

PENGARUH INTERMITTENT FASTING PADA KADAR TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA DAN INTERLEUKIN 6 TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG DIBERIKAN PAPARAN LIPOPOLISAKARIDA

Fafi Rahma Tillah, Fitria Nugraha Aini¹, Muhammad Zainul Fadli^{2*}
Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Lipopolisakarida (LPS) dari *Escherichia coli* memicu respons inflamasi sistemik melalui aktivasi makrofag dan neutrofil memicu pelepasan sitokin proinflamasi seperti tumor necrosis factor- α (TNF- α) dan interleukin-6 (IL-6). Peningkatan kadar sitokin ini berpotensi menyebabkan kerusakan jaringan. Intermittent fasting (IF) diketahui memiliki potensi sebagai strategi modulasi sistem imun dengan menekan respons inflamasi. Namun, data empiris yang membandingkan efektivitas berbagai protokol IF dalam menurunkan kadar TNF- α dan IL-6 masih terbatas, khususnya pada model hewan yang dipapar LPS. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh berbagai protokol IF terhadap kadar TNF- α dan IL-6 pada tikus Wistar yang telah dipapar LPS.

Metode: Penelitian ini merupakan studi eksperimental in vivo dengan rancangan *post-test only control group design*. Subjek penelitian terdiri dari 32 ekor tikus Wistar berusia 8–12 minggu dengan berat badan 180–250 gram. Tikus dibagi ke dalam empat kelompok: KN (Kelompok Normal/kontrol tanpa IF), P1 (IF 16 jam puasa setiap hari), P2 (IF 16 jam puasa dua hari sekali), P3 (IF 16 jam puasa tiga hingga empat hari sekali). Seluruh kelompok perlakuan diberikan paparan LPS. Setelah intervensi IF dan paparan LPS, kadar TNF- α dan IL-6 dalam serum diukur. Analisis data dilakukan menggunakan uji Two-way ANOVA yang dilanjutkan dengan uji Tukey, dengan tingkat signifikansi $p < 0,05$.

Hasil: Paparan LPS secara signifikan meningkatkan kadar TNF- α pada tikus Wistar. Kadar TNF- α menunjukkan berbeda signifikan pada kelompok P1 ($101,46 \pm 35,02$) dengan kelompok KN ($37,44 \pm 14,05$) ($p < 0,05$). Pada kelompok IF setiap hari (P1) jantan dan betina, kadar TNF- α tertinggi ditemukan, yakni $127,48 \pm 5,68$ pg/mL (jantan) dan $75,44 \pm 0,97$ pg/mL (betina). Penurunan kadar TNF- α diamati pada kelompok P2 (dua hari sekali) dengan nilai $97,66 \pm 11,57$ pg/mL (jantan) dan $24,60 \pm 3,69$ pg/mL (betina), serta lebih lanjut pada kelompok P3 (tiga-empat hari sekali), masing-masing $57,77 \pm 5,98$ pg/mL (jantan) dan $17,20 \pm 4,11$ pg/mL (betina), yang mendekati kadar kelompok kontrol (jantan: $36,32 \pm 4,10$ pg/mL; betina: $38,55 \pm 21,90$ pg/mL). Sementara kadar IL-6 menunjukkan tidak berbeda signifikan pada kelompok KN ($9,87 \pm 1,52$) jika dibandingkan dengan kelompok P1, P2, P3 ($8,65 \pm 0,71$) ($8,58 \pm 0,89$) ($10,38 \pm 0,35$) ($p < 0,05$). Kadar IL-6 pada tikus jantan relatif stabil antar kelompok ($8,75 \pm 1,23$ hingga $10,88 \pm 0,40$ pg/mL), sedangkan pada tikus betina, penurunan signifikan IL-6 ditemukan pada kelompok P2 ($6,28 \pm 1,17$ pg/mL) dibanding kelompok kontrol ($9,22 \pm 2,18$ pg/mL). Uji statistik menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$).

Kesimpulan: Intermittent fasting setiap hari justru meningkatkan respons inflamasi pasca paparan LPS, sementara IF dengan frekuensi dua hingga empat hari sekali lebih efektif dalam menurunkan kadar TNF- α dan IL-6, khususnya pada tikus betina

Kata Kunci: Intermittent Fasting, TNF- α , IL-6, Lipopolisakarida, *Escherichia coli*

*Korespondensi: Muhammad Zainul Fadli, (zainul.fadli@unisma.ac.id)

Jl. MT. Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65144

THE EFFECT OF INTERMITTENT FASTING ON TUMOR NECROSIS FACTOR (TNF- α) AND INTERLEUKIN 6 (IL-6) LEVELS IN WISTAR RATS (*Rattus norvegicus*) EXPOSED TO LIPOPOLYSACCHARIDES.

Fafi Rahma Tillah, Fitria Nugraha Aini¹, Muhammad Zainul Fadli^{2*}
Faculty of Medicine, Islamic University of Malang

ABSTRACT

Introduction: Lipopolysaccharide (LPS) from *Escherichia coli* triggers a systemic inflammatory response through the activation of macrophages and neutrophils, resulting in the release of proinflammatory cytokines such as Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) and Interleukin-6 (IL-6), which have the potential to cause tissue damage. Intermittent fasting (IF) has shown promise as a non-pharmacological strategy for immune modulation by suppressing inflammatory responses. Currently, there is little empirical data directly comparing the effectiveness of various intermittent fasting protocols in affecting TNF- α and IL-6 levels in LPS-induced Wistar rats. This study aimed to examine the effects of various IF protocols on TNF- α and IL-6 levels in male and female Wistar rats exposed to LPS.

Methods: in vivo, this study was laboratory-based experimental research using a post-test only control group design. A total of 32 male and female Wistar rats, aged 8–12 weeks and weighing 180–250 grams, were randomly assigned to four treatment groups. All groups received LPS exposure. The groups were as follows: control group (KN), IF with 16 hours fasting/8 hours eating daily (P1), IF every 2 days (P2), and IF every 3–4 days (P3). Following the intervention period and LPS administration, serum levels of TNF- α and IL-6 were measured. Data were analyzed using Two-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test, with a significance level set at $p < 0.05$.

Results: LPS exposure significantly increased TNF- α levels in Wistar rats. There was a significant difference in TNF- α levels between the P1 group (101.46 ± 35.02) and the KN group (37.44 ± 14.05) ($p < 0.05$). The highest TNF- α levels were found in the daily intermittent fasting (IF) group (P1), at 127.48 ± 5.68 pg/mL for males and 75.44 ± 0.97 pg/mL for females. A decrease in TNF- α levels was observed in the P2 group (fasting every two days), with values of 97.66 ± 11.57 pg/mL (males) and 24.60 ± 3.69 pg/mL (females). This decline was more pronounced in the P3 group (fasting every three to four days), with levels of 57.77 ± 5.98 pg/mL (males) and 17.20 ± 4.11 pg/mL (females), which approached the control group's levels (males: 36.32 ± 4.10 pg/mL; females: 38.55 ± 21.90 pg/mL). Conversely, IL-6 levels showed no significant difference in the KN group (9.87 ± 1.52) when compared to groups P1, P2, and P3 (8.65 ± 0.71 , 8.58 ± 0.89 , and 10.38 ± 0.35 , respectively) ($p < 0.05$). However, IL-6 levels in male rats were relatively stable across all groups (8.75 ± 1.23 to 10.88 ± 0.40 pg/mL), while a significant decrease was found in female rats in the P2 group (6.28 ± 1.17 pg/mL) compared to the control group (9.22 ± 2.18 pg/mL). The statistical analysis indicated a significant difference among the treatment groups ($p < 0.05$).

Conclusion: Daily intermittent fasting enhanced the inflammatory response following LPS exposure, whereas intermittent fasting with longer intervals (every 2 to 4 days) was more effective in reducing TNF- α and IL-6 levels.

Keywords: Intermittent Fasting, TNF- α , IL-6, Lipopolysaccharide, *Escherichia coli*.

PENDAHULUAN

Infeksi bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*) merupakan masalah kesehatan global yang penting karena sering menyebabkan berbagai penyakit serius, seperti infeksi saluran kemih (ISK), gangguan saluran pencernaan, hingga sepsis yang berpotensi fatal.^{1,2} Di Indonesia, *E. coli* menjadi penyebab utama ISK dengan prevalensi yang tinggi, terutama pada perempuan dewasa dan lanjut usia.³ Tantangan pengobatan semakin besar akibat meningkatnya kasus *E. coli* yang resisten terhadap antibiotik, sehingga diperlukan strategi baru untuk mengatasi dampak infeksi dan komplikasi yang ditimbulkannya.

Salah satu komponen utama dari *E. coli* adalah lipopolisakarida (LPS), yang dikenal sebagai agen pemicu inflamasi yang kuat melalui aktivasi sistem imun.^{4,5} LPS berikatan dengan reseptor TLR4 pada sel imun, memicu pelepasan sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-6.⁶ Kedua sitokin ini berperan penting dalam respon imun akut dan kronis, namun produksi berlebihan dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan syok septik.⁷ Model hewan dengan paparan LPS, seperti tikus Wistar Jantan dan betina, banyak digunakan untuk meneliti mekanisme inflamasi dan efektivitas intervensi terapeutik, termasuk pendekatan gaya hidup seperti *intermittent fasting* (IF).⁸

Intermittent fasting adalah pola makan pada periode puasa tertentu yang terbukti memberikan efek anti-inflamasi dan metabolik, antara lain dengan menurunkan kadar TNF- α dan IL-6.^{9,10} Mekanisme IF meliputi penghambatan jalur sinyal inflamasi NF- κ B,¹¹ peningkatan autofagi,¹² serta pengurangan stres oksidatif.¹³ Berbagai penelitian menunjukkan IF, terutama jenis puasa alternatif (ADF), puasa periodik (PF), dan pemberian makan terbatas waktu (TRF), efektif menurunkan biomarker inflamasi pada hewan dan manusia.¹⁴ Namun hasil penelitian mengenai efek IF terhadap TNF- α dan IL-6 masih bervariasi, sehingga diperlukan kajian lebih lanjut untuk membandingkan efektivitas masing-masing metode IF.

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji lebih dalam dan membandingkan tiga metode IF, IF (16F/8E Setiap hari), IF (16F/8E 2hari sekali), IF (16F/8E 3-4 hari sekali) dalam menurunkan kadar TNF- α dan IL-6 pada tikus Wistar yang dipaparkan LPS. Dengan pendekatan ini, diharapkan dapat diperoleh pemahaman yang lebih mendalam mengenai mekanisme anti-inflamasi IF serta rekomendasi spesifik terkait pola puasa yang paling efektif sebagai strategi pengendalian inflamasi akibat infeksi bakteri Gram-negatif seperti *E. coli*

METODE PENELITIAN

Desain, Waktu, Kelayakan Etik dan Lokasi Penelitian

Penelitian eksperimental laboratorium ini menggunakan *post-test only control design* secara *in vivo* ini dilaksanakan di Satwa Sehat Indonesia. Yang telah lulus Uji Kelayakan Etik dan dibuktikan dengan SK kelayakan etik No. 107/LE.003/VII01/2025. Proses penelitian berlangsung selama tiga bulan, dimulai pada Januari 2025 hingga Maret 2025.

Sampel dan Perlakuan Hewan Coba

Hewan coba yang dipakai pada penelitian ini merupakan tikus jenis Wistar jantan dan betina yang berusia delapan minggu dan memiliki berat 180 hingga 250 gram. Dalam penelitian ini, hewan coba terbagi kedalam empat kelompok perlakuan : Kelompok kontrol (KN), IF(16 F/E Setiap hari), IF(16F/E 2 hari sekali), dan IF(16 F/E 3-4 hari sekali. Besarnya sampel ditentukan dengan menerapkan rumus Federer.

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

$$(n-1)(4-1) \geq 15$$

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

$$3n-3 \geq 15$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

Keterangan:

n: Jumlah sampel per kelompok

p: Jumlah perlakuan dalam penelitian

Banyak sampel yang diperlukan dalam 1 kelompok adalah 8 ekor dengan pembagian 4 jantan dan 4 betina. Pada kelompok KN, berperan sebagai kontrol tanpa penerapan protokol puasa intermiten (IF). Pada Kelompok ADF, tikus menjalani IF dengan jendela puasa 16 jam dan jendela makan 8 jam setiap hari, Kelompok PF menerapkan protokol yang sama tetapi hanya setiap dua hari sekali, sedangkan Kelompok TRF hanya menjalani puasa 16 jam per hari setiap tiga-empat hari sekali. Perlakuan dilakukan selama 6 minggu setelah dilakukan aklimatisasi 7 hari. Selama perlakuan, tikus diletakkan pada *single cage* dengan pemberian minum secara *ad libitum*. Berat badan dan jumlah asupan pakan diukur 2 hari sekali.

Pengorbanan dan Pengambilan Sampel Hewan

Pengorbanan tikus dilakukan pada hari ke-15 atau minggu ke-2 setelah perlakuan selesai. Sebelum dilakukan pengorbanan, tikus diberikan anestesi ketamin secara intraperitoneal. Sampel darah diambil melalui vena lateralis pada ekor tikus, yang merupakan metode minimal invasif sehingga dapat meminimalkan rasa sakit dan stres pada hewan.

Pengukuran Kadar Tumor Necrosis Factor-Alpha(TNF- α) Dengan ELISA READER (DIA TEK DR-200BC)

Serum tikus diambil dari darah vena ekor, dibiarkan menggumpal 30 menit, lalu disentrifugasi 1.000–2.000×g selama 10 menit; serum disimpan ≤ –70 °C hingga analisis, kemudian 50 μ L dimasukkan ke dalam sumur pelat 96-sumur berlapis antibodi penangkap TNF α , bersama standar TNF α yang diserialkan duplikat. Setelah penambahan sampel dan standar, pelat diinkubasi suhu ruang 90–120 menit, dicuci 4–6 kali, ditambah deteksi antibodi berlabel biotin (100 μ L), diinkubasi 60 menit, dicuci ulang, lalu ditambah streptavidin HRP (100 μ L), diinkubasi 30–60 menit, dan dicuci kembali. Substrat TMB (100 μ L) ditambahkan, diinkubasi 15–30 menit hingga muncul warna biru, proses dihentikan dengan asam hingga kuning, dan serapan dibaca pada 450 nm (referensi 540–570 nm) dalam ≤ 30 menit. Rata-rata serapan duplikat standar dan dikurangi blanko, kurva standar dibuat dengan regresi log-logistik 4PL/5PL, konsentrasi TNF α sampel diinterpolasi dari kurva standar dan dikalikan faktor pengenceran jika ada, serta sampel di luar jarak standar diulang setelah penyesuaian pengenceran.

Pengukuran Kadar Interleukin 6 (IL-6) Dengan ELISA READER (DIA TEK DR-200BC)

Serum tikus diperoleh dari darah vena ekor yang dibiarkan menggumpal 30 menit lalu disentrifugasi pada 1.000–1.500×g selama 10–15 menit dan disimpan pada suhu ≤ –20 °C hingga digunakan; sebanyak 50 μ L serum dan standar IL-6 yang diserial dalam duplikat dimasukkan ke dalam sumur pelat 96-sumur berlapis antibodi penangkap IL-6, kemudian diinkubasi 2–4,5 jam pada suhu ruang sesuai petunjuk kit. Setelah inkubasi, pelat dicuci 4–6 kali dengan wash buffer, ditambahkan deteksi antibodi berlabel biotin dan diinkubasi 1 jam, lalu dicuci ulang; selanjutnya streptavidin HRP dimasukkan dan diinkubasi 30–60 menit, diikuti pencucian sekali untuk menghilangkan reagen yang tidak terikat. Substrat TMB (100 μ L) ditambahkan dan diinkubasi 15–30 menit hingga muncul warna biru, reaksi dihentikan dengan stop solution hingga berubah kuning, lalu serapan dibaca pada 450 nm (dengan referensi 570–630 nm) dalam ≤ 30 menit pasca-reaksi. Data dianalisis dengan membuat kurva standar (7,8–1.000 pg/mL), kemudian nilai serapan duplikat dikoreksi dan digunakan untuk interpolasi konsentrasi IL-6 sampel berdasarkan model regresi 4PL atau 5PL.

Analisis Data

Data hasil pengamatan dan perhitungan akan dianalisis menggunakan software statistik SPSS. Data ditampilkan berbentuk rerata $\pm$ SD. Setelah uji normalitas dan homogenitas selesai, data dievaluasi

menggunakan metode Two-Way ANOVA untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan. Jika ditemukan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$), maka akan dilakukan uji lanjut (*post hoc analysis*) berupa uji Tukey guna menentukan kelompok mana yang menunjukkan perbedaan signifikan tersebut.

HASIL PENELITIAN

Karakteristik Sampel

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus Wistar jantan dan betina, hewan coba akan dibagi ke dalam beberapa kelompok, di mana setiap kelompok terdiri dari 8 (delapan) ekor tikus Wistar. Selain itu, dalam setiap kandang, tikus dibedakan berdasarkan jenis kelamin, yaitu 4 ekor betina dan 4 ekor jantan. Hewan coba yang digunakan adalah tikus Wistar berusia 8-12 minggu dengan berat badan 150–180 gram. Informasi mengenai karakteristik sampel pada penelitian ini ditampilkan pada **TABEL 5.1**.

Tabel .1 Karakteristik Sampel Penelitian

Kelompok	Jenis Kelamin		Jumlah	Berat Badan (gram)	Usia (minggu)
	Jantan	Betina			
KN (Kontrol)	4 ekor	4 ekor	8 ekor	150-180g/ekor	8-12
P1 (IF Setiap Hari)	4 ekor	4 ekor	8 ekor	150-180g/ekor	8-12
P2 (IF 2 Hari Sekali)	4 ekor	4 ekor	8 ekor	150-180g/ekor	8-12
P3 (IF 3-4 Hari Sekali)	4 ekor	4 ekor	8 ekor	150-180g/ekor	8-12

Pengaruh *Intermittent Fasting* Pada Kadar Serum TNF- α Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Yang Diberikan Paparan Lipopolisakarida.

Perubahan kadar TNF- α setelah 14 hari perlakuan *intermittent fasting* dengan paparan LPS pada tiap kelompok dapat dilihat pada **TABEL.2**

Tabel.2 Pengaruh *Intermittent Fasting* Pada Kadar TNF- α Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Yang Diberikan Paparan Lipopolisakarida.

Kelompok	Jantan $\pm$ SD (pg/ml)	Betina $\pm$ SD (pg/ml)	Rerata $\pm$ SD (pg/ml)
KN(Kontrol)	36,32 $\pm$ 4,10 ^a	38,55 $\pm$ 21,90 ^{ab}	37,44 $\pm$ 14,05

P1(IF Setiap Hari)	127,48 ± 5,68 ^d	75,44 ± 0,97 ^b	101,46 ± 35,02
P2(IF 2 Hari Sekali)	97,66 ± 11,57 ^c	24,60 ± 3,69 ^a	61,13 ± 32,08
P3(IF 3-4 Hari Sekali)	57,77 ± 5,98 ^b	17,20 ± 4,11 ^a	37,49 ± 5,05

Keterangan:

Perbedaan notasi huruf menunjukkan signifikansi ($p < 0,05$)

Terdapat tiga jenis perlakuan *intermittent fasting* (IF), yaitu puasa 16 jam setiap hari (P1), dua hari sekali (P2), dan tiga hingga empat hari sekali (P3). Kelompok kontrol negatif (KN) tidak diberikan perlakuan IF. Pada hasil rata rata perlakuan jantan dan betina menunjukkan bahwa kelompok kontrol (KN), Kadar TNF- α pada kelompok P1, dan P2 menunjukkan perbedaan yang signifikan, kadar TNF- α meningkat drastis dari 37,44 pg/mL (KN) menjadi 101,46 pg/mL (P1) ($p < 0,05$), lalu menurun bertahap di P2 (61,13 pg/mL) dan P3 (37,49 pg/mL) ($p < 0,05$). Dengan P3 mulai mendekati nilai kontrol, namun tetap lebih tinggi dari KN. Sementara itu pada tikus jantan kadar TNF- α meningkat secara signifikan. Pada tikus jantan, kadar TNF- α naik tajam dari 36,32 pg/mL pada kelompok kontrol menjadi 127,48 pg/mL pada P1 ($p < 0,05$). Selanjutnya, kadar ini menurun secara bertahap pada P2 (97,66 pg/mL) dan P3 (57,77 pg/mL) ($p < 0,05$), meskipun tetap lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol. Pada tikus betina, pola perubahan sedikit berbeda. Kadar TNF- α meningkat dari 38,55 pg/mL KN menjadi 75,44 pg/mL ($p < 0,05$) pada P1, kemudian menurun pada P2 (24,60 pg/mL), dan pada P3 (17,20 pg/mL) ($p < 0,05$) nilainya mendekati kadar pada kelompok kontrol.

Efek *Intermittent Fasting* Pada Kadar Serum IL-6 Tikus Wistar(*Rattus norvegicus*) Yang Diberikan Paparan Lipopolisakarida.

Perubahan kadar IL-6 setelah 14 hari perlakuan *intermittent fasting* dengan paparan LPS pada tiap kelompok dapat dilihat pada TABEL.3

Tabel.1 Pengaruh *Intermittent Fasting* Pada Kadar IL-6 Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Yang Diberikan Paparan Lipopolisakarida.

Kelompok	Jantan ± SD (pg/ml)	Betina ± SD (pg/ml)	Rerata ± SD (pg/ml)
KN(Kontrol)	10,51 ± 0,86 ^{ab}	8,55 ± 0,16 ^{ab}	9,87 ± 1,52
P1(IF Setiap Hari)	8,75 ±	6,28 ±	8,65 ±

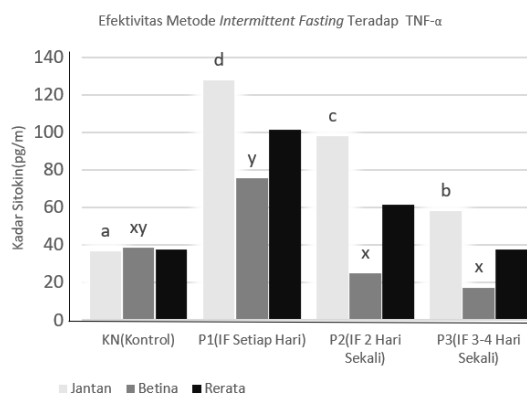
Hari)	1,23 ^{ab}	1,17 ^a	0,71
P2(IF 2 Hari Sekali)	10,88 ± 0,40 ^b	11,39 ± 0,32 ^c	8,58 ± 0,89
P3(IF 3-4 Hari Sekali)	9,36 ± 0,38 ^a	9,22 ± 2,18 ^{bc}	10,38 ± 0,35

Keterangan:

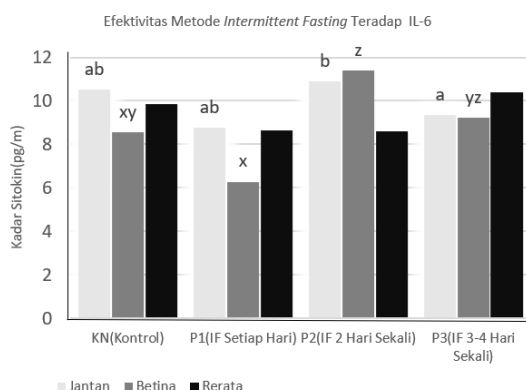
Perbedaan notasi huruf menunjukkan signifikansi ($p < 0,05$)

Pada hasil rata-rata kadar IL-6 gabungan antara tikus jantan dan betina menunjukkan bahwa perbedaan antar kelompok tidak terlalu mencolok. Kelompok kontrol (KN) memiliki kadar IL-6 sebesar 9,87 pg/mL. Pada kelompok P3, kadar IL-6 sedikit meningkat menjadi 10,83 pg/mL ($p < 0,05$). Sementara itu, pada kelompok P1 (8,65 pg/mL) dan P2 (8,58 pg/mL) ($p < 0,05$), terjadi sedikit penurunan dibandingkan kontrol, namun nilainya masih berada di kisaran yang hampir sama. Dengan demikian, perubahan kadar IL-6 pada ketiga kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3) tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan bila dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pada tikus jantan, kadar IL-6 meningkat dari 10,51 pg/mL (KN) menjadi 11,39 pg/mL ($p < 0,05$) di P3, sedangkan pada P1 (8,75 pg/mL) dan P2 (10,88 pg/mL) ($p < 0,05$) nilainya lebih rendah atau hampir setara dengan kontrol (KN). Pada tikus betina, kadar IL-6 di P1 (8,55 pg/mL) dan P3 (9,36 pg/mL) mendekati kontrol (9,22 pg/mL) ($p < 0,05$), namun menurun signifikan di P2 (6,28 pg/mL) ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa P3 memberikan respons inflamasi paling tinggi pada jantan, sedangkan pada betina, perlakuan di P2 justru menurunkan kadar IL-6 dibanding kontrol.

Efektivitas Metode *Intermittent Fasting* Terhadap Kadar Menurunkan Kadar TNF- α Dan IL-6 Pada Tikus Wistar Yang Dipapar LPS.



Gambar. 1 Histogram Efektivitas Metode IF Terhadap kadar TNF-a Yang Diberikan Injeksi Lipopolisakarida



Gambar. 2 Histogram Efektivitas Metode IF Terhadap kadar IL-6 Yang Diberikan Injeksi Lipopolisakarida

Pada **Gambar 5. 1** dan **Gambar 5. 2** Menunjukkan bahwa pola *intermittent fasting* memiliki pengaruh yang berbeda terhadap kadar sitokin inflamasi pada tikus Wistar yang diinduksi dengan LPS. Hasil diatas menunjukkan bahwa *intermittent fasting* dengan pola puasa 3-4 hari sekali (P3) paling efektif menurunkan kadar TNF- α pada tikus Wistar yang diberi paparan lipopolisakarida, yang ditunjukkan dengan kadar nilainya yang mendekati kadar pada kelompok kontrol (KN). Sebaliknya, kelompok IF setiap hari (P1) justru mengalami peningkatan signifikan kadar TNF- α , yang menunjukkan bahwa puasa harian dapat memperparah kondisi inflamasi. Sedangkan pola IF dua hari sekali (P2) menampilkan kadar TNF- α yang lebih rendah dari P1 namun masih lebih tinggi dari kontrol, sehingga efektivitasnya dalam pengendalian inflamasi berada di tengah-tengah. Untuk kadar IL-6, perubahan antar kelompok relatif kecil dan cenderung fluktuatif tanpa perbedaan yang signifikan, dengan kecenderungan penurunan pada P1 dan P2 serta sedikit peningkatan pada P3.

PEMBAHASAN

Karakteristik Sampel

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus Wistar jantan dan betina berusia 8 minggu dengan pertimbangan bahwa hewan ini memiliki daya adaptasi yang baik di lingkungan.¹⁵ Pemilihan usia tikus 8-12 minggu dikarenakan tikus sudah dewasa dan semua organ reproduksi telah matang.¹⁶ Pemilihan hewan coba tikus wistar dikarenakan tikus wistar memiliki karakteristik genetik dan fisiologis yang stabil, respons imun yang mirip dengan manusia serta reaktivitas yang konsisten terhadap LPS.¹⁷

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap kadar sitokin proinflamasi TNF- α dan IL-6 pada tikus jantan dan betina yang diinduksi dengan lipopolisakarida (LPS). LPS merupakan komponen utama dari dinding sel bakteri gram negatif yang mampu memicu respon inflamasi sistemik melalui aktivasi reseptor TLR-4. Aktivasi ini akan menstimulasi sel-sel imun seperti makrofag untuk menghasilkan sitokin proinflamasi, termasuk TNF- α dan IL-6, yang berperan penting dalam mekanisme peradangan.¹⁸

Efek *Intermittent Fasting* Terhadap Kadar TNF- α Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Yang Diberikan Paparan Lipopolisakarida.

Pada tikus jantan, hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok P1 mengalami peningkatan kadar TNF- α yang paling tinggi dibandingkan dengan kelompok lain, yaitu sebesar $127,48 \pm 5,68$. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan P1 tidak mampu menghambat efek proinflamasi LPS, tetapi pada hasil penelitian ini berakibat memperparah efek proinflamasi LPS. TNF- α sendiri merupakan sitokin utama yang dilepaskan dalam fase awal inflamasi dan berperan besar dalam menstimulasi jalur inflamasi sistemik. Sebaliknya, kelompok P3 menunjukkan penurunan kadar TNF- α yang signifikan hingga mendekati kadar kelompok kontrol (KN). Hal ini mengindikasikan bahwa perlakuan P3 memiliki potensi sebagai agen antiinflamasi, kemungkinan melalui mekanisme penghambatan ekspresi NF- κ B, yaitu faktor transkripsi utama yang mengatur produksi TNF- α .^{19,23}

Pada tikus betina, pola yang terlihat sedikit berbeda dibandingkan jantan. Kelompok P1 juga menunjukkan peningkatan kadar TNF- α , namun tidak setinggi kelompok jantan. Ini mungkin disebabkan oleh pengaruh hormon estrogen yang diketahui dapat menekan produksi TNF- α melalui peningkatan pelepasan sitokin antiinflamasi seperti IL-10.⁷ Menariknya, kadar TNF- α pada kelompok P2 dan P3 menurun tajam hingga mendekati atau bahkan lebih rendah dari kelompok kontrol. Hal ini mengindikasikan bahwa perlakuan P2 dan P3 memiliki efek antiinflamasi yang lebih kuat pada betina dibanding jantan.

Sementara itu, hasil penelitian lain menunjukkan bahwa puasa intermiten dapat menurunkan kadar sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-6, dan IL-1 β , baik pada hewan maupun manusia, serta menekan aktivitas inflamasi di jaringan tubuh. Studi oleh Almeneessier dkk. (2019) juga membuktikan bahwa puasa intermiten secara signifikan menurunkan kadar sitokin proinflamasi tanpa mengganggu ritme sirkadian sitokin tersebut, sehingga puasa intermiten berpotensi menekan peradangan sistemik dan memberikan efek perlindungan terhadap kerusakan jaringan akibat inflamasi.²⁶

Peningkatan kadar TNF- α yang sangat tinggi pada kelompok P1 menunjukkan bahwa respon inflamasi pada kelompok ini justru menjadi paling parah dan paling baik dibandingkan kelompok lain. Hal ini dapat terjadi karena puasa intermiten yang dilakukan setiap hari tanpa jeda adaptasi dapat menyebabkan stres metabolik dan fisiologis yang berat pada tubuh.²⁴ Stres tersebut memicu aktivasi sistem imun secara berlebihan, sehingga ketika tubuh terpapar LPS, produksi sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α meningkat tajam. Penelitian oleh Longo & Mattson (2014) menyatakan bahwa puasa intermiten yang terlalu intens atau tanpa fase refeeding yang

cukup dapat mengganggu sistem homeostasis imun dan meningkatkan kerentanan terhadap inflamasi akut setelah paparan endotoksin seperti LPS, karena tubuh belum sempat beradaptasi sehingga respon imun menjadi tidak seimbang dan cenderung hiperaktif.²⁴ Selain itu, beberapa hasil penelitian juga melaporkan bahwa puasa intermiten tanpa jeda adaptasi dapat meningkatkan respons inflamasi, termasuk produksi TNF- α , setelah paparan LPS, akibat stres fisiologis yang memicu pelepasan hormon stres dan mengaktifkan jalur inflamasi lebih tinggi dari normal.²⁵ Dengan demikian, semakin parahnya peningkatan TNF- α pada kelompok P1 disebabkan oleh stres metabolik dan gangguan adaptasi imun akibat puasa intermiten harian tanpa jeda, sehingga tubuh merespons LPS dengan inflamasi yang jauh lebih tinggi dibandingkan kelompok lain.

Efek Intermitten Fasting Terhadap Kadar Serum IL-6 Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diberikan Paparan Lipopolisakarida.

Sementara itu, hasil penelitian pada kadar IL-6 tikus wistar jantan tidak menunjukkan perubahan mencolok antar kelompok. Nilai tertinggi ditemukan pada kelompok P2, namun secara umum nilai IL-6 relatif stabil. Hal ini menunjukkan bahwa jalur IL-6 tidak banyak terpengaruh oleh perlakuan, atau bisa jadi karena waktu pengambilan sampel tidak sesuai dengan puncak ekspresi IL-6. IL-6 merupakan sitokin yang kompleks karena dapat bertindak sebagai proinflamasi maupun antiinflamasi tergantung pada konteks dan jenis reseptor yang teraktivasi.²⁰

Namun, pola kadar IL-6 pada tikus betina menunjukkan hasil yang berbeda. Kelompok P2 memiliki kadar IL-6 terendah, yang menunjukkan bahwa perlakuan ini efektif menekan jalur inflamasi IL-6. Akan tetapi, kelompok P3 justru menunjukkan kadar IL-6 tertinggi, meskipun kadar TNF- α pada kelompok ini telah menurun. Peningkatan IL-6 ini dapat diartikan sebagai kompensasi biologis ketika jalur TNF- α ditekan, atau karena aktivasi jalur trans-sinyaling IL-6 yang berkaitan dengan regenerasi dan pemulihan jaringan.²¹

Perbandingan antara tikus jantan dan betina secara keseluruhan menunjukkan adanya perbedaan respons imun yang signifikan. Tikus jantan cenderung memiliki kadar TNF- α yang lebih tinggi dalam kondisi inflamasi, menandakan respon inflamasi sistemik yang lebih kuat. Sebaliknya, tikus betina tampak lebih responsif terhadap efek antiinflamasi dari perlakuan, terutama dalam menurunkan TNF- α . Namun, kadar IL-6 pada betina lebih fluktuatif, terutama pada kelompok P3, yang menunjukkan peningkatan. Hal ini menunjukkan bahwa respons imun pada betina lebih kompleks dan mungkin dipengaruhi oleh regulasi hormonal, di mana estrogen diketahui dapat meningkatkan ekspresi IL-6 pada kondisi tertentu.¹⁹

Efektivitas Metode Intermittent Fasting Terhadap Kadar Menurunkan Kadar TNF- α Dan IL-6 Pada Tikus Wistar Yang Dipapar LPS.

Gambar 5. 1 dan gambar 5.2 menunjukkan bahwa pola *intermittent fasting* memberikan pengaruh yang berbeda terhadap kadar sitokin inflamasi TNF- α dan IL-6 pada tikus Wistar yang diinduksi LPS. Pola IF dengan puasa 3-4 hari sekali (P3) terbukti paling efektif dalam menurunkan kadar TNF- α sehingga mendekati kadar pada kelompok kontrol (KN), sedangkan IF harian (P1) justru meningkatkan kadar TNF- α secara signifikan, menunjukkan bahwa frekuensi puasa yang terlalu rapat dapat memperburuk kondisi inflamasi. Kelompok IF dua hari sekali (P2) menunjukkan kadar TNF- α yang lebih rendah dari P1 namun masih lebih tinggi dari kontrol, menempatkan efektivitas pengendalian inflamasi di posisi sedang. Untuk IL-6, perubahan antar kelompok relatif kecil dan fluktuatif tanpa perbedaan signifikan, dengan kecenderungan penurunan pada P1 dan P2 serta sedikit peningkatan pada P3.

Temuan ini sejalan dengan berbagai studi yang mendukung pengaruh interval waktu puasa terhadap modulasi inflamasi. Studi oleh Vasconcelos et al. (2014) pada tikus menunjukkan bahwa *intermittent fasting* mampu menekan peningkatan TNF- α akibat paparan LPS secara signifikan, sebagian melalui penghambatan jalur TLR4 dan NF- κ B yang mengatur ekspresi sitokin proinflamasi. Selain itu, Wu et al. (2022) melaporkan bahwa penerapan IF dua kali seminggu pada model tikus *acute lung injury* mengurangi kadar TNF- α , IL-6, dan IL-1 β serta memperbaiki kerusakan jaringan paru-paru melalui mekanisme penekanan aktivitas NF- κ B dan pengurangan reaktivitas sel netrofil. Pola IF yang tidak terlalu rapat memberikan waktu adaptasi imun dan metabolik yang optimal sehingga respons inflamasi tidak berlebihan, hal ini sejalan dengan penurunan TNF- α pada kelompok P3 pada hasil penelitian ini.

Sedangkan pada *Interleukin-6*, karakteristik respons IL-6 juga telah dilaporkan dalam penelitian-penelitian terdahulu. IL-6 tidak hanya berperan sebagai mediator proinflamasi tetapi juga antiinflamasi dan pengatur regenerasi jaringan, yang dipengaruhi oleh faktor hormon dan kondisi fisiologis yang kompleks, khususnya pada tikus betina. Penelitian klinis pada manusia juga menunjukkan bahwa IF, seperti puasa Ramadan, dapat menurunkan kadar IL-6 secara signifikan tanpa mengganggu ritme sirkadian sitokin tersebut, namun efek ini cenderung variatif dan bergantung pada konteks puasa serta status metabolik individu. Hal ini menjelaskan mengapa dalam penelitian ini kadar IL-6 lebih fluktuatif dan tanpa perbedaan signifikan antar kelompok IF.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisa data dan pembahasan dalam penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa:

1. *Intermittent fasting* dengan jeda waktu 3-4 hari sekali terbukti efektif menurunkan kadar TNF- α pada tikus jantan dan betina, menunjukkan potensi antiinflamasi yang kuat.
2. Tikus betina menunjukkan respons inflamasi yang lebih kompleks dengan peningkatan IL-6 pada perlakuan *Intermittent fasting* 3-4 hari sekali, kemungkinan terkait regulasi hormonal.
3. *Intermittent fasting* 2 hari sekali dan *Intermittent fasting* 3-4 Hari Sekali menunjukkan efektivitas untuk menurunkan kadar TNF-a dan IL-6.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, perlu dilakukan :

1. Dalam peneitian lanjutan *Intermittent fasting* 3-4 hari sekali berpotensi dapat menjadi upaya pencegahan dan pengelolaan inflamasi sehingga metode ini dapat diterapkan secara klinis dengan tepat dan maksimal manfaatnya.
2. Melakukan penelitian dengan mempertimbangkan ulang jika akan menggunakan tikus betina, dikarenakan tikus betina memiliki siklus hormonal yang sangat kuat, sehingga disarankan untuk menggunakan tikus jantan sebagai subjek peneltian selanjutnya.

Ucapan Terima Kasih

Sehubungan atas perannya sebagai peer reviewer, penulis berterimakasih kepada drh. M.Zainul Fadli, M.Kes, dan kepada FK UNISMA serta Ikatan Orang Tua Mahasiswa FK UNISMA yang sudah memberikan pendanaan riset.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HLT. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*. 2004 Feb;2(2):123–40.
2. Russo T. Medical and economic impact of extraintestinal infections due to *Escherichia coli*: focus on an increasingly important endemic problem. *Microbes and Infection* [Internet]. 2003 Apr;5(5):449–56. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1286457903000492>
3. Pitout JD, Laupland KB. Extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: an emerging public-health concern. *The Lancet Infectious Diseases* [Internet]. 2008 Mar;8(3):159–66.
4. Marianingsih. Lipopolisakarida (LPS) *Escherichia coli* sebagai Endotoksin dan Perannya dalam Respon Imun. Malang: Universitas Brawijaya; 2012.
5. Kuswantoro. Karakteristik Lipopolisakarida *Bradyrhizobium japonicum* KDR 15. Bogor: Institut Pertanian Bogor; 2012.
6. Medzhitov R. Recognition of microorganisms and activation of the immune response. *Nature* [Internet]. 2007 Oct;449(7164):819–26. Available from: <https://www.nature.com/articles/nature06246>
7. Takeuchi O, Akira S. Pattern Recognition Receptors and Inflammation. *Cell*. 2010 Mar;140(6):805–20.
8. Ji M, Lu Y, Zhao C, Gao W, He F, Zhang J, et al. C5a Induces the Synthesis of IL-6 and TNF- α in Rat Glomerular Mesangial Cells through MAPK Signaling Pathways. Nakano H, editor. *PLOS ONE*. 2016 Sep 1;11(9):e0161867.
9. de Cabo R, Mattson MP. Effects of Intermittent Fasting on Health, Aging, and Disease. Longo DL, editor. *New England Journal of Medicine* [Internet]. 2019 Dec 26;381(26):2541–51. Available from: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMra1905136>
10. Hari Y, Dugovič B, Istrate A, Fignolé A, Leumann CJ, Schürch S. The Contribution of the Activation Entropy to the Gas-Phase Stability of Modified Nucleic Acid Duplexes. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*. 2016 Apr 14;27(7):1186–96.
11. de Cabo R, Mattson MP. Effects of Intermittent Fasting on Health, Aging, and Disease. Longo DL, editor. *New England Journal of Medicine* [Internet]. 2019 Dec 26;381(26):2541–51.
12. Mizushima N, Levine B. Autophagy in Human Diseases. Longo DL, editor. *New England Journal of Medicine*. 2020 Oct 15;383(16):1564–76.
13. Longo Valter D, Mattson Mark P. Fasting: Molecular Mechanisms and Clinical Applications. *Cell Metabolism*. 2014 Feb;19(2):181–92.
14. Youm YH, Nguyen KY, Grant RW, Goldberg EL, Bodogai M, Kim D, et al. The ketone metabolite β -hydroxybutyrate blocks NLRP3 inflammasome-mediated inflammatory disease. *Nature Medicine*. 2015 Feb 16;21(3):263–9.
15. Tenri Zulfa Ayu Dwi Putri, Ristanti Putri Findrayani, Muhammad Isrul, Nikeherpianti Lolok. *Studi Molecular Docking Senyawa*

- Kimia Dari Herba Putri Malu (*Mimosa pudica*) Terhadap Inhibisi Enzim A-Glukosidase Sebagai Antidiabetes Melitus. *Jurnal Pharmacia Mandala Waluya*. 2024 Aug 31;3(4):225–33.
16. Sengupta P. The laboratory rat: Relating its age with human's. *Int J Prev Med*. 2013;4(6):624–30.
 17. Arfan, M., & Wijayahadi, N. (2016). *Respons inflamasi tikus terhadap paparan lipopolisakarida (LPS)*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
 18. Dinarello, C. A. (2000). Proinflammatory cytokines. *Chest*, 118(2), 503–508.
 19. Klein, S. L., & Flanagan, K. L. (2016). Sex differences in immune responses. *Nature Reviews Immunology*, 16(10), 626–638.
 20. Opal, S. M., & DePalo, V. A. (2000). Anti-inflammatory cytokines. *Chest*, 117(4), 1162–1172.
 21. Scheller, J., Chalaris, A., Schmidt-Arras, D., & Rose-John, S. (2011). The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1813(5), 878–888.
 22. Straub, R. H. (2007). The complex role of estrogens in inflammation. *Endocrine Reviews*, 28(5), 521–574.
 23. Zhao, L., Lee, J. Y., & Hwang, D. H. (2018). Inhibition of pattern recognition receptor-mediated inflammation by bioactive phytochemicals. *Nutrition Reviews*, 79(3), 166–179.
 24. Longo Valter D, Mattson Mark P. Fasting: Molecular Mechanisms and Clinical Applications. *Cell Metabolism*. 2014 Feb;19(2):181–92.
 25. de Cabo R, Mattson MP. Effects of Intermittent Fasting on Health, Aging, and Disease. Longo DL, editor. *New England Journal of Medicine* [Internet]. 2019 Dec 26;381(26):2541–51.
 26. Almeneessier AS, BaHammam AA, Alzoghaibi M, Olaish AH, Nashwan SZ, BaHammam AS. The effects of diurnal intermittent fasting on proinflammatory cytokine levels while controlling for sleep/wake pattern, meal composition and energy expenditure. Oster H, editor. *PLOS ONE*. 2019 Dec 10;14(12):e0226034.