktifkan MAPK. Meskipun yang terakhir dapat menginduksi ekspresi eNOS, aktivasi eNOS yang dimediasi ETB melalui MAPK masih harus dikonfirmasi (Houde et al., 2016).

PI-3K juga dapat memediasi ROCC. Ca^{2+} intraseluler juga mengaktifkan PLA2, yang mengarah ke pembentukan asam arakidonat, sebuah substrat yang dibentuk oleh COX menjadi endoperoksida (PGH_2), yang kemudian diproses menjadi PGI_2 oleh sintase PGI. Jalur pensinyalan serupa terdapat di sel otot polos, di mana CamK, MAPK, dan PI-3K mengaktifkan MLCK untuk menginduksi kontraksi. Aktivasi Rho-kinase (melalui G_{12} for ETA) mengarah pada penghambatan MLCP secara langsung dan melalui aktivasi CPI-17 (aksi terakhir juga dimediasi oleh PKC). Dalam jalur santai, ETA dapat mengaktifkan G_s , untuk memulai pembentukan cAMP dan aktivasi PKA, yang mengaktifkan MLCP (melalui G_i , ETB menghambat aktivasi PKA ini) (Houde et al., 2016).

Aktivasi ETA juga dapat mengaktifkan RyR melalui caADPR. Influx Ca^{2+} dari ruang ekstraseluler disertai dengan Na^+ , yang bersama dengan efluks Cl^- teraktivasi Ca^{2+} , mendepolarisasi membran untuk membuka saluran Ca^{2+} yang dioperasikan dengan voltase untuk membantu mempertahankan masuknya Ca^{2+} . Dengan cara retrokontrol, Ca^{2+} juga dapat mengaktifkan saluran K^+ untuk menghiperpolarisasi membran dan menghambat kontraksi dan pembukaan VOCC. Juga diilustrasikan adalah heterodimerisasi ETA/ETB yang belum sepenuhnya divalidasi (Houde et al., 2016).

2.3.3 Endotelin dan Mikrosirkulasi Ginjal

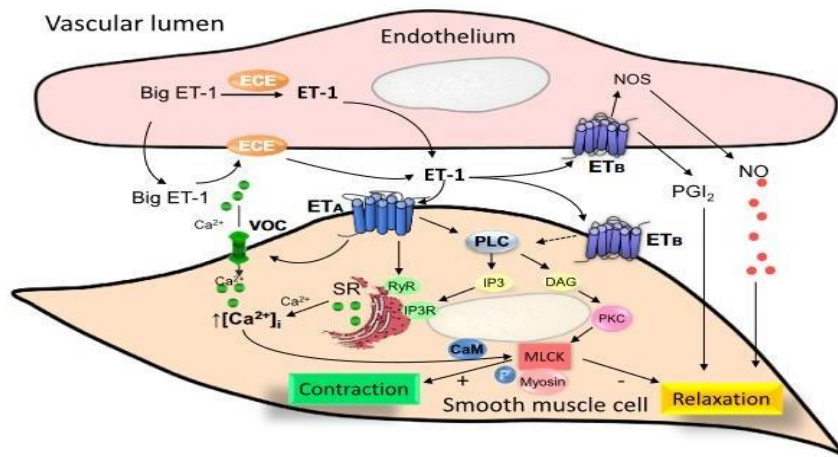
Banyak bukti menunjukkan bahwa ET diproduksi tidak hanya dari endotelium tetapi juga disintesis dan dilepaskan dari tipe sel nonvaskular seperti sel epitel ginjal dan sel mesangial. Ketiga isoform ET (ET-1, ET-2, dan ET-3) terdeteksi di

banyak jaringan. dan organ, termasuk otak, paru-paru, ginjal, dan jantung. Produksi ET oleh ginjal jauh lebih tinggi daripada organ lainnya. Dengan menggunakan radioimmuno-assay, (Kitamura et al 14) menunjukkan bahwa paru-paru dan medula dalam ginjal dari tikus atau babi mengandung tingkat yang jauh lebih tinggi ET dibandingkan dengan organ lain. Kandungan ET-1 mencapai 8,7 pg/mg jaringan basah di medula dalam ginjal tikus, sedangkan kurang dari 1 pg/mg jaringan basah terdeteksi di jaringan lain termasuk korteks ginjal dan medula luar. Tingkat ekspresi ET-1 yang tinggi di medula dalam ginjal menunjukkan peran ET- 1 yang berpotensi penting dalam mengatur keseimbangan natrium dan air dalam kondisi fisiologis dan mungkin dalam mengatur aliran darah medula. Ada juga bukti yang menunjukkan bahwa ET-1 dihasilkan dari sel endotel glomerulus serta mikrovaskulatur ginjal karena ET- besar dan peptida ET-1 dewasa berkolokasi ke area ini. sel otot aorta tikus. Namun, masih belum jelas apakah ET-1 diproduksi oleh sel otot polos mikrovaskular ginjal (Zhengrong et al., 2015).

Peran ET-1 ginjal sebagai agen vasokonstriktor pada tikus obesitas yang berpengaruh pada fungsi ginjal. Studi lain menunjukkan terjadi kenaikan kadar endhotelin-1 plasma obesitas dibandingkan pada orang normal. Jaringan lemak inkubasi jangka panjang meningkatkan efek ET-1 bisa menjadi mekanisme yang berkontribusi terhadap peningkatan lipolisis basal pada obesitas manusia (Dahlan et al, 2020). Disfungsi endotel merupakan langkah awal dalam patogenesis dan perkembangan aterosklerosis. Ada bukti kuat bahwa obesitas menginduksi disfungsi endotel. Oleh karena itu, perhatian besar telah diberikan pada mekanisme yang mendasari endotel disfungsi yang disebabkan oleh obesitas untuk pencegahan dan pengobatan kejadian kardiovaskular (Kajikawa et al., 2022).

ET-1 mengatur resistensi vaskular preglomerulus basal tetapi tidak terlibat langsung dalam autoregulasi ginjal. Hal ini didukung oleh studi micropuncture pada tikus di mana respon tekanan stop-flow terhadap perfusi loop, indeks respon umpan balik tubuloglomerular, tidak terpengaruh oleh dosis pressor ET-1 meskipun terjadi penurunan dramatis dalam aliran darah ginjal dan laju filtrasi glomerulus. Sebaliknya, paparan makula sel densa ke ET-1 tiba-tiba meningkatkan laju filtrasi glomerulus nefron tunggal tanpa perubahan hemodinamik sistemik atau ginjal. ET-1 dapat memengaruhi respons umpan balik tubuloglomerular. Selain itu, penerapan antagonis reseptor ETA/B nonselektif, bosentan, atau penghambat ETB, BQ-788, mengurangi augmentasi autoregulasi

L-NAME,⁶⁷ konsisten dengan temuan *in vivo* di mana reaktivitas miogenik terganggu secara signifikan oleh praperawatan dengan BQ-788.⁶⁸ Hasil ini menyarankan bahwa ET-1 mungkin terlibat dalam mengatur ulang autoregulasi ginjal dengan melepaskan oksida nitrat melalui aktivasi reseptor ETB. Namun, baik ETA maupun Antagonis sendiri atau dalam kombinasi tidak mempengaruhi komponen myogenic autoregulatory inronic angiotensin II yang diinfus tikus yang diberi makan diet tinggi garam (Zhengrong et al., 2015).



Gambar 2.8. Jalur Pensinyalan Intraseluler Untuk ET Dalam Mikrovaskulatur Ginjal

ET-1 dihasilkan dari ET-1 besar yang dikatabolisme oleh ET-converting enzyme (ECE) yang diekspresikan dalam sel endotel. Sebagian besar ET-1 dilepaskan menuju sisi basolateral endotelium. ET-1 bekerja dengan cara parakrin/autokrin untuk memengaruhi fungsi sel otot polos endotel atau vaskular melalui aktivasi reseptor ETA dan ETB. Aktivasi reseptor ETA dalam sel otot polos pembuluh darah meningkatkan konsentrasi kalsium sitosolik ($[Ca^{2+}]_i$) dengan mengaktifkan saluran kalsium bergerbang voltase (VOC), mobilisasi Ca^{2+} dari retikulum sarkoplasma dengan mengaktifkan fosfolipase C, diasilgliserol (DAG), dan inositol trifosfat (IP3), serta jalur cADPR cyclase/ryanodinereceptor (RyR). Aktivasi endotel ETB receptors melepaskan nitric oxide (NO) dan prostaglandin I₂ (PGI₂) yang menyebabkan vasodilatasi. Aktivasi reseptor ETB dalam sel otot polos pembuluh darah memediasi vasokonstriksi melalui mekanisme intraseluler yang tidak terdefinisi (panah putus-putus). CaM, kalmodulin; MLCK, myosinlight chain kinase; PKC, protein kinase C; β , merangsang; -, menghambat (Zhengrong et al., 2015).

Perbedaan yang dicatat sebelumnya mungkin mencerminkan perbedaan dalam kondisi eksperimental atau metode yang digunakan untuk memberikan

obat. ET adalah vaso-konstriktor ginjal paling kuat yang dikenal dan ginjal adalah penghasil utama ET. Studi telah mengidentifikasi beberapa mekanisme dimana ET berkontribusi pada pengaturan fungsi ginjal secara umum, dan fungsi pembuluh darah ginjal pada khususnya. Variasi dalam distribusi dan kepadatan ETA dan ETB di sepanjang pembuluh darah ginjal dapat menghasilkan respons mikrovaskular yang kompleks terhadap ET-1. Sistem ET ginjal mungkin berdampak pada tekanan kapiler glomerulus dan karenanya hemodinamik glomerulus. Pemahaman yang lebih baik tentang bagaimana ETA dan ETB secara berbeda memengaruhi reaktivitas vaskular ginjal terhadap ET-1 akan menjadi penting dalam mengklarifikasi peran ET dalam mengatur hemodinamik ginjal dan fungsi ginjal. Wawasan yang diperoleh akan membantu membimbing uji klinis dalam upaya mengembangkan strategi terapi yang lebih baik untuk pencegahan atau pengobatan hipertensi atau penyakit ginjal terkait iskemia (Zhengrong et al., 2015).

2.3.4 Peran Umum dari Endothelin

ET-1 berperan sebagai isoform vaskular dominan dengan efek pengaturan terbesar pada tonus pembuluh darah dan merupakan bagian integral dalam pengaturan patofisiologi ginjal dan kardiovaskular. ET-1 memberikan efek melalui jalur pensinyalan autokrin, parakrin dan endokrin dan mengatur katekolamin dan sistem renin-angiotensin-aldosteron (RAAS). ET memiliki beberapa reseptor dan masing-masing reseptor berfungsi berbeda, dalam pembuluh darah, pengikatan ETA memicu vasokonstriksi dan mitogenesis, menyebabkan proliferasi seluler dan mesangial dengan fibrosis. Aktivasi ETA juga melepaskan katekolamin adrenal dan meningkatkan inotropi, meningkatkan tekanan darah. Aktivasi ETB memberikan efek anti-hipertensi melalui vasodilatasi dari prostaglandin, NO, dan natriuresis serta efek anti-mitogenik, yang menghambat proliferasi dan peradangan sel (Zhong et al., 2016)

ET-1, salah satu dari tiga anggota keluarga endothelin dan dikenal sebagai vasokonstriktor endotel yang paling kuat, selain itu memiliki peran patofisiologi sentral dalam disfungsi endotel. Tindakan biologis ET-1 dimediasi oleh dua sub tipe reseptor spesifik, yang dikenal sebagai reseptor endothelin tipe A (ETA) dan tipe B (ETB). Bioaktivitas ET-1 yang berlebihan telah dianggap sebagai kontributor dalam patogenesis hipertensi esensial, kerusakan vaskular, dan penurunan perfusi otot rangka yang menyebabkan resistensi insulin (Umberto et al., 2014).

ET-1 memiliki peran yang jelas dalam proliferasi sel, disfungsi podosit,

peradangan dan fibrosis. Antagonisme reseptor ETA telah terbukti meningkatkan aliran darah ginjal dan mengurangi tekanan glomerulus. Ini juga mengurangi kehilangan podosit, ekspansi mesangial, dan albuminuria (Kajikawa et al., 2022). ET-1 yang diproduksi di nefron ginjal mengatur ekskresi natrium dan air dan oleh karena itu kemungkinan besar menjadi faktor yang berkontribusi terhadap efek samping utama yang terkait dengan antagonis reseptor ET, yaitu retensi cairan. Ada penelitian yang sedang berlangsung untuk memahami mekanismenya karena ada beberapa tindakan biologis yang mungkin berkontribusi. Kelebihan produksi ET dalam kondisi patofisiologis dari endotelium dan sumber seluler lainnya dapat menyebabkan penyempitan pembuluh darah dalam kondisi seperti PAH (Davenport et al., 2016).

2.3.5 Endotelium pada Penderita Obesitas dan Non Obesitas

Fungsi vasodilator endotel (ukuran tidak langsung pembentukan NO oleh endotelium) menjadi terganggu pada orang dewasa yang sehat setelah memulai diet tinggi lemak Individu dengan dislipidemia, resistensi insulin, hipertensi, dan kardiovaskular lainnya dan memiliki faktor risiko disfungsi vasodilator endotel. Gangguan fungsi endotel oleh faktor risiko kardiovaskular memulai proses aterosclerosis dan disfungsi endotel yang persisten berkontribusi terhadap perkembangan aterosclerosis (John et al., 2020).

ET-1 adalah peptida vasoaktif yang diproduksi dan dilepaskan oleh sel endotel. ET-1 yang bersirkulasi berasal dari sel endotel vaskular, dengan fakta terbaru menunjukkan disintesis oleh adiposit. ET-1 dilepaskan sebagian besar ke ruang interstitial, tetapi juga ke tingkat yang lebih rendah ke dalam sirkulasi. Reseptor terletak di berbagai jaringan, termasuk endotelium, sel otot polos pembuluh darah, adiposit dan hepatosit. Sekresi ET-1 membantu mempertahankan tonus pembuluh darah basal dan fungsi metabolisme pada individu sehat. Akan tetapi peningkatan kadar ET-1 plasma dapat menyebabkan masalah terutama pada obesitas dan IR (Haley et al., 2020).

Pada saat obesitas PVAT melepaskan mediator inflamasi yang menyebabkan teraktivasi sistem endotelin-1 dan menyebabkan vasokonstriksi sedangkan pada kondisi sehat, adiponektin disekresi oleh PVAT yang merangsang pembentukan NO pada sel endotel. Selain itu, mediator inflamasi seperti TNF- α bersama dengan non-esterified fatty acid (NEFA) yang juga merupakan molekul adipokin berperan penting terhadap terjadinya resistensi insulin pada obesitas, dimana NEFA melemahkan PI3-kinase dan TNF- α menghambat fosforilasi

IRS-1, yang pada gilirannya ikut berpartisipasi dalam meningkatkan kadar insulin plasma (Virdis 2016).

Pada penderita obesitas secara metabolik "tidak sehat", didefinisikan sebagai adanya setidaknya satu kelainan glukosa atau lipid karakteristik dari sindrom metabolik, memiliki gangguan pada respon terhadap asetilkolin, dibandingkan dengan non obesitas. Peningkatan vasokonstriksi yang bergantung pada endotelin (ET)-1 berkaitan dengan obesitas vaskulopati yaitu peningkatan tonus vasokonstriktor, terkait terutama dengan peningkatan aktivitas ET-1 sistem (Schinzari et al., 2016)

2.3.6 Endothelin Ginjal pada Penderita Obesitas dan Non Obesitas

Di ginjal, ET-1 adalah regulator yang diinduksi stres yang diproduksi oleh endotelium vaskular, sel mesangial, dan epitel tubular dengan jumlah aktivitas terbesar yang diekspresikan oleh sel utama di saluran pengumpul meduler. Aktivasi ET dapat meningkatkan perkembangan penyakit ginjal kronis (PGK) melalui jalur pro-fibrotic yang dimediasi ET-1 dan ETA, berperan dalam penyakit seperti nefropati diabetik (DN), nefropati hipertensi, segmental fokal. glomerular sclerosis (FSGS), dan penyakit ginjal polikistik dominan autosomal (ADPKD) (Raina et al., 2019). peningkatan produksi ET-1 telah ditemukan pada beberapa penyakit yang terkait dengan CKD termasuk diabetes dan resistensi insulin, obesitas, dan dislipidemia.

Endotelin disintesis di seluruh ginjal di mana mereka mengatur aliran darah, reabsorpsi air dan natrium dan keseimbangan asam-basa. Pembuluh darah ginjal sangat sensitif terhadap ET-1 dan, oleh karena itu, memainkan peran penting dalam patogenesis hipertensi arteri dan ginjal (Barton et al., 2019)

Dahlan et al (2020) yang menemukan bahwa, peningkatan kadar ET-1 menyebabkan disfungsi ginjal, termasuk hiperfiltrasi glomerulus, retensi natrium, pembesaran ruang Bowman, peningkatan proliferasi sel glomerulus, ekspansi matriks mesangial, infiltrasi sel inflamasi, dan lesi tubulointerstitial dan terjadi perubahan pada ginjal yang menyebabkan lesi yang lebih intens dan menyebar di ginjal, seperti glomerulosklerosis segmental fokal, proteinuria, dan lesi tubulointerstitial. ET-1 juga terlibat dalam mekanisme patofisiologis dalam glomerulus yang berkontribusi terhadap podosituria dan proteinuria dalam berbagai bentuk masalah ginjal kronis seperti nefropati diabetik. efek ET-1 dapat memperparah cedera ginjal, peningkatan asupan garam menginduksi produksi ET-1 di tubulus ginjal yang menghambat saluran Na^+ epitel (EnaC) sehingga

mengurangi reabsorpsi tubulus dan berkontribusi terhadap natriuresis (Miguel et al 2016).

Pengikatan ET-1 pada ETA merangsang fibroblas ginjal, mendorong peningkatan sintesis matriks ekstraseluler, menginduksi produksi kolagen, dan proliferasi sel mesangial dengan sekresi fibronektin dan pembentukan jaringan parut kolagen tipe IV. Pengasaman sistemik merangsang produksi ET-1 ginjal, menyebabkan sekresi asam di nefron proksimal dan distal sebagai respon kompensasi. Disfungsi ginjal progresif semakin memperburuk asidosis metabolik dan sekresi ET-1 berkontribusi terhadap perkembangan CKD melalui proliferasi yang dimediasi ET-1 dan ETA (Raina et al., 2019).

Penelitian yang dilakukan oleh Haslidah et al., 2020 menunjukkan bahwa perbedaan yang signifikan antara kelompok obesitas dan kelompok kontrol sesudahnya diberi makan selama 63 hari dan pemeliharaan sampai siang hari sebelum dihentikan (175 hari). Ada peningkatan yang signifikan dalam indeks Lee dari kelompok obesitas dibandingkan dengan kelompok kontrol. Selain itu, penelitian lain telah menunjukkan efek vasokonstriksi kuat dari ET-1 pada pembuluh darah ginjal. ET-1 eksogen telah mengakibatkan penurunan GFR, peningkatan fraksi filtrasi, serta retensi natrium dan cairan.

Studi sebelumnya mengungkapkan bahwa obesitas mendukung penyebab langsung gagal ginjal kronik. Efek ini juga diduga memiliki hubungan yang kuat dengan peran ET-1 sebagai agen vasokonstriktor pada tikus obesitas yang berpengaruh pada fungsi ginjal. peningkatan yang signifikan dalam kadar ET-1 plasma pada pasien obesitas. Jaringan lemak inkubasi jangka panjang meningkatkan efek ET-1 bisa menjadi mekanisme yang berkontribusi terhadap peningkatan lipolisis basal pada obesitas manusia. Disarankan bahwa ET-1 memainkan peran penting dalam mengatur fungsi ginjal (Dahlan et al., 2020).

Peningkatan stres ET-1 dan ER pada penyakit ginjal, seperti DN dan cedera ginjal akut karena kontras, iskemia/reperfusi, atau syok septik. Peningkatan ET yang diproduksi oleh sel endotel ginjal akan mempengaruhi disfungsi kerja ginjal. Sehingga hal ini tentunya memiliki kaitan dengan peningkatan kadar lemak didalam tubuh pada penderita obesitas yang menyebabkan juga peningkatan sel endotelin. Lipolisis lipoprotein kaya trigliserida secara signifikan meningkatkan produksi ROS dalam sel endotel dengan mengaktifkan NOX2. Dengan demikian pelepasan asam lemak bebas selama lipolisis lipoprotein kaya trigliserida dapat berkontribusi pada disfungsi sel endotel yang diinduksi lipoprotein lipoprotein kaya

trigliserida (Atila, 2017).

2.3.7 Mekanisme Kerja Endotelin-1

ET-1 memiliki sistem kerja secara autokrin dan parakrin. Interaksi ET-1 dengan reseptornya memberikan efek pada sel target dengan mengaktifkan protein G dan merangsang aktivasi *phospholipase C* dan mengawali terbentuknya *inositol 1, 4, 5 triphosphat* dan pembentukan *diglyceride* dari membran *inositides*. Pembentukan *inositol 1, 4, 5 triphosphat* menyebabkan efek peningkatan pelepasan ion Ca^{2+} dari retikulum endoplasma dan mengaktifkan protein *kinase C* dan menyebabkan proliferasi sel sehingga berefek pada penyempitan pembuluh darah (Al-karim et al., 2010).

Sedangkan pada ETA, pengikatan endotelin-1 dengan ETB menyebabkan aktivasi *phospholipase C* sama dengan reseptor ETA serta aktivasi *inositol 1,4,5 triphosphat* dan *diglyceride* dan meningkatkan lepasnya ion Ca^{2+} , namun reseptor ETB mengaktifkan protein C inhibitor dan menghambat terbentuknya cincin siklik AMP dan mengaktifkan Na^{+}/H^{+} *pump*. Proses ini menyebabkan NO terlepas pada sel endotel dan menyebabkan vasodilatasi (Al-karim et al., 2010).

2.4 Tinjauan Puasa

Puasa berarti pembatasan asupan makanan padat. Berdasarkan latar belakang adat, budaya, atau agama, ada jenis puasa berkala yang diterapkan di seluruh dunia. Dalam pengobatan kuno, puasa adalah metode pengobatan yang ditetapkan sejak Hippocrates. Sejak itu, telah direkomendasikan oleh sebagian besar sekolah kedokteran Eropa yang lebih tua untuk pengobatan penyakit akut dan kronis. Konsumsi makanan frekuensi orang modern cenderung sudah lama periode asupan energi harian dan periode puasa pendek, dan diet tinggi kalori dan gaya hidup yang tidak banyak bergerak memengaruhi tubuh metabolisme dan meningkatkan kejadian obesitas, diabetes, penyakit kardiovaskular, stroke, dan demensia dari tahun ke tahun (Wang et al., 2022). Puasa menyebabkan sel-sel untuk menggunakan energy cadangan yang tersimpan seperti glikogen di hati maupun di otot sebagai sumber energi. Simpanan lemak di jaringan adipose dapat berkurang sehingga dapat menurunkan berat badan (Nencioni et al., 2018).

Studi telah menunjukkan bahwa puasa alternatif selama 8 sampai 12 minggu menyebabkan penurunan konsentrasi kolesterol LDL (20- 25%) dan

konsentrasi triasilgliserol (15-30%), dan peningkatan ukuran partikel LDL. Uji coba puasa alternatif dengan durasi 3 hingga 12 minggu ternyata efektif dalam mengurangi kolesterol dan trigliserida pada obesitas. Puasa sepanjang hari berlangsung 12 sampai 24 minggu juga memperbaiki lemak darah (5%–Pengurangan kolesterol total 20% dan pengurangan 17%–50. Hasil penelitian diatas secara bersama-sama menunjukkan bahwa puasa berkala dapat menurunkan lipid darah. Pergeseran dari preferensial sintesis lipid dan penyimpanan untuk mobilisasi lemak biasanya terjadi ketika glikogen di hepatosit habis (12-36 jam setelah puasa dimulai), dan kecepatan lipolisis dalam jaringan adiposa meningkat (Wang et al.,2022).

Alternate day fasting cenderung kehilangan 10 hingga 15 pon dalam tiga bulan, yang lebih dari apa yang biasanya terlihat dengan jenis puasa intermiten lainnya seperti pemberian makan yang dibatasi waktu, yang membatasi periode makan ke jendela waktu tertentu setiap hari. Studi Varady juga menunjukkan penurunan tekanan darah dan resistensi insulin, setelah puasa. Puasa ini juga dapat mempromosikan autophagy, pembersihan sel yang mendalam yang memungkinkan tubuh Anda membuang sel-sel tua yang rusak dan menggantinya dengan yang baru dan segar (Park et al., 2020).

Penelitian kami sebelumnya menemukan bahwa puasa alternatif dapat melemahkan gangguan kognitif terkait diabetes dengan mengatur "gut-brain sumbu". ADF secara signifikan meningkatkan integritas penghalang usus dengan meningkatkan ekspresi Claudin-1 dan mengubah komposisi mikroba / metabolit usus. Ada beberapa laporan yang menunjukkan puasa atau intermiten puasa memiliki efek menguntungkan pada perkembangan kolitis (Zhang et al., 2020).

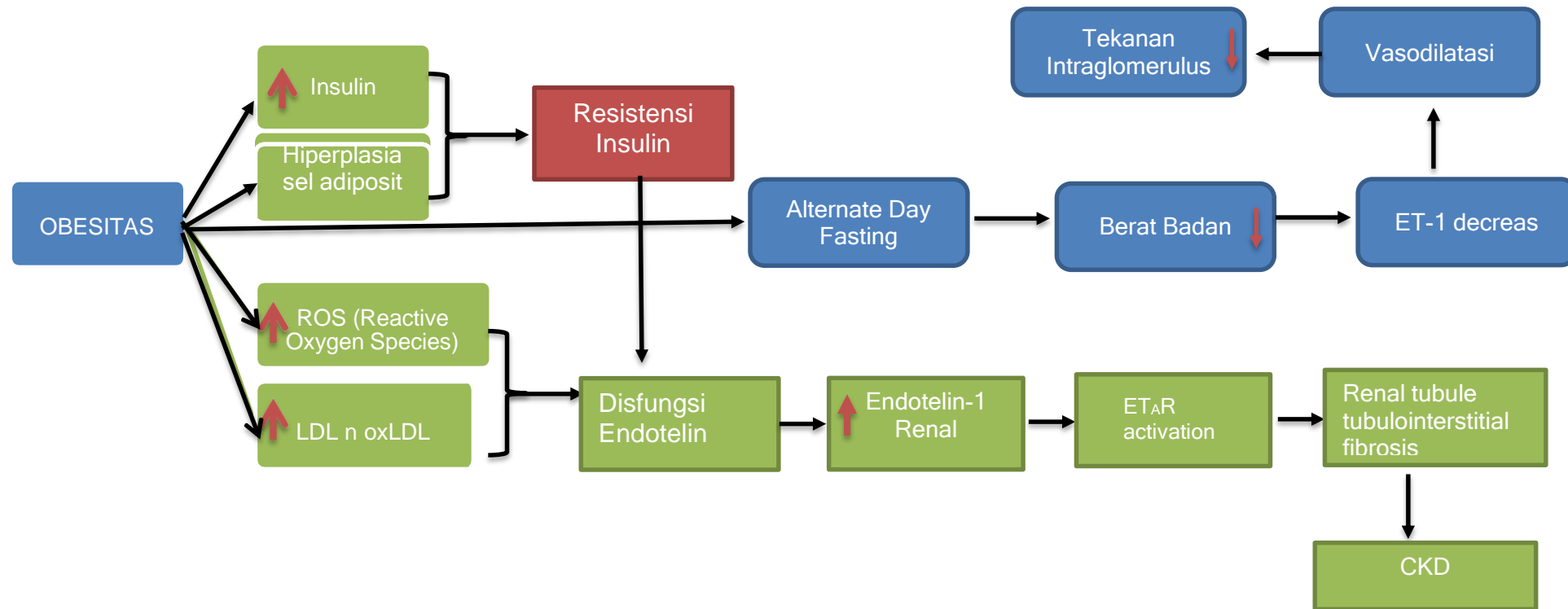
2.5 ADF dan Penurunan Berat Badan

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Naous et all (2023) menunjukkan bahwa waktu makan, selain kandungan makanan, dapat mempengaruhi perkembangan penyakit kronis. Puasa dengan metode ADF telah terbukti dan telah mendapatkan daya tarik sebagai pendekatan diet untuk membantu menurunkan berat badan mengurangi resiko diabetes, dislipidemia, CKD dan pengurangan risiko kardiovaskular. ADF mencapai efek ini dengan mengurangi lemak visceral melalui defisit energi, sehingga meningkatkan rasio leptin/adiponektin dan dapat mengontrol nafsu makan. Selain itu, pengurangan adipositas dan peradangan kronis berkontribusi terhadap penurunan resistensi insulin.

ADF memiliki efek dalam memediasi perubahan jalur metabolisme dan proses seluler seperti resistensi stres, lipolisis dan autophagy yaitu suatu

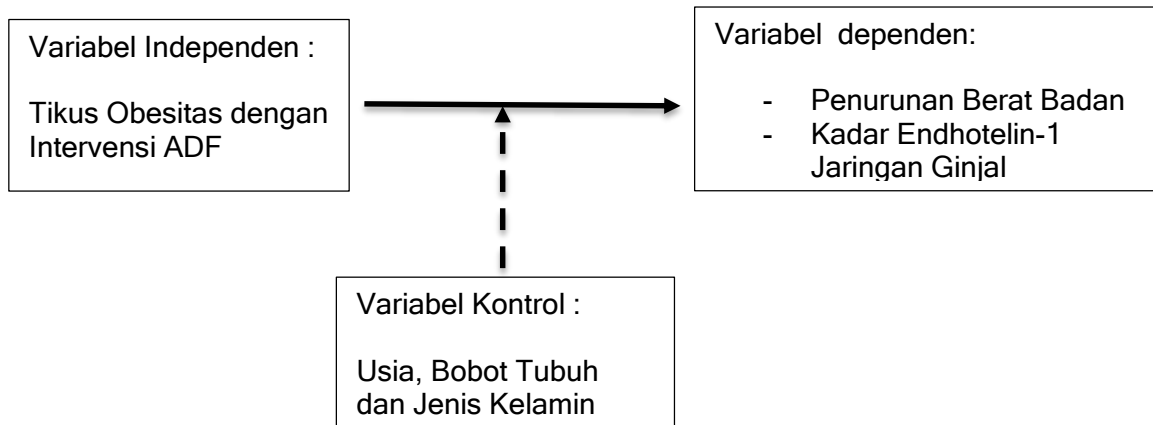
mekanisme penguraian atau degradasi terhadap bagian-bagian sel yang sudah tidak berfungsi. ADF memungkinkan subjek untuk mengonsumsi asupan energi ad libitum dalam jangka waktu tertentu (dari 3–4 jam hingga 10–12 jam), yang berarti puasa 12–21 jam per hari. ADF membatasi asupan kalori tidak dikontrol dengan cara mengurangi waktu makan hanya dengan 8 jam dengan 16 jam puasa. ADF dengan puasa 16 jam dan pemberian makan selama 8 jam, dapat bermanfaat dalam melatih ketahanan individu untuk meningkatkan biomarker terkait kesehatan, mengurangi massa lemak, dan menjaga massa otot (Moro et al, 2016).

2.6 Kerangka teori

**Keterangan :**

- LDL = low density lipoprotein
- ox-LDL = oxidized low-density lipoproteins

2.7 Kerangka konseptual



2.8 Hipotesis penelitian

Adapun hipotesis kerja yaitu : alternate day fasting menyebabkan penurunan berat badan dan kadar endhotelin-1 renal tikus wistar jantan obesitas