

EFEK PENGATURAN ASUPAN KALORI TERHADAP KADAR INSULIN SERUM DAN RESISTENSI INSULIN (HOMA-IR) TIKUS WISTAR

Ahmad Asyari Fasya, Rima Zakiyah, Yudi Purnomo*
Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Pengaturan asupan kalori merupakan strategi untuk mencegah obesitas yang berperan terhadap terjadinya resistensi insulin. Hingga saat ini penelitian dengan metode kombinasi pengaturan asupan kalori pada individu normal belum banyak dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pengaturan asupan kalori terhadap kadar insulin serum dan resistensi insulin (HOMA-IR) tikus *Wistar* jantan.

Metode: Penelitian quasi experimental laboratorium dengan rancangan *post only control design*. Penelitian ini menggunakan tikus *Wistar* jantan berusia 8 minggu dengan berat badan 150-160 gram yang dibagi menjadi kelompok kontrol, 3 kelompok pengaturan asupan kalori, dan 1 kelompok asupan kalori berlebih ($n = 5$ ekor). Pengukuran kadar insulin serum dan resistensi insulin (HOMA-IR) dilakukan dengan metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) dan glucometer. Data dianalisis menggunakan uji One Way Anova, kemudian uji LSD, dengan nilai $p < 0,05$ dikatakan signifikan.

Hasil: Pengaturan asupan kalori menurunkan kadar insulin serum dan HOMA-IR berturut-turut sekitar 50-60% ($p < 0,05$), dan 30-40% ($P < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok kontrol. Asupan kalori berlebih meningkatkan kadar insulin serum dan HOMA-IR berturut-turut sekitar 4 kali lipat ($p < 0,05$) dan 6 kali lipat ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Simpulan: Kombinasi metode pengaturan asupan kalori puasa intermittent- restriksi kalori dan metode diet restriksi kalori lebih kuat menurunkan kadar Insulin serum dan HOMA-IR dibandingkan tanpa pengaturan asupan kalori.

Kata Kunci : *Puasa Intermiten; Restriksi Kalori; Asupan Berlebih; Insulin Serum; HOMA-IR*

*Korespondensi:

Yudi Purnomo

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

+62-341-578920

yudi.purnomo@unisma.ac.id

EFFECTS OF CALORIC INTAKE REGULATION ON SERUM INSULIN LEVELS AND INSULIN RESISTANCE (HOMA-IR) IN WISTAR RATS.

Ahmad Asyari Fasya, Rima Zakiyah, Yudi Purnomo*
Faculty of Medicine, Islamic University OC Malang

ABSTRACT

Introduction: Caloric intake regulation is a strategy to prevent obesity, which plays a role in the development of insulin resistance. To date, there have been few studies utilizing a combination of caloric intake regulation methods in normal individuals. This study aims to determine the effects of caloric intake regulation on serum insulin levels, insulin resistance (HOMA-IR) in male *Wistar* rats.

Method: This study was a quasi-experimental laboratory research with a post-only control design. Eight-week-old male *Wistar* rats weighing 150–160 grams were used and divided into a control group, three caloric regulation groups, and one excessive caloric intake group ($n = 5$ per group). Serum insulin levels and HOMA-IR were measured using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method and a glucometer. Data were analyzed using one-way ANOVA followed by an LSD test, with a p -value of < 0.05 considered statistically significant.

Results: Caloric intake regulation decreased serum insulin and HOMA-IR levels by about 50-60% ($p < 0.05$), and 30-40% ($P < 0.05$), respectively compared to the control group. Excess calorie intake increased serum insulin and HOMA-IR levels by about 4-fold ($p < 0.05$) and 6-fold ($p < 0.05$) respectively compared to the control group.

Conclusion: The combination of caloric intake regulation and caloric regulation method is more powerful in reducing serum Insulin and HOMA-IR levels than without caloric intake regulation.

Keywords: *Intermittent Fasting; Caloric Restriction; Excess Intake; Serum Insulin; HOMA-IR*

*Korespondensi:

Yudi Purnomo

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

+62-341-578920

yudi.purnomo@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Asupan kalori berlebih yang berlangsung kronis tanpa kompensasi pengeluaran energi memadai menjadi penyebab utama obesitas, suatu kondisi kompleks dan kronis dengan akumulasi lemak berlebih (BMI ≥ 30 kg/m²). Di Indonesia, prevalensi obesitas terus meningkat, dari 15,3% pada tahun 2013 menjadi 23,4% pada tahun 2023.^{1,2} Secara global, obesitas berkontribusi terhadap sekitar 2,8 juta kematian setiap tahun akibat komplikasi terkait.³ Penumpukan lemak tubuh tidak hanya menyebabkan obesitas, tetapi juga menjadi faktor pemicu resistensi insulin yang berperan dalam patogenesis berbagai penyakit metabolik.

Obesitas terutama akumulasi lemak visceral, merupakan faktor risiko utama resistensi insulin. Jaringan adiposa berlebih berperan sebagai organ endokrin yang dapat memproduksi sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-6, yang mengganggu pensinyalan insulin melalui penurunan fosforilasi IRS, peningkatan stres oksidatif, dan inflamasi kronis tingkat rendah.^{4,5} Selain itu, deposisi lemak ektopik di hati dan otot menghambat transport glukosa yang dimediasi GLUT4.⁶ Oleh karena itu, pengaturan pola makan menjadi strategi penting dalam pencegahan resistensi insulin.⁷

Pengaturan kalori melalui metode Puasa intermiten (PI) dan restriksi kalori (RK), merupakan pendekatan diet efektif dalam mencegah resistensi insulin dan obesitas. PI mengatur asupan berdasarkan siklus puasa-makan, yang berkontribusi pada penurunan glikolisis, peningkatan sensitivitas insulin, dan pengurangan apoptosis sel β pankreas.^{8,9} RK, yang mengurangi kalori tanpa menyebabkan malnutrisi, memperbaiki metabolisme energi dan meningkatkan ekspresi GLP-1 serta PDX-1, mendukung sekresi insulin.¹⁰ Selain itu, RK mengurangi stres oksidatif melalui aktivasi SIRT3 dan SOD2, serta terbukti menurunkan kadar glukosa, insulin, dan HOMA-IR secara signifikan.¹¹

Kombinasi antara Puasa intermiten (PI) dan restriksi kalori (RK) diprediksi lebih efektif dalam menurunkan obesitas dan resistensi insulin dibandingkan jika diterapkan secara terpisah. Pendekatan ini berpotensi menjadi strategi yang lebih optimal dan yang tidak merespons terhadap metode tunggal. Namun, penelitian mengenai efek kombinasi PI dan RK

pada individu sehat data yang dipaparkan belum cukup sehingga perlu studi lebih lanjut untuk mengevaluasi potensi pencegahan resistensi insulin melalui pendekatan gabungan tersebut.

METODE PENELITIAN

Desain, Tempat dan Waktu Penelitian

Riset ini termasuk quasi eksperimental laboratorium dengan metode *post only control design* yang bertujuan untuk mengetahui efek PI, RK, dan kombinasi PI-RK terhadap kadar insulin dan HOMA-IR tikus wistar jantan. Riset ini dilakukan pada November 2024 – Januari 2025 di Klinik Hewan Satwa Sehat Tidar Malang. Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian (*Animal Care and Use Committee*) Universitas Brawijaya dengan nomor sertifikasi 132-KEP-UB-2024.

Sampel dan Perlakuan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian adalah tikus jenis Wistar jantan dengan usia 8 minggu serta berat badan tikus berkisar 150-160 gram. Jenis kelamin tikus yang dipilih adalah jantan karena untuk menghindari adanya pengaruh hormonal.¹² Pada penelitian ini, hewan coba dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan : Kelompok kontrol (KN), PI, RK, Kombinasi PI-RK, dan AB. Besarnya sampel ditentukan dengan menerapkan rumus Federer.

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

$$(5 - 1)(n - 1) \geq 15$$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$n \geq 4,75$$

Keterangan :

p = Jumlah perlakuan

n = Jumlah sampel dalam 1 kelompok

Jumlah sampel yang diperlukan dalam 1 kelompok adalah 5 ekor. Pada kelompok KN, tikus diberikan pakan normal 10% BB tanpa puasa. Kelompok PI diberi perlakuan 8 jam makan dan 16 jam puasa dengan jumlah pakan normal 10% BB. Kelompok RK diberikan pakan sebanyak 5% BB tanpa puasa. Kelompok kombinasi PI-RK diberikan perlakuan makan 8 jam dan 16 jam puasa dengan jumlah pakan 5% BB. Sementara kelompok AB diberikan pakan sebesar 20% BB tanpa puasa. 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 3 hari sekali.

Pengukuran Kadar Insulin Serum

Kadar insulin dalam serum dianalisis menggunakan metode sandwich ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) dengan perangkat ELISA reader Diatek DR-200BC. Sebanyak 40 μ L serum dimasukkan ke dalam sumur mikrotiter, diikuti dengan penambahan 10 μ L antibodi spesifik dan 50 μ L streptavidin yang terkonjugasi dengan enzim horseradish peroxidase (HRP). Campuran tersebut dihomogenkan selama satu menit, kemudian ditutup dengan perekat dan diinkubasi selama satu jam pada suhu 37°C. Setelah proses inkubasi selesai, perekat dilepas dan sumur dicuci lima kali menggunakan larutan pencuci (wash buffer), lalu dikeringkan dengan kertas penyerap.¹³

Tahap berikutnya adalah penambahan masing-masing 50 μ L larutan substrat A dan B ke dalam sumur, yang kemudian diinkubasi selama 30 menit dalam kondisi tertutup untuk mencegah paparan cahaya. Reaksi dihentikan dengan penambahan 50 μ L larutan penghenti (stop solution) di setiap sumur. Pembacaan hasil dilakukan menggunakan ELISA reader pada panjang gelombang 450 nm untuk menentukan nilai kerapatan optik (optical density/OD).¹³

Pengukuran HOMA-IR

Pengukuran HOMA-IR dilakukan untuk menilai resistensi insulin berdasarkan kadar glukosa dan insulin puasa, yang diperoleh dari darah perifer tikus setelah 16 jam puasa.¹⁴ Glukosa dianalisis dengan metode glucose oxidase dan insulin menggunakan ELISA.¹⁵ HOMA-IR dihitung dengan rumus: (Insulin puasa $\times$ Glukosa puasa) / 405, dengan nilai $\geq 2,5$ menunjukkan resistensi insulin.¹⁶

Pengorbanan dan Pengambilan Sampel Hewan

Hewan coba dikorbankan dengan menggunakan ketamin (80 mg/Kg) dan xylasin (5 mg/Kg) secara intraperitoneal. Setelah tidak sadar, dilakukan pengambilan darah melalui intracardiac dengan spuit 3 ml. Darah yang telah terambil dimasukkan dalam vacutainer non EDTA didiamkan 30 menit pada suhu ruang lalu disentrifuge selama 10-15 menit dalam 3000 rpm untuk mendapatkan serum darah. Prosedur untuk uji kadar insulin menggunakan serum.

Analisis Data

Data dinyatakan dalam bentuk rerata $\pm$ SD. Setelah dilakukan uji normalitas dan homogenitas, data dianalisa menggunakan metode one way ANOVA kemudian dilanjutkan dengan uji LSD test untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Hasil dikatakan berbeda secara bermakna bila nilai $p < 0.05$.

HASIL PENELITIAN

Karakteristik Sampel

Tabel 1. Karakteristik Sampel Penelitian

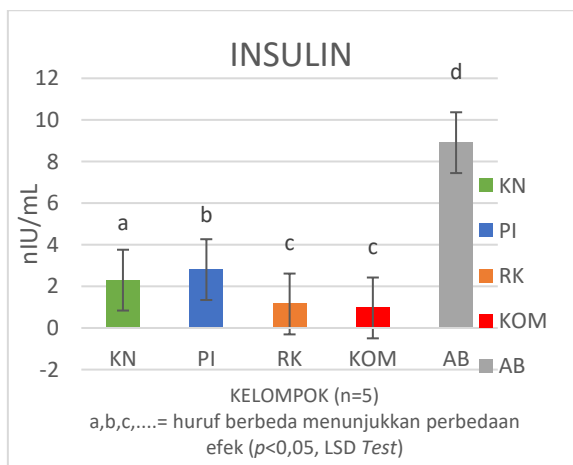
	KN	Kel. Perlakuan			
		PI	RK	PI-RK	AB
BB Awal (gram)	157.50 ± 6.65	156.3 3 ± 5.71	155.6 7 ± 3.40	153.50 ± 1.71	152.50 ± 3.20
BB Akhir (gram)	174.17 $\pm 22.6^a$	154.5 0 $\pm 23.08^a$	99.17 $\pm 14.63^b$	86.50 $\pm 15.67^b$	211.67 $\pm 36.26^c$
Δ BB (%)	+10.58	-1.17	-36.30	-43.65	+38.80
Asupan Pakan (gram)	15.93 ± 2.27	12.58 ± 2.87	5.62 ± 0.98	5.25 ± 0.95	26.12 ± 7.89

a,b,c...= huruf berbeda menunjukkan perbedaan efek ($p < 0,05$, uji LSD Test) ($n=5$).

Berdasarkan data **Tabel 1** kelompok RK dan kombinasi PI-RK menunjukkan penurunan BB tikus secara signifikan berturut-turut 40% dan 50% dibandingkan kelompok KN ($p < 0,05$). Sedangkan kelompok PI terdapat penurunan BB tidak signifikan sebesar 11% dibanding KN ($p > 0,05$). Kelompok AB meningkatkan BB tikus secara tidak signifikan sebesar 20% dibanding kelompok kontrol ($p > 0,05$). Asupan pakan pada kelompok PI, RK, dan kombinasi PI-RK hampir mendekati 100%, sedangkan pada kelompok AB asupan pakan lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang lain.

Efek Pengaturan Asupan Kalori Terhadap Kadar Insulin Serum Tikus Wistar

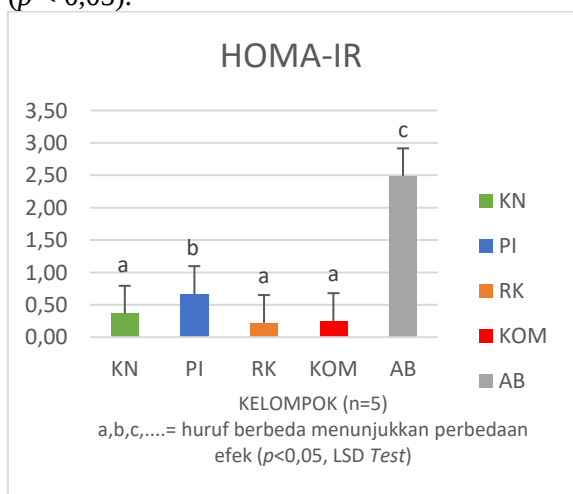
Pada **Gambar 1**, perlakuan RK dan kombinasi PI-RK menghambat peningkatan kadar insulin serum berturut-turut sekitar 50% dan 60% dibandingkan KN ($p < 0,05$). Sedangkan kelompok PI meningkatkan insulin sekitar 1,2 kali lipat dibandingkan KN ($p < 0,05$). Untuk kelompok AB kadar insulin serum meningkat hingga 4 kali lipat dibandingkan KN ($p < 0,05$).



Gambar 1. Histogram Efek Pengaturan Asupan Kalori Terhadap Kadar Insulin Serum Pada Tikus Wistar

Efek Pengaturan Asupan Kalori Terhadap HOMA-IR Tikus Wistar

Pada Gambar 2, perlakuan RK dan kombinasi PI-RK menurunkan nilai HOMA-IR berturut-turut sekitar 40% dan 30% dibandingkan KN ($p > 0,05$). Sedangkan kelompok PI meningkatkan nilai HOMA-IR dibandingkan KN sekitar 1,9 kali lipatnya ($p < 0,05$). Untuk kelompok AB nilai HOMA-IR meningkat hingga 6 kali lipat dibandingkan KN ($p < 0,05$).



Gambar 2. Histogram Efek Pengaturan Asupan Kalori Terhadap Nilai HOMA-IR pada Tikus Wistar Jantan.

Tabel 2. Rata-rata Kadar Glukosa Puasa Pada Efek Pengaturan Asupan Kalori

Kelompok	Rerata Kadar Glukosa Puasa
KN	81±9 ^a
PI	103±9 ^b
RK	97±15 ^b
KOM	105±5 ^b
AB	106±7 ^b

Keterangan : a,b,c...= huruf berbeda menunjukkan perbedaan efek ($p < 0,05$; uji LSD Test). KN= kontrol normal; PI= puasa intermiten; RK= restriksi kalori; AB= asupan berlebih.

PEMBAHASAN

Karakteristik Sampel

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus *Wistar* jantan berusia 8 minggu dengan pertimbangan bahwa tikus ini memiliki daya adaptasi yang baik di lingkungan.¹² Pemilihan usia tikus 8 minggu dikarenakan tikus sudah dewasa dan semua organ reproduksi telah matang.¹⁷ Pemilihan jenis kelamin tikus jantan dilakukan untuk menghindari adanya pengaruh hormonal.¹²

Berat badan kelompok PI, RK, dan kombinasinya mengalami penurunan dibandingkan kelompok kontrol. Penurunan berat badan ini berkaitan erat dengan peningkatan sensitivitas insulin dan perbaikan metabolisme energi akibat intervensi diet yang diberikan.¹⁸ Pada kelompok PI, pola puasa berkala berkontribusi terhadap peningkatan lipolisis dan oksidasi asam lemak, yang sebagian besar dipicu oleh penurunan kadar insulin basal dan peningkatan hormon kontraindikatorik seperti kortisol dan growth hormone.^{19,20} Penurunan insulin ini menyebabkan hilangnya efek antilipolitik insulin, sehingga memfasilitasi pemecahan trigliserida dalam jaringan adiposa.²¹

Sementara itu, pada kelompok RK, pengaturan kalori menyebabkan penurunan kadar glukosa darah dan insulin, yang akan merangsang aktivitas AMP-activated protein kinase (AMPK), meningkatkan β -oksidasi mitokondria, dan menurunkan sintesis lemak.^{22,23} Kombinasi PI dan RK menunjukkan efek sinergis dalam menurunkan kadar insulin dan memperbaiki respons sel terhadap insulin, sehingga meningkatkan efisiensi pemanfaatan energi dan berkontribusi pada penurunan berat badan.²⁴

Sebaliknya, kelompok AB menunjukkan peningkatan berat badan yang signifikan akibat hiperinsulinemia kompensatorik sebagai respons terhadap asupan kalori tinggi.²⁵ Kadar insulin yang terus-menerus tinggi menstimulasi lipogenesis dan menghambat lipolisis, yang pada akhirnya menyebabkan akumulasi lemak dan peningkatan berat badan secara signifikan.^{26,27}

Penurunan berat badan pada individu sehat memiliki batas keamanan sebesar 10% dari berat badan awal dalam periode 6 bulan.²⁸ Penurunan berat badan 10% dianggap realistis dan dapat menjaga kesehatan.²⁸ Perlakuan PI direkomendasikan pada individu sehat dalam menurunkan berat badan. Sedangkan perlakuan RK direkomendasikan untuk menurunkan BB pada individu obesitas.²⁸

Asupan pakan pada kelompok RK memiliki nilai yang paling tinggi. Hal tersebut dikarenakan kelompok RK hanya dibatasi asupan pakannya sebesar 5% dari BB setiap harinya, sehingga memungkinkan tingginya presentase asupan pakan pada kelompok RK dibandingkan kelompok kontrol. Kelompok kontrol dan PI diberikan asupan pakan normal sebesar 10% dari BB setiap harinya.²⁹ Pada kelompok PI, presentase asupan pakan lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol, hal tersebut dikarenakan adanya batasan waktu pemberian pakan pada kelompok PI. Kelompok AB diberikan jumlah asupan kalori sebanyak 20% dari BB setiap harinya. Presentase asupan kelompok AB memiliki nilai yang lebih kecil dibandingkan kelompok kontrol, hal tersebut disebabkan tingginya jumlah pakan yang diberikan sehingga menyebabkan adanya sisa dari jumlah pakan yang diberikan.

Efek Pengaturan Asupan Kalori Terhadap Kadar Insulin Serum Tikus Wistar Jantan

Pengaturan asupan kalori (RK, dan Kombinasi PI-RK) menurunkan kadar insulin serum tikus wistar jantan. Sedangkan PI dan AB meningkatkan kadar insulin serum tikus wistar jantan. Penurunan kadar insulin serum tikus wistar jantan pada perlakuan PI terjadi karena adanya adaptasi fase awal antara ritme puasa dan makan yakni 16 jam puasa dan 8 jam makan walaupun dalam penelitian yang dilakukan dalam jangka Panjang terbukti menurunkan kadar insulin serum,⁹ sementara peningkatan kadar insulin serum pada perlakuan AB terjadi karena adanya peningkatan asupan kalori sebanyak 20% dari BB tikus. Perlakuan RK menurunkan kadar insulin serum disebabkan oleh penurunan asupan kalori sebanyak 5% dari

BB, sedangkan kombinasi PI-RK meliputi pengaturan jendela waktu makan dan menurunkan asupan kalori sebanyak 5% dari BB tikus wistar.

RK pada penelitian terdahulu terbukti dapat mengaktifkan jalur antioksidan mitokondria, seperti *Sirtuin 3* (SIRT3) dan *Superoxide Dismutase 2* (SOD2), yang penting dalam melindungi sel β dari kerusakan oksidatif.³⁰ Heinla et al. 2023 juga melaporkan bahwa restriksi kalori meningkatkan ekspresi faktor transkripsi *Pancreatic and Duodenal Homeobox-1* (PDX-1) dan reseptor *Glucagon Like Peptide-1* (GLP-1) di pankreas, sehingga mendukung sekresi insulin yang fisiologis.¹⁰ RK juga menunjukkan bahwa adanya korelasi positif antara ekspresi PDX-1 dengan peningkatan fungsi β -sel dan homeostasis glukosa.³¹

Kelompok puasa intermiten (PI) yang menerima pakan sebesar 10% BB/hari namun tanpa pengurangan kalori drastis, justru menunjukkan peningkatan kadar insulin serum sekitar 20% dibandingkan KN ($p < 0,05$). Hasil ini mencerminkan fase adaptasi awal, di mana terjadi peningkatan sekresi insulin sebagai kompensasi terhadap fluktuasi glukosa akibat perubahan ritme makan-puasa. Penelitian Liu et al. 2017 menunjukkan bahwa pada awal periode PI, terjadi peningkatan massa sel β pankreas dan penurunan apoptosis, yang dapat meningkatkan produksi insulin.⁹ Namun, respons ini bersifat sementara dan akan membaik seiring adaptasi metabolik dalam jangka panjang.

Sebaliknya, kelompok dengan asupan kalori tinggi AB sebesar 20% BB/hari menunjukkan peningkatan kadar insulin serum hingga empat kali lipat dibandingkan KN ($p < 0,05$), mencerminkan hiperinsulinemia kompensatorik akibat resistensi insulin. Hal ini sesuai dengan temuan Hotamisligil pada tahun 2006 dan Shoelson et al. 2007 bahwa kelebihan kalori dan akumulasi lemak visceral dapat memicu inflamasi kronis tingkat rendah dan meningkatkan produksi sitokin proinflamasi seperti $\text{TNF-}\alpha$ dan IL-6, yang mengganggu pensinyalan insulin.^{4,5} Selain itu, stres oksidatif dan deposisi lemak ektopik turut memperburuk fungsi insulin melalui gangguan transport glukosa (GLUT4) dan menurunnya fosforilasi IRS.⁶

Efek Pengaturan Asupan Kalori Terhadap Nilai HOMA-IR Tikus Wistar Jantan

Pengaturan asupan kalori melalui restriksi kalori (RK) dan kombinasi puasa intermiten–restriksi kalori (PI–RK) menurunkan

nilai *Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance* (HOMA-IR) disebabkan penurunan jumlah asupan kalori sebesar 5% dari BB dan kombinasi PI-RK gabungan antara penurunan asupan kalori 5% dari BB dan pengaturan jendela waktu makan dan puasa. Peningkatan nilai HOMA-IR pada perlakuan PI mengindikasikan bahwa pengaturan interval 8 jam makan dan 16 jam puasa masih dalam fase adaptasi awal, sedangkan pada perlakuan AB meningkatkan HOMA-IR karena adanya peningkatan asupan kalori sebesar 20%. Peningkatan sensitivitas insulin dan kontrol metabolik glukosa, yang menjadi indikator penting dalam pencegahan resistensi insulin^{17,20}.

Efek penurunan HOMA-IR pada kelompok RK dapat dijelaskan melalui efisiensi metabolisme energi akibat defisit kalori sebesar 5% dari berat badan tikus per hari. Intervensi RK diketahui mampu meningkatkan ekspresi *Glucagon-Like Peptide-1* (GLP-1) dan aktivasi faktor transkripsi *Pancreatic and Duodenal Homeobox-1* (PDX-1), yang mendukung fungsi fisiologis sel β pankreas dalam mempertahankan homeostasis glukosa²². Selain itu, RK juga menginduksi jalur antioksidan mitokondria melalui aktivasi *Sirtuin 3* (SIRT3) dan *Superoxide Dismutase 2* (SOD2), yang berperan dalam mengurangi stres oksidatif sebagai salah satu penyebab resistensi insulin²³.

Sementara itu, kombinasi PI-RK, yang menggabungkan puasa intermiten 8 jam makan dan 16 jam puasa dengan pengaturan kalori 5% BB per hari, juga menunjukkan efektivitas dalam menekan nilai HOMA-IR. Meskipun sedikit lebih rendah dibandingkan kelompok RK tunggal, kombinasi ini tetap memberikan efek protektif melalui mekanisme perbaikan sensitivitas insulin, pengaturan siklus metabolik, dan pemulihan fungsi sel β pankreas^{18,24}. Mekanisme sinergis antara restriksi kalori dan puasa siklik diyakini mampu menginduksi *metabolic switching*, dari glukosa ke asam lemak dan keton, yang berkontribusi pada peningkatan efisiensi energi dan sensitivitas insulin²⁰.

Namun, pada kelompok PI yang hanya mendapatkan pengaturan waktu makan (jendela puasa 16 jam dan makan 8 jam) tetapi tetap menerima asupan kalori 10% BB per hari (lebih tinggi dibanding RK), nilai HOMA-IR justru meningkat sekitar 90% dibandingkan kelompok normal ($p > 0,05$). Hal ini mengindikasikan bahwa pada fase awal, puasa intermiten meskipun disertai kontrol kalori sedang, dapat menimbulkan stres metabolik akibat ketidakseimbangan antara waktu makan dan kebutuhan energi seluler. Aktivasi poros

hipotalamus-pituitari-adrenal (HPA), peningkatan kadar kortisol, dan stimulasi glukoneogenesis dapat menjadi faktor yang memicu resistensi insulin transien, sebagaimana ditunjukkan dalam studi hewan sebelumnya yang melaporkan peningkatan nilai HOMA-IR dan penurunan fosforilasi AKT pada fase awal PI.^{19,25}

Sementara itu, kelompok obesitas control AB yang menerima asupan kalori sebesar 20% BB per hari mengalami peningkatan HOMA-IR hingga 6 kali lipat dibandingkan KN ($p < 0,05$), menunjukkan terjadinya resistensi insulin berat akibat kelebihan kalori kronis. Penumpukan lemak visceral pada kelompok ini memicu inflamasi kronis tingkat rendah melalui peningkatan sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-6 yang disekresikan dari jaringan adiposa, serta peningkatan stres oksidatif, yang secara keseluruhan menghambat pensinyalan insulin melalui penurunan fosforilasi IRS-1^{26,27,6}.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa

1. Pengaturan asupan kalori RK dan kombinasi PI-RK menurunkan kadar GDP, Insulin Serum, dan resistensi insulin (HOMA-IR) tikus *Wistar* Jantan.
2. Pengaturan asupan kalori metode PI pada meningkatkan kadar GDP, insulin serum, dan resistensi insulin (HOMA-IR) tikus *Wistar* jantan.
3. Asupan kalori berlebih (AB) meningkatkan kadar GDP, insulin serum, dan resistensi insulin (HOMA-IR) tikus *Wistar* Jantan

Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, peneliti memberikan saran untuk perbaikan penelitian lebih lanjut, yaitu:

1. Penelitian lebih lanjut dengan penelitian yang lebih lama pada individu normal selama lebih dari 6 minggu (8-12 minggu).
2. Pengukuran sitokin proinflamasi seperti TNF α & IL-6 untuk melihat adanya inflamasi pada masing-masing perlakuan terutama AB.
3. Pengukuran kadar hormon lain yang terlibat dalam metabolisme seperti hormon kortisol.

Ucapan Terima Kasih

Sehubungan atas perannya sebagai peer reviewer, penulis mengucapkan terima kasih kepada dr. Rahma Triliana, M.Kes, PhD, Andri Tilaqza, M.Kes., Apt dan kepada FK UNISMA.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Riset Kesehatan Dasar 2018. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan; 2018.
2. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Survei Kesehatan Indonesia (SKI) 2023. Jakarta: Badan Kebijakan Pembangunan Kesehatan; 2023.
3. World Health Organization. Obesity and overweight. Geneva: WHO; 2021.
4. Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*. 2006;444(7121):860–867.
5. Shoelson SE, Herrero L, Naaz A. Obesity, inflammation, and insulin resistance. *Gastroenterology*. 2007;132(6):2169–2180.
6. Shulman GI. Ectopic fat in insulin resistance, dyslipidemia, and cardiometabolic disease. *N Engl J Med*. 2014;371(12):1131–1141.
7. Abdallah M, Mihailescu R. The role of dietary interventions in insulin resistance: a review. *Nutrients*. 2023;15(2):456.
8. Dong TA, Sandesara PB, Dhindsa DS, Mehta A, Arneson LC, Dollar AL, et al. Intermittent fasting: a review of physiological effects and clinical applications. *J Am Coll Cardiol*. 2020;76(22):2967–2981.
9. Liu B, Page AJ, Hatzinikolas G, Chen M, Wittert GA, Heilbronn LK. Intermittent fasting improves glucose tolerance and promotes pancreatic β cell proliferation in mice. *Diabetologia*. 2017;60(3):490–498.
10. Heinla I, Toots M, Ehrlich K, Kõks S. Caloric restriction enhances expression of PDX-1 and GLP-1 receptor in pancreatic islets. *Biochem Biophys Res Commun*. 2023;640:90–97.
11. Moro T, Tinsley G, Bianco A, Marcolin G, Pacelli QF, Battaglia G, et al. Effects of eight weeks of time-restricted feeding (16/8) on basal metabolism, maximal strength, body composition, inflammation, and cardiovascular risk factors in resistance-trained males. *J Transl Med*. 2016;14:290.
12. Pujiatiningsih AS. Pemberian ekstrak daun putri malu (*Mimosa pudica* linn) secara oral menurunkan kadar gula darah post prandial pada tikus (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar prediabetes. 2014;95.
13. IBL International. Human Insulin ELISA: Enzyme immunoassay for the quantitative determination of human insulin in serum and plasma. Hamburg, Germany: IBL International GmbH; 2011.
14. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985 Jul;28(7):412–9.
15. Bonora E, Targher G, Alberiche M, Bonadonna RC, Saggiani F, Zenere MB, et al. Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity. *Diabetes Care*. 2000 Jan;23(1):57–63.
16. Geloneze B, Vasques ACJ, Stabe CFC, Pareja JC, Rosado LEFPL, Queiroz EC, et al. HOMA1-IR and HOMA2-IR indexes in identifying insulin resistance and metabolic syndrome - Brazilian Metabolic Syndrome Study (BRAMS). *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2009 Feb;53(2):281–7.
17. Sengupta P. The laboratory rat: Relating its age with human's. *Int J Prev Med*. 2013;4(6):624–30.
18. Mattson MP, Longo VD, Harvie M. Meal frequency and timing in health and disease. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2017;114(30):7901–8.
19. Anton SD, Moehl K, Donahoo WT, Marosi K, Lee SA, Mainous AG, et al. Flipping the metabolic switch: Understanding and applying the health benefits of fasting. *Obesity*. 2018;26(2):254–68.
20. Longo VD, Panda S. Fasting, circadian rhythms, and time-restricted feeding in healthy lifespan. *Cell Metab*. 2016;23(6):1048–59.
21. Boden G, Shulman GI. Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and β -cell dysfunction. *Eur J Clin Invest*. 2002;32 Suppl 3:14–23.
22. Canto C, Auwerx J. Caloric restriction, SIRT1 and longevity. *Trends Endocrinol Metab*. 2009;20(7):325–31.
23. Guarente L. Sirtuins, aging, and metabolism. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 2011;76:81–90.
24. de Cabo R, Mattson MP. Effects of intermittent fasting on health, aging, and

- disease. *N Engl J Med*. 2019;381(26):2541–51.
25. Kahn SE, Hull RL, Utzschneider KM. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*. 2006;444(7121):840–6.
 26. Frayn KN. Insulin resistance and lipid metabolism. *Curr Opin Lipidol*. 2002;13(2):179–83.
 27. Guilherme A, Virbasius JV, Puri V, Czech MP. Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2008;9(5):367–77.
 28. Donato KA. Executive summary of the clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults.
 29. Widiartini W, Siswati E, Setiyawati A, Rohmah IM, Prastyo E. Pengembangan Usaha Produksi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Tersertifikasi Dalam Upaya Memenuhi Kebutuhan Hewan Laboratorium. Fakultas Peternakan dan Pertanian. 2013: 1-8. Fak Peternak dan Pertan Univ Diponogoro. 2013;1–8. *Arch Intern Med*. 1998;158(17):1855–67.
 30. Qiu X, Brown K, Hirschey MD, Verdin E, Chen D. Calorie restriction reduces oxidative stress by SIRT3-mediated SOD2 activation. *Cell Metab*. 2010;12(6):662–7.
 31. Corezola Do Amaral ME, Milanski M, Coope A, Ignacio-Souza LM, Razolli DS, Donato J Jr, et al. Intermittent fasting attenuates hypothalamic inflammation and improves insulin sensitivity. *J Neuroinflammation*. 2020;17(1):1–12.