

PENGARUH INTERMITTENT FASTING TERHADAP KADAR CD4+ DAN CD8+ TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI LIPOPOLISAKARIDA

Faishal Kindi Mubarak, Citra Destya Rahma Putri, Muhammad Zainul Fadli*

Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: *Intermittent fasting* adalah metode pengaturan pola makan yang mengatur jadwal waktu makan dan puasa secara teratur. Pendekatan ini merupakan salah satu bentuk intervensi diet yang membatasi asupan kalori selama beberapa jam dalam sehari, secara bergantian hari, atau pada hari-hari tertentu dalam seminggu. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh *intermittent fasting* terhadap kadar CD4 (sel T helper) dan CD8 (sel T sitotoksik).

Metode: Penelitian ini merupakan studi eksperimental in vivo dengan *post-test only control group design*, yang bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh *Intermittent fasting* terhadap kadar CD4 dan CD8 pada tikus Wistar jantan dan betina yang berusia 8 minggu dan memiliki berat 180 hingga 250 gram. Dalam penelitian ini, hewan coba terbagi kedalam empat perlakuan, kelompok kontrol normal (KN), IF 16 F/8E Setiap hari, IF 16F/8E 2 hari sekali, dan IF 16F/8E 3-4 hari sekali. Kadar CD4 dan CD8 dianalisa dengan metode imunohistoikimia dengan bantuan *software* imageJ. Data diolah menggunakan One Way Anova dengan uji Tukey dan Kruskal-Wallis, dengan nilai signifikansi ($p < 0,05$).

Hasil: *Intermittent fasting* dengan pola 16 F/8E Setiap hari dan IF 16F/8E 2 hari sekali terbukti secara signifikan meningkatkan kadar CD4 (sel T helper) dan CD8 (sel T sitotoksik) pada tikus jantan dan betina ($p < 0,05$). Kadar CD4 dan CD8 mengalami peningkatan paling tinggi pada perlakuan P1 baik pada tikus jantan maupun betina. Pada semua perlakuan, tikus jantan menunjukkan kadar CD4 dan CD8 lebih tinggi dibandingkan tikus betina.

Simpulan: *Intermittent fasting* dengan pola 16F/8E setiap hari dan 2 hari sekali secara signifikan meningkatkan kadar CD4 (sel T helper) dan CD8 (sel T sitotoksik) pada tikus jantan dan betina. Kadar CD4 dan CD8 pada tikus jantan lebih tinggi daripada tikus betina pada semua perlakuan.

Kata Kunci: *Puasa Intermitten; CD4+; CD8+; Lipopolisakarida*

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

Jl. MT. Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65144 (+62-341-578920)

THE EFFECT OF INTERMITTENT FASTING ON CD4+ AND CD8+ LEVELS IN WISTAR RATS (*Rattus Norvegicus*) INDUCED BY LIPOPOLYSACCHARIDE

Faishal Kindi Mubarak, Citra Destya Rahma Putri, Muhammad Zainul Fadli *

Faculty of Medicine, Islamic University of Malang

ABSTRACT

Introduction: Intermittent fasting is a method of regulating eating patterns that regulates the schedule of eating and fasting on a regular basis. This approach is a form of dietary intervention that restricts calorie intake for several hours a day, alternating between days, or on certain days of the week. This study aimed to investigate the effects of intermittent fasting on CD4 (helper T cells) and CD8 (cytotoxic T cells) levels.

Methods: This study is an in vivo experimental with a post-test only control group design, aimed at evaluating the effect of intermittent fasting on CD4 and CD8 levels in 8-week-old male and female Wistar rats weighing 180 to 250 grams. In this study, the experimental animals were divided into four treatment groups: the normal control group, IF 16F/8E daily, IF 16F/8E every two days, and IF 16F/8E every 3–4 days. CD4 and CD8 levels were analyzed using immunohistochemistry with the assistance of ImageJ software. Data were processed using One-Way ANOVA with Tukey's test and Kruskal-Wallis test, with a significance level of $p < 0.05$.

Results: Intermittent fasting with a 16 F/8E pattern every day and IF 16F/8E every 2 days was shown to significantly increase CD4 (T helper cells) and CD8 (cytotoxic T cells) levels in male and female rats ($p < 0.05$). In Intermittent fasting with a 16F/8E pattern every 3-4 days, there was an increase but it was not significant ($p > 0.05$). CD4 and CD8 levels showed the highest increase in treatment P1 in both male and female rats. In all treatments, male rats exhibited higher CD4 and CD8 levels compared to female rats, likely due to differences in hormonal activity between male and female rats.

Conclusion: Intermittent fasting with a 16F/8E pattern every day and every other day significantly increased CD4 (T helper cells) and CD8 (cytotoxic T cells) levels in male and female rats. CD4 and CD8 levels in male rats were higher than in female rats in all treatments.

Keywords: *Intermittent Fasting; CD4+; CD8+; Lipopolysaccharide*

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

Jl. MT. Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65144 (+62-341-578920)

PENDAHULUAN

Intermittent Fasting (IF) adalah suatu metode pengaturan pola makan yang mengatur waktu makan dan waktu puasa dengan teratur.¹ Intermittent fasting adalah salah satu jenis intervensi diet dengan cara membatasi asupan kalori selama beberapa jam dalam sehari, bergantian hari, atau beberapa hari tertentu dalam seminggu.² *Intermittent fasting* telah menjadi fokus masyarakat awam dan ilmuwan dalam beberapa tahun terakhir dengan banyak penelitian pada hewan yang menunjukkan manfaat penurunan berat badan dan peningkatan kesehatan secara keseluruhan pada subjek penelitian yang diberi perlakuan IF.³ Puasa dapat meningkatkan fungsi kekebalan tubuh. Puasa memengaruhi sistem imun melalui berbagai jalur molekuler dan selular yang kompleks. Pada tahap awal puasa, terjadi perubahan signifikan dalam profil genetik dan proteomik leukosit (CD45+ cells), di mana banyak gen yang terkait dengan fungsi sistem imun mengalami peningkatan.⁴

Sistem imun dibagi menjadi sistem imun innate dan adaptif yang saling terkoordinasi dalam pertahanan terhadap infeksi.⁵ Infeksi dapat terjadi oleh berbagai agen asing, salah satunya adalah bakteri. Bakteri terbagi menjadi beberapa jenis, contohnya adalah *Eschericia coli* (E. coli). Komponen utama dari E. Coli adalah lipopolisakarida (LPS).⁵⁶

Lipopolisakarida adalah komponen utama membran luar yang berperan penting dalam interaksi host-patogen dengan sistem imun.⁷ LPS adalah endotoksin kuat yang memberikan stimulus inflamasi yang persisten. Pemberian LPS secara sistemik, bahkan pada dosis rendah, menginduksi produksi sitokin proinflamasi yang mengaktifkan sistem neuroimun dan neuroendokrin, yang mengakibatkan infeksi.⁸ Aktivasi inflamasi ini tidak hanya mengubah profil sitokin tetapi juga mengaktifkan sistem imun tubuh yang kemudian memengaruhi diferensiasi dan jumlah populasi sel imun, termasuk sel T CD4⁺ dan CD8⁺.⁹

Intermittent fasting tidak hanya bertujuan untuk penurunan berat badan,

tetapi juga telah menunjukkan efek protektif terhadap berbagai penyakit metabolik, neurodegeneratif, serta inflamasi kronis.¹⁰ Dari aspek imunologi, penelitian terbaru mengindikasikan bahwa IF dapat meningkatkan respons imun adaptif, menurunkan peradangan sistemik, serta memperbaiki fungsi sel imun melalui mekanisme seperti peningkatan autofagi, regulasi metabolisme imun (termasuk sel T *helper* dan sel T sitotoksik), dan pengurangan stres oksidatif.^{10,11}

Pengaruh *intermittent fasting* terhadap sistem imun sudah banyak diteliti, namun pengaruh IF terhadap kadar CD4 dan CD8 secara spesifik masih terbatas. Penelitian dengan pola IF 16 F/8E Setiap hari, IF 16F/8E 2 hari sekali, dan IF 16F/8E 3-4 hari sekali masih sangat terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh *intermittent fasting* terhadap kadar CD4 dan CD8 dengan 3 pola IF.

METODE PENELITIAN

Desain, Tempat, dan Waktu Penelitian

Penelitian ini merupakan studi eksperimental in vivo dengan *post-test only control group design*, yang bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh *intermittent fasting* terhadap kadar CD4 dan CD8 pada tikus Wistar. Penelitian dilaksanakan di Klinik Hewan Satwa Sehat, Tidar, Malang, selama 3 bulan. Protokol penelitian telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang dengan nomor: 107/LE.003/VII/01/2025

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 delapan kelompok perlakuan : Kelompok kontrol normal (KN), IF 16 F/8E Setiap hari, IF 16F/8E 2 hari sekali, dan IF 16F/8E 3-4 hari sekali (jantan dan betina). Besarnya sampel ditentukan dengan menerapkan rumus federer. Berdasarkan perhitungan rumus federer, jumlah minimal sampel tikus

setiap kelompok adalah 3 ekor. Selama perlakuan, tikus tiap kelompok di letakkan dalam kandang individu (*single cage*). Perlakuan dilakukan selama 4 minggu setelah proses aklimatisasi selama 1 minggu. Hewan coba diberi makan dan minum secara *ad libitum*.

Pemberian lipopolisakarida menggunakan bakteri *Escherichia coli* dengan dosis 1 mg/kg BB yang dilarutkan dalam pelarut saline yang mengandung 0,9% natrium klorida (NaCl) dalam air diberikan satu kali pada hari ke-14. Injeksi lipopolisakarida dilakukan secara intraperitoneal di daerah *lower right quadran* abdomen untuk menghindari kerusakan organ daerah abdominal.

Pengorbanan dan Pengambilan Sampel Hewan Coba

Pengorbanan hewan coba dilakukan pada hari ke-29 atau minggu ke-4. Hewan coba diinjeksikan anastesi xylazine (2%) dengan dosis 2 mg/kg dan ketamin (10%) dengan dosis 15 mg/kg. Setelah hewan tidak sadarkan diri atau tidak menunjukkan respon, pembedahan dilakukan untuk mengambil organ limpa. Pembedahan dilakukan dengan insisi linier sepanjang kurang lebih 1-2 cm pada kulit dan otot perut. Kemudian memisahkan limpa dari jaringan di sekitarnya termasuk pembuluh darah.

Limpa dibilas dan dimasukkan ke dalam tempat penyimpanan organ. Limpa difiksasi dalam formalin netral dengan buffer 10% selama 24-48 jam untuk mengawetkan struktur dan antigennya. Selanjutnya, jaringan menjalani pemrosesan jaringan yang meliputi dehidrasi melalui seri alkohol, penjernihan dengan xylene, dan infiltrasi dengan parafin cair. Setelah itu, limpa ditanam dalam blok parafin padat, yang kemudian dipotong tipis (3–5 mikrometer) menggunakan mikrotom, lalu irisan ditempelkan pada *object glass* berlapis dan dikeringkan. Sebelum pewarnaan, slide harus dideparafinisasi menggunakan xylene dan direhidrasi kembali melalui seri alkohol.

Pengukuran Kadar CD4

Jaringan difiksasi dalam formalin 10%, dipotong tipis (3-5 μm), dan dideparafinisasi dengan xylene, lalu direhidrasi melalui seri alkohol. Pemulihan antigen dilakukan dengan pemanasan dalam buffer sitrat (pH 6.0) untuk mengekspos epitop CD4. Aktivitas peroksidase endogen diblokir dengan H_2O_2 3%, diikuti pemblokiran non-spesifik dengan serum. Antibodi primer monoklonal anti-CD4 diinkubasi pada suhu ruangan atau 4°C, kemudian ditambahkan antibodi sekunder terkonjugasi. Sinyal dideteksi dengan kromogen yang menghasilkan warna coklat pada sel positif CD4, diikuti pewarnaan latar dengan hematoksin. Slide dianalisis di bawah mikroskop yang dibantu *software image-J* untuk mengidentifikasi dan menghitung sel positif CD4.

Pengukuran Kadar CD8

Jaringan difiksasi dengan formalin 10%, dipotong tipis (3-5 μm), dideparafinisasi dengan xylene, dan direhidrasi melalui seri alkohol. Pemulihan antigen dilakukan dengan pemanasan dalam buffer sitrat (pH 6.0) atau EDTA (pH 8.0) untuk mengekspos epitop CD8. Aktivitas peroksidase endogen diblokir menggunakan H_2O_2 3%, diikuti pemblokiran non-spesifik dengan serum atau BSA. Antibodi primer monoklonal anti-CD8 diinkubasi pada suhu ruangan atau semalaman pada 4°C, kemudian ditambahkan antibodi sekunder terkonjugasi. Sinyal divisualisasikan dengan kromogen, menghasilkan warna coklat pada sel positif CD8, dan pewarnaan latar dilakukan dengan hematoksin. Slide diamati di bawah mikroskop yang dibantu dengan *software image-J* untuk menghitung dan menganalisis distribusi sel positif CD8.

Analisis Data

Data hasil pengamatan dianalisis menggunakan *software* SPSS. Data disajikan sebagai nilai rata-rata $\pm$ SD. Setelah melalui pengujian normalitas dan homogenitas, analisis data dilakukan menggunakan metode one-way ANOVA.

Setelah itu, dilanjutkan dengan uji Tukey untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan. Jika tidak terdistribusi normal, tidak homogen, atau keduanya, maka dilakukan uji Kruskal-Wallis. Perbedaan dianggap signifikan apabila nilai $p < 0,05$.

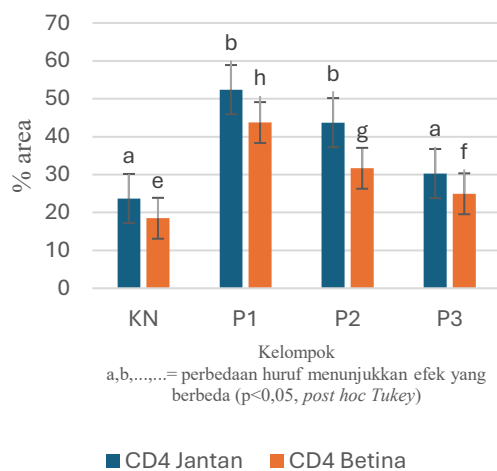
HASIL PENELITIAN

Pengaruh *Intermittent Fasting* Terhadap Kadar CD4 Tikus Wistar Jantan dan Betina

Tabel 1. Hasil *Intermittent Fasting* Terhadap Kadar CD4 Tikus Wistar.

Variabel	CD4 Jantan n = 4	CD4 Betina n = 4
KN	23.68 ± 2,46	18.47 ± 1,38
P1	52.41 ± 1,12	43.72 ± 1,17
P2	43.70 ± 2,75	31.65 ± 1,76
P3	30.27 ± 2,06	24.93 ± 0,71

%area



Gambar 1. Histogram *Intermittent Fasting* Terhadap Kadar CD4 Tikus Wistar.

Keterangan:

a,b,c...= huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan efek ($p < 0,05$).

KN= kontrol normal (tanpa IF); P1= 16F/8E Setiap hari; P2= 16F/8E 2 hari sekali; P3= IF 16F/8E 3-4 hari sekali

Berdasarkan data pada **Tabel 1 dan Gambar 1**, diketahui bahwa pada tikus jantan, kadar CD4 pada perlakuan P1 (52,41%area) dan P2 (43,70%area) terjadi peningkatan secara signifikan dibandingkan KN (23,68%area). Perlakuan P3 (30,27%area) juga menunjukkan

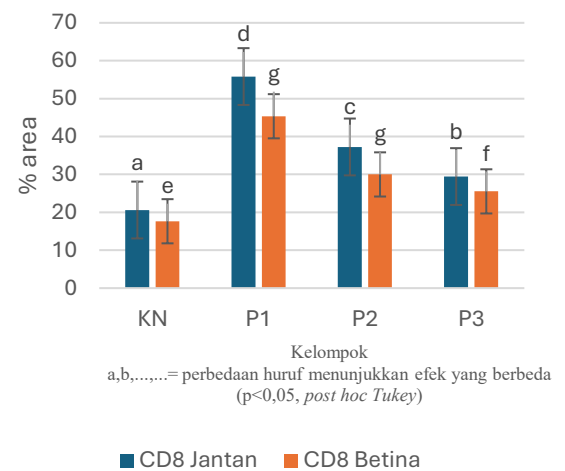
peningkatan dengan KN (23,68%area) namun tidak signifikan ($p > 0,05$). Pada tikus betina, kadar CD4 pada semua perlakuan baik pada P1 (43,72%area), P2 (31,65%area), dan P3 (24,93%area) menunjukkan peningkatan secara signifikan dibandingkan KN (18,47%area). Kadar CD4 pada tikus jantan lebih tinggi dari pada pada tikus betina.

Pengaruh *Intermittent Fasting* Terhadap Kadar CD8 Tikus Wistar Jantan dan Betina

Tabel 2. Hasil *Intermittent Fasting* Terhadap Kadar CD8 Tikus Wistar.

Variabel	CD8 Jantan n = 4	CD8 Betina n = 4
KN	20.61 ± 1,36	17.65 ± 1,04
P1	55.82 ± 1,52	45.35 ± 3,71
P2	37.25 ± 2,70	30.00 ± 4,16
P3	29.44 ± 2,29	25.53 ± 2,31

%area



Gambar 2. Histogram *Intermittent Fasting* Terhadap Kadar CD8 Tikus Wistar.

Keterangan:

a,b,c...= huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan efek ($p < 0,05$).

KN= kontrol normal (tanpa IF); P1= 16F/8E Setiap hari; P2= 16F/8E 2 hari sekali; P3= IF 16F/8E 3-4 hari sekali

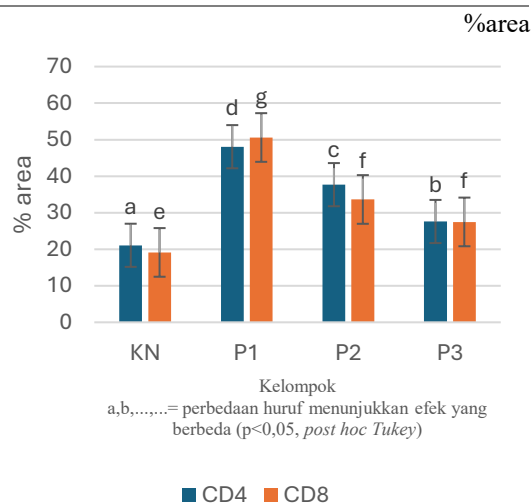
Berdasarkan data pada **Tabel 2 dan Gambar 2**, kadar CD8 pada tikus jantan perlakuan P1 dan P2 menunjukkan peningkatan secara signifikan dibandingkan KN ($p < 0,05$). Pada Perlakuan P3 menunjukkan peningkatan dibandingkan KN namun tidak signifikan

($p>0,05$). Pada tikus betina perlakuan P1 dan P2 terjadi peningkatan yang signifikan terhadap KN. Kadar CD8 pada tikus jantan lebih tinggi dari pada pada tikus betina.

Pengaruh *Intermittent Fasting* Terhadap Kadar CD4 dan CD8

Tabel 3. Hasil *Intermittent Fasting* Terhadap Kadar CD4 dan CD8 Tikus Wistar.

Variabel	CD4 n = 8	CD8 n = 8
KN	21.08 ± 1,63	19.13 ± 0,97
P1	48.07 ± 1,80	50.59 ± 2,71
P2	37.68 ± 2,73	33.63 ± 2,67
P3	27.60 ± 1,42	27.48 ± 1,68



Gambar 3. Histogram *Intermittent Fasting* Terhadap Kadar CD4 dan CD8 Tikus Wistar.

Keterangan:

a,b,c...= huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan efek ($p<0,05$).

KN= kontrol normal (tanpa IF); P1= 16F/8E Setiap hari; P2= 16F/8E 2 hari sekali; P3= IF 16F/8E 3-4 hari sekali

Berdasarkan Tabel 3 dan Gambar 3, kadar CD4 pada perlakuan P1 dan P2 menunjukkan peningkatan yang signifikan dibandingkan KN ($p<0,05$). Pada kadar CD8, perlakuan P1 dan P2 juga menunjukkan peningkatan yang signifikan dibandingkan KN ($p<0,05$). Pada perlakuan P3, baik pada CD4 dan CD8 terjadi peningkatan dibandingkan KN namun tidak signifikan ($p<0,05$).

PEMBAHASAN

Pengaruh *Intermittent Fasting* Terhadap Kadar CD4 Tikus Wistar Jantan dan Betina

Pada ketiga pola *intermittent fasting* terbukti meningkatkan kadar CD4, baik pada tikus jantan maupun betina. Suatu studi menganalisis protein serum pada subjek sehat setelah puasa 24 jam dan menunjukkan bahwa IF meningkatkan kadar *insulin-like growth factor binding protein 1* (IGFBP1), yang menekan aktivasi sel T CD4+ melalui penurunan jalur mTOR. Penurunan jalur ini meningkatkan jumlah sel T regulator (Treg), yang berasal dari populasi CD4+, sehingga berkontribusi pada keseimbangan imun.¹¹ *Intermittent fasting* memberikan *mild metabolic stress* yang dapat meningkatkan ketahanan sel imun terhadap stres oksidatif. Selama periode puasa, tubuh beralih ke metabolisme lemak dan menghasilkan badan keton seperti β -hydroxybutyrate yang diketahui memiliki efek anti-inflamasi dan dapat menghambat aktivasi inflamasi, sehingga mencegah kerusakan jaringan akibat inflamasi berlebihan.^{11,12}

Puasa dengan pola 16F/8E setiap hari mengalami peningkatan paling tinggi daripada 2 perlakuan lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa pola IF harian merangsang aktivasi atau proliferasi sel T, yang dapat terkait dengan respons imun adaptif yang ditingkatkan, melalui mekanisme *autofagi* atau pengurangan stres oksidatif.¹³ Peningkatan ini diduga berkaitan dengan efek *intermittent fasting* dalam meningkatkan regulasi imun adaptif melalui modulasi distribusi sel T helper, sebagaimana dilaporkan pada studi sebelumnya bahwa pembatasan waktu makan dapat meningkatkan aktivitas sel T dan perbaikan fungsi organ limfoid.¹⁴ Pada perlakuan P2 terjadi penurunan kadar CD4 dibandingkan P1. Hal ini dapat diinterpretasikan sebagai respons adaptasi homeostatik sistem imun terhadap stres metabolik yang lebih berkepanjangan. Pada durasi IF yang lebih lama, penurunan cadangan energi glukosa dan asam amino esensial dapat membatasi proliferasi limfosit, menurunkan produksi sitokin

proinflamasi seperti IL-2, serta menggeser profil imun dari dominan Th1 menuju profil Th2 atau T regulator (Treg) yang lebih bersifat supresif.¹¹ Hal ini sesuai dengan temuan pada model kolitis, di mana pembatasan waktu makan jangka panjang meningkatkan populasi CD4⁺CD25⁺ Treg di jaringan limfoid mesenterika, yang berfungsi menghambat inflamasi namun dapat menurunkan respons imun adaptif.¹⁵

Kadar CD4 pada tikus jantan secara konsisten lebih tinggi daripada tikus betina pada semua perlakuan puasa. Perbedaan ini diperkirakan disebabkan oleh pengaruh hormon seks, terutama estrogen dan progesteron. Estrogen pada dosis fisiologis diketahui dapat meningkatkan aktivitas sel T helper, tetapi pada kondisi stres metabolik dapat memicu peningkatan sitokin anti-inflamasi yang justru menekan aktivasi sel T CD4. Selain itu, perbedaan massa otot dan metabolisme basal antara jantan dan betina juga dapat memengaruhi respon terhadap pembatasan energi, sehingga berimplikasi pada proliferasi sel imun.¹⁶

Pengaruh *Intermittent Fasting* Terhadap Kadar CD8 Tikus Wistar Jantan dan Betina

Puasa setiap hari 16F/8E terbukti paling tinggi meningkatkan kadar CD8. Kadar CD8 naik seiring dengan semakin sering frekuensi puasa. Frekuensi puasa yang tinggi mampu memberikan stimulasi imun adaptif yang lebih kuat dibandingkan frekuensi sedang atau rendah. Fenomena ini sejalan dengan konsep *immune hormesis*, di mana stres metabolik ringan berulang dari puasa dapat memicu proliferasi dan aktivasi sel T sitotoksik CD8. Frekuensi IF harian lebih efektif dalam memodulasi populasi sel T sitotoksik dibandingkan jadwal puasa yang lebih jarang. Mekanisme di balik fenomena ini kemungkinan melibatkan aktivasi jalur metabolik ketogenik selama puasa, yang meningkatkan produksi β -hydroxybutyrate (BHB) dan mendukung proliferasi serta fungsi efektor sel CD8, termasuk sitotoksitas dan sekresi sitokin pro-inflamasi.¹⁷

Intermittent fasting sebagai intervensi diet yang melibatkan siklus puasa

dan makan secara bergantian telah menunjukkan potensi dalam memodulasi respon imun antitumor, khususnya melalui pengaruhnya terhadap sel T CD8. Berdasarkan penelitian pada model tikus dengan kanker ovarium epitel (EOC), IF tidak hanya menghambat pertumbuhan tumor tetapi juga meningkatkan fungsi dan aktivitas sel T CD8.¹⁷

Sama halnya dengan kadar CD4, kadar CD8 pada tikus jantan lebih tinggi daripada tikus betina pada semua perlakuan. Perbedaan respons antara jantan dan betina tidak lepas dari peran faktor hormonal dan metabolisme gender dalam modulasi imun. Perbedaan respons antara jantan dan betina kemungkinan dipengaruhi faktor hormonal, mengingat testosteron dan estrogen memiliki peran berbeda dalam regulasi imun.¹⁸ Betina cenderung menunjukkan peningkatan kadar CD8 yang lebih rendah dibandingkan jantan pada semua kelompok IF, yang dapat dikaitkan dengan pengaruh estrogen yang mengatur homeostasis imun dan mengurangi respons sitotoksik berlebihan. Hal ini konsisten dengan literatur yang menunjukkan bahwa hormon seks memengaruhi komposisi subpopulasi limfosit pada hewan rodensia.¹⁹

Dari perspektif imunometabolisme, peningkatan kadar CD8 akibat IF dapat dikaitkan dengan perubahan ekspresi reseptor glukosa dan peningkatan efisiensi energi sel T melalui autofagia. Proses ini memungkinkan sel CD8 bertahan lebih lama dalam lingkungan hipoksia, seperti pada mikro lingkungan tumor, sehingga meningkatkan potensi antitumor.²⁰

Pengaruh *Intermittent Fasting* Terhadap Kadar CD4 dan CD8

Pada penelitian ini perlakuan puasa setiap hari menunjukkan kadar CD4 dan CD8 paling tinggi dari pada pola puasa 2 hari sekali dan 3-4 hari sekali. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada tikus dengan perlakuan P1 memiliki respon imun paling kuat, kemungkinan akibat modulasi autofagi dan reduksi stres oksidatif yang dipicu oleh IF, yang pada gilirannya meningkatkan proliferasi sel T helper (CD4⁺) dan sitotoksik (CD8⁺). Mekanisme

ini sejalan dengan temuan bahwa IF dapat menginduksi ketogenesis yang menghambat progresi kanker melalui peningkatan infiltrasi CD4⁺ dan CD8⁺ dalam jaringan tumor.¹⁵ Namun, penurunan relatif pada P3 menunjukkan adanya batas efektivitas IF, yang dapat terkait dengan stres fisiologis yang diperkirakan akibat jadwal puasa yang lebih jarang.

IF diperkirakan berefek pada ketogenesis yang mendukung fungsi efektor sel CD4⁺ dan CD8⁺, termasuk respons Th1 dan sitotoksik, sebagaimana diamati pada model kanker ovarium epitelial tikus di mana IF meningkatkan kebugaran metabolik sel T antitumor. Mekanisme potensial melibatkan rewiring metabolik sel imun, seperti pergeseran dari glikolisis aerobik ke oksidasi asam lemak, yang meningkatkan diferensiasi dan dinamika sel T regulator serta mengurangi inflamasi kronis, konsisten dengan temuan bahwa IF mengubah komposisi mikrobiota usus untuk mengurangi sel T penghasil IL-17 dan meningkatkan sel T regulator. Selain itu, pada model obesitas dengan dermatitis kontak alergi, IF merangsang generasi sel T regulator melalui mekanisme dependen TGF- β , yang berkontribusi pada hiporesponsivitas sel CD4⁺ dan peningkatan kemampuan makrofag M2 dalam memproduksi TGF- β , sehingga mendukung homeostasis imun secara keseluruhan.^{21,22}

Pembatasan makanan atau puasa intermiten juga berperan dalam restrukturisasi jaringan imun. *Intermittent fasting* meningkatkan integritas epitel usus, menurunkan peradangan sistemik, serta merangsang produksi IgA dan interaksi sel imun di jaringan mukos.²³ Pola pada IF menciptakan siklus stres metabolik ringan yang berulang, yang cukup untuk memicu respons adaptif sel imun tanpa menimbulkan efek katabolik berlebihan.³

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa:

1. *Intermittent fasting* dengan pola 16F/8E setiap hari dan 2 hari sekali efektif dalam meningkatkan kadar CD4.

2. *Intermittent fasting* dengan pola 16F/8E setiap hari dan 2 hari sekali efektif dalam meningkatkan kadar CD8.
3. Kadar CD4 dan CD8 lebih tinggi pada tikus jantan daripada tikus betina.

SARAN

Berdasarkan hasil riset yang telah diperoleh, perlu dilakukan

1. Penelitian lebih lanjut dengan durasi waktu penelitian yang lebih lama pada tiap perlakuan.
2. Pengukuran pada parameter sistem imun lainnya untuk mengetahui pengaruh dari masing-masing parameter terhadap respon imun secara menyeluruh.

UCAPAN TERIMA KASIH

Sehubungan atas perannya sebagai peer reviewer, penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing, dosen penguji, sebagai peer reviewer dan tim kelompok penelitian serta kepada Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM) telah membantu pendanaan penelitian,

DAFTAR PUSTAKA

1. Fairuz, R. A., Utami, R. F., Absari, N. W., & Djunet, N. A. (2024). Pengaruh diet puasa (intermittent fasting) terhadap penurunan berat badan, perubahan metabolik, dan massa otot. *Healthy Tadulako Journal*.
2. Harahap, H., Herlambang, H. and Putra, I.P. (2023) Pengaruh Intermittent Fasting terhadap Berat Badan dan Kadar High Density Lipoprotein pada Individu dengan Overweight.
3. Fanti, M. et al. (2021) 'Time-Restricted Eating, Intermittent Fasting, and FastingMimicking Diets in Weight Loss', *Current Obesity Reports*. Springer, pp. 70–80. Available at: <https://doi.org/10.1007/s13679-021-00424-2>
4. Zhao, J. et al. (2020) 'Single-cell RNA sequencing reveals the heterogeneity of liver-resident immune cells in human', *Cell Discovery*, 6(1). Available at: <https://doi.org/10.1038/s41421-020-0157-z>.
5. Abbas, AK, dkk. (2021). *Imunologi*

- Seluler dan Molekuler. Elsevier.
6. Marianingsih. Lipopolisakarida (LPS) *Escherichia coli* sebagai Endotoksin dan Perannya dalam Respon Imun. Malang: Universitas Brawijaya; 2012.
 7. Maldonado, R.F., Sá-Correia, I. and Valvano, M.A. (2016) 'Lipopolysaccharide modification in gram-negative bacteria during chronic infection', *FEMS Microbiology Reviews*. Oxford University Press, pp. 480–493. Available at: <https://doi.org/10.1093/femsre/fuw007>
 8. Ramírez, K., Quesada-Yamasaki, D. and Fornaguera-Trías, J. (2019) 'A protocol to perform systemic lipopolysaccharide (Lps) challenge in rats', *Odovtos - International Journal of Dental Sciences*, 21(1), pp. 53–66. Available at: <https://doi.org/10.15517/IJDS.V010.35510>.
 9. Zhou, L., Chong, M. M., & Littman, D. R. (2012). Plasticity of CD4⁺ T cell lineage differentiation. *Immunity*, 35(5), 646–655. 0.1016/j.immuni.2009.05.001.
 10. Longo, V. D., & Panda, S. (2016). Fasting, circadian rhythms, and time-restricted feeding in healthy lifespan. *Cell Metabolism*, 23(6), 1048–1059. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.06.001>
 11. Han, K., Singh, K., Rodman, M. J., et al. (2021). Identification and Validation of Nutrient State-Dependent Serum Protein Mediators of Human CD4⁺ T Cell Responsiveness. *Nutrients*, 13(5), 1492. <https://doi.org/10.3390/nu13051492>
 12. Youm, YH., Nguyen, K., Grant, R. et al. The ketone metabolite β -hydroxybutyrate blocks NLRP3 inflammasome-mediated inflammatory disease. *Nat Med* **21**, 263–269 (2015). <https://doi.org/10.1038/nm.3804>
 13. Jordan, S., Tung, N., Casanova-Acebes, M., et al. (2019). Dietary Intake Regulates the Circulating Inflammatory Monocyte Pool. *Cell*, 178(5), 1102–1114.e17. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.07.050>
 14. Nurmasitoh, T., et.al. 2018. Intermittent fasting decreases oxidative stress parameters in Wistar rats (*Rattus norvegicus*). <https://doi.org/10.18051/UnivMed.2018.v37.31-38>.
 15. Haasis, E., Bettenburg, A., & Lorentz, A. (2024). Effect of intermittent fasting on immune parameters and intestinal inflammation. *Nutrients*, 16(22), 3956. <https://doi.org/10.3390/nu16223956>
 16. Klein, S., Flanagan, K. Sex differences in immune responses. *Nat Rev Immunol* **16**, 626–638 (2016). <https://doi.org/10.1038/nri.2016.90>.
 17. Udumula MP, Singh H, Rashid F, Poisson L, Tiwari N, Dimitrova I, Hijaz M, Gogoi R, Swenor M, Munkarah A, Giri S, Rattan R. Intermittent fasting induced ketogenesis inhibits mouse epithelial ovarian cancer by promoting antitumor T cell response. *iScience*. 2023;26(10):107839. DOI: 10.1016/j.isci.2023.107839
 18. Mattson, M.P., Longo, V.D. and Harvie, M. (2017) 'Impact of intermittent fasting on health and disease processes', *Ageing Research Reviews*. Elsevier Ireland Ltd, pp. 46–58. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.arr.2016.10.005>.
 19. Collins N, Han SJ, Enamorado M, Link VM, Huang B, Moseman EA, Kisick RR, Shannon JP, Dixit D, Schwab SR, Hickman HD. Intermittent calorie restriction alters T cell subsets and metabolic markers in people with multiple sclerosis. *eBioMedicine*. 2022;82:104124. DOI: 10.1016/j.ebiom.2022.104124
 20. Okawa T, Nagai M, Hase K. Dietary Intervention Impacts Immune Cell Functions and Dynamics by Inducing Metabolic Rewiring. *Frontiers in Immunology*. 2021;11:623989. DOI: 10.3389/fimmu.2020.623989
 21. Cignarella F, Cantoni C, Ghezzi L, Salter A, Dorsett Y, Chen L, Phillips D, Weinstock GM, Fontana L, Cross AH, Zhou Y, Piccio L. Intermittent Fasting Confers Protection in CNS Autoimmunity by Altering the Gut Microbiota. *Cell Metab*. 2018;27(6):1222-1235.e6.

- doi:10.1016/j.cmet.2018.05.018
22. Han SC, Kang JI, Choi YK, Boo HJ, Yoon WJ, Kang HK, Yoo ES. Intermittent Fasting Modulates Immune Response by Generating Tregs via TGF- β Dependent Mechanisms in Obese Mice with Allergic Contact Dermatitis. *Biomol Ther* (Seoul). 2024;32(1):103-114. doi:10.4062/biomolther.2023.053
 23. Ma, R. xue (2024) 'A detective story of intermittent fasting effect on immunity', *Immunology* [Preprint]. John Wiley and Sons Inc. Available at: <https://doi.org/10.1111/imm.13829>.