

**EFEK PUASA 12 JAM TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGI
PANKREAS MENCIT HIPERGLIKEMIA**

(Skripsi)

Oleh

Yulita Kristina Nadeak

2217061068



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2026**

ABSTRAK

EFEK PUASA 12 JAM TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGI PANKREAS MENCIT HIPERGLIKEMIA

Oleh

YULITA KRISTINA NADEAK

Hiperglikemia merupakan kondisi peningkatan kadar glukosa darah yang dapat menyebabkan kerusakan sel β pankreas dan perubahan struktur pulau Langerhans. Kerusakan tersebut ditandai dengan peningkatan degenerasi dan nekrosis sel serta penurunan luas dan diameter pulau Langerhans. Puasa 12 jam sebagai bentuk *time-restricted feeding* diketahui dapat memengaruhi metabolisme glukosa dan berpotensi memperbaiki struktur pankreas. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh puasa 12 jam terhadap gambaran histologi pankreas mencit hiperglikemia induksi aloksan serta membandingkan efek puasa pada periode siang dan malam hari. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) menggunakan 25 ekor mencit jantan (*Mus musculus*) yang dibagi ke dalam lima kelompok, yaitu kontrol, normal puasa 12 jam siang, normal puasa 12 jam malam, hiperglikemia puasa 12 jam siang, dan hiperglikemia puasa 12 jam malam. Hiperglikemia diinduksi menggunakan aloksan monohidrat dosis 150 mg/BB. Perlakuan puasa 12 jam dilakukan selama 14 hari. Parameter yang diamati meliputi luas dan diameter pulau Langerhans melalui analisis morfometrik, serta skor kerusakan histologi pankreas menggunakan pewarnaan Hematoksilin-Eosin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa puasa 12 jam tidak mempengaruhi luas dan diameter pulau Langerhans, berpengaruh pada skor kerusakan histologi pankreas mencit hiperglikemia induksi aloksan. Terdapat perbedaan efek antara puasa 12 jam siang dan malam hari terhadap gambaran histologi pulau Langerhans pankreas mencit. Puasa 12 jam malam hari menunjukkan gambaran histologi Pulau Langerhans yang relatif lebih baik dibandingkan puasa 12 jam siang hari, ditinjau dari integritas struktur jaringan dan derajat kerusakan histologi.

Kata kunci: Hiperglikemia, Puasa 12 Jam, Pulau Langerhans, Histologi Pankreas

ABSTRACT

THE EFFECTS OF A 12-HOUR FASTING PERIOD ON THE HISTOLOGICAL FEATURES OF THE PANCREAS IN HYPERGLYCEMIC MICE

By

YULITA KRISTINA NADEAK

Hyperglycemia is a condition characterized by elevated blood glucose levels that may cause pancreatic β -cell damage and structural alterations of the islets of Langerhans. Such damage is indicated by increased cellular degeneration and necrosis, as well as a reduction in the area and diameter of the islets of Langerhans. A 12-hour fasting regimen, as a form of time-restricted feeding, is known to influence glucose metabolism and has the potential to improve pancreatic structure. This study aimed to analyze the effects of a 12-hour fasting period on the histological features of the pancreas in alloxan-induced hyperglycemic mice and to compare the effects of daytime and nighttime fasting. This research employed an experimental method using a Completely Randomized Design (CRD) with 25 male mice (*Mus musculus*) divided into five groups: control, normal with 12-hour daytime fasting, normal with 12-hour nighttime fasting, hyperglycemic with 12-hour daytime fasting, and hyperglycemic with 12-hour nighttime fasting. Hyperglycemia was induced using alloxan monohydrate at a dose of 150 mg/kg body weight. The 12-hour fasting treatment was administered for 14 days. The observed parameters included the area and diameter of the islets of Langerhans assessed through morphometric analysis, as well as the pancreatic histological damage score evaluated using Hematoxylin–Eosin staining. The results showed that a 12-hour fasting period did not affect the area and diameter of the islets of Langerhans but did influence the pancreatic histological damage score in alloxan-induced hyperglycemic mice. Differences in effects were observed between daytime and nighttime fasting on the histological features of the pancreatic islets of Langerhans. Nighttime 12-hour fasting demonstrated relatively better histological features compared to daytime fasting, as indicated by improved structural integrity and a lower degree of histological damage.

Keywords: Hyperglycemia, 12-Hour Fasting, Islets of Langerhans, Pancreatic Histology

**EFEK PUASA 12 JAM TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGI
PANKREAS MENCIT HIPERGLIKEMIA**

Oleh

YULITA KRISTINA NADEAK

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Program Studi Biologi Terapan, Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2026**

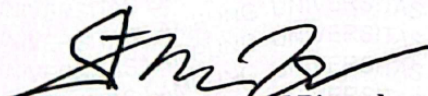
HALAMAN PERSETUJUAN

Judul Skripsi : Efek Puasa 12 Jam Terhadap Gambaran Histologi
Pankreas Mencit Hiperglikemia
Nama Mahasiswa : Yulita Kristina Nadeak
Nomor Pokok Mahasiswa : 2217061068
Jurusan/Program Studi : Biologi/S-1 Biologi Terapan
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Pembimbing I

Pembimbing II


Prof. Dr. Sutiyoso, M.Biomed.
NIP. 195704241987031001


Drs. M. Kanedi, M.Si.
NIP. 196101121991031002

2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA

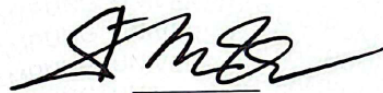

Dr. Jaji Mastor, S.Si., M.Si.
NIP. 198301312008121001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua

: Prof. Dr. Sutyarso, M.Biomed.



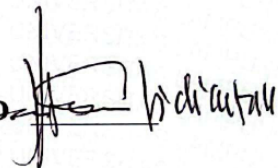
Sekretaris

: Drs. M. Kanedi, M.Si.



Penguji

Bukan Pembimbing : Prof. Endang Linirin Widiastuti, M.Sc., Ph.D.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 30 Januari 2026

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Yulita Kristina Nadeak
NPM : 2217061068
Program Studi : Biologi Terapan
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sesungguhnya dan sejujurnya, bahwa skripsi saya berjudul:

“Efek Puasa 12 Jam Terhadap Gambaran Histologi Pankreas Mencit Hiperglikemia”

Baik gagasan, data, maupun pembahasannya adalah **benar** karya saya sendiri yang saya susun dengan mengikuti norma dan etika akademik yang berlaku dan saya memastikan bahwa tingkat similaritas skripsi ini tidak lebih dari 20%.

Jika di kemudian hari terbukti pernyataan saya ini tidak benar, saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar sarjana maupun tuntutan hukum.

Bandar Lampung, 30 Januari 2026

Yang menyatakan,



Yulita Kristina Nadeak
NPM. 2217061068

RIWAYAT HIDUP



Yulita Kristina Nadeak, atau akrab disapa Yuli, dilahirkan di Muarabolak, 29 September 2004. Penulis merupakan anak dari pasangan Rotua Nadeak dan Dormian Bondar.

Penulis menempuh pendidikan pertamanya di SD N 2 Muarabolak pada tahun 2010, melanjutkan pendidikan di SMP N 2 Sosorgadong dan lulus pada tahun 2019. Tahun 2022, penulis menyelesaikan pendidikan di SMA N 1 Sosorgadong.

Selama pendidikan di SMA, penulis mengikuti kegiatan ekstrakurikuler Marching Band. Pada tahun 2022, penulis mendaftarkan diri pada program SBMPTN (Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri) dan lolos menjadi mahasiswa di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Selama berkuliah, penulis aktif di organisasi Biology English Club dan menjadi panitia pada acara Biology English Club.

Penulis melaksanakan Kerja Praktik di Balai Kekarantinaan Kesehatan Kelas I Panjang pada Januari 2025 dan menyelesaikan laporannya yang berjudul **"Identifikasi dan Pengukuran Kepadatan Lalat di Pelabuhan Panjang pada Januari 2025"**. Penulis melaksanakan KKN (Kuliah Kerja Nyata) di Desa Langkapura, Kelurahan Langkapura, Bandar Lampung pada Juli-Agustus 2025 selama 40 hari.

PERSEMBAHAN

Shalom

Dengan mengucapkan Puji syukur kepada Tuhan Yesus Kristus, atas berkat serta pertolongan yang diberikan, akhirnya skripsi ini dapat terselesaikan. Puji Tuhan serta ucapan syukur kepada Tuhan Yesus Kristus, saya persembahkan karya sederhana ini kepada orang yang sangat saya kasihi dan sayangi:

Dua orang yang paling berharga dan harta terbesar bagi hidup saya, Bapak Rotua Nadeak dan Mama Dormian Bondar yang telah memberikan cinta dan kasih sayang, dukungan, doa, materi dan selalu berjuang keras untuk saya dalam melakukan hal yang lebih baik, semoga ini menjadi langkah awal untuk membuat Bapak dan Mama Bahagia. Amin.

Dosen-dosen yang telah menjadi orang tua kedua di kampus yang tak bosan memberikan dan mengajarkan saya ilmu serta bimbingan dengan tulus dan ikhlas hingga saya berhasil mendapatkan gelar sarjana.

Untuk diri saya sendiri, yang telah mampu bertahan sampai akhir melewati suka duka proses perjalanan dalam mencapai gelar sarjana.

Teman-teman Biologi Terapan yang telah berjuang bersama dari awal menjadi mahasiswa baru sampai saat ini.

Almamater tercinta yang menjadi kebanggaan saya dimanapun saya berada,
Universitas Lampung

MOTTO

"Dengarkan mama, jangan ada di dalam pikiranmu ini, aku tidak bisa, aku tidak mampu, jangan ada pikiranmu seperti itu"

(Mama)

"Ho do boruku, sibaen sangap i diau, asa tanda maho inang, boru ni raja"

(Kaulah putriku, yang menjadikan kami hormat dihadapan orang lain, agar kau dikenal adalah Putriku yang berharga)

(Bapak)

"Karena masa depan sungguh ada dan harapanmu tidak akan hilang"

(Amsal 23: 18)

"Que sera-sera, whatever will be, will be. The future's not ours to see, que sera-sera, what will be, will be"

(Doris Day)

SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus yang telah melimpahkan berkat dan karunia-Nya, sehingga penulis masih diberikan kesempatan untuk menyelesaikan skripsi yang berjudul **"Efek Puasa 12 Jam Terhadap Gambaran Histologi Pankreas Mencit Hiperglikemia"** dibuat sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si.) di Universitas Lampung.

Penulis menyadari bahwa selama proses penulisan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan terima kasih yang begitu tulus atas segala bantuan dan bimbingan yang selalu diberikan serta turut membantu dalam penyusunan skripsi. Untuk itu, dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Eng Heri Satria, S.Si., M.Si., selaku dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung;
2. Bapak Dr. Jani Master, S.Si., M.Si., selaku ketua Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung;
3. Ibu Gina Dania Pratami, M.Si., selaku Ketua Program Studi Biologi Terapan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung;
4. Bapak Prof. Dr. Sutyarso, M.Biomed., selaku dosen pembimbing I yang telah sabar dan bersedia membimbing, mengarahkan, meluangkan waktu, memberikan banyak ilmu kepada penulis selama menyusun skripsi;
5. Bapak Drs. M. Kanedi, M.Si., selaku pembimbing II yang telah bersedia meluangkan waktu, membimbing, mengarahkan dan memberikan saran dan masukan kepada penulis dalam proses penyusunan skripsi ini;

6. Ibu Prof. Endang Linirin Widiastuti, M.Sc., Ph.D., selaku pembahas dan Pembimbing Akademik yang telah bersedia meluangkan waktu, memberikan saran dan arahan kepada penulis demi kesempurnaan dalam penyusunan skripsi;
7. Kedua orang tua, Bapak Rotua Nadeak dan Mama Dormian Bondar, terima kasih selalu berjuang untuk kehidupan penulis, beliau memang tidak sempat merasakan pendidikan sampai bangku perkuliahan, namun beliau mampu mendidik penulis, memotivasi, memberikan dukungan dan semangat serta selalu mengajarkan kebaikan dalam hidup penulis sehingga penulis mampu menyelesaikan studinya sampai sarjana. Terima kasih untuk doa-doa yang selalu diberikan untuk penulis, terima kasih telah berjuang keras untuk penulis. Sehat selalu dan panjang umur karena Bapak dan Mama adalah harta terbesar yang penulis miliki;
8. Adik-adikku yang tersayang, Alfredo Parasian Nadeak, Yenni Agnela Nadeak dan Yosefa Adelia Nadeak. Terima kasih telah menjadi penyemangat dan penghibur penulis dalam mengerjakan skripsi;
9. Kepada seseorang yang tidak kalah penting kehadirannya, 王钟元 (Wang Zhongyuan), kekasih penulis. Terima kasih telah membantu, menghibur, menyemangati dan selalu ada di setiap proses panjang skripsi ini. Kehadiran dan dukunganmu menjadi salah satu penguat yang membuat penulis mampu bertahan dalam menyelesaikan skripsi hingga selesai;
10. Untuk diri sendiri, terima kasih karena sudah bertahan sejauh ini, bahkan di hari-hari ketika rasanya ingin menyerah. Semua lelah, ragu, dan air mata yang pernah jatuh menjadi saksi bahwa penulis bisa melewati hingga sampai akhir;
11. Sahabat penulis yaitu Henni Turnip dan Kesya Tesalonika Purba dan teman penelitian mencent yaitu Dedi, Doni, Dita, Vania, Salsabila, Mitri, Lidya, Israhul dan Rizki serta teman-teman lainnya yang tidak dapat disebutkan satu per satu. Terima kasih telah bersedia meluangkan waktu untuk membantu penulis dimasa penelitian. Terima kasih atas dukungan dan motivasi yang diberikan kepada penulis;

12. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan, yang telah ikut serta membantu dalam penulisan skripsi ini;
13. Almamaterku, Universitas Lampung.

Penulis menyadari dalam menulis skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan dan terdapat banyak kekurangan serta kesalahan, untuk itu penulis mengharapkan kritik saran dan masukan yang bersifat membangun sehingga skripsi ini dapat berguna dan bermanfaat bagi kita semua. Akhirnya, dengan mengucapkan Puji Tuhan, penulis dapat menyelesaikan skripsi pada waktu yang tepat.

Bandar Lampung, 30 Januari 2026
Penulis,

Yulita Kristina Nadeak

DAFTAR ISI

COVER.....	I
ABSTRAK.....	II
HALAMAN PERSETUJUAN	5
LEMBAR PENGESAHAN	V
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	VI
RIWAYAT HIDUP	8
PERSEMBAHAN	9
MOTTO	10
SANWACANA	11
DAFTAR ISI.....	14
DAFTAR GAMBAR	17
DAFTAR TABEL	18
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Hipotesis Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	3
1.6 Kerangka Teoritis	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Definisi Puasa	6
2.1.1 Efek Puasa Terhadap Fisiologis Tubuh	8
2.1.2 Efek Puasa Terhadap Histologis	9
2.1.3 Intervensi Puasa 12 Jam	10
2.2 Hiperglikemia	11

2.3 Pankreas	12
2.3.1 Jaringan Endokrin Pankreas	13
2.3.2 Jaringan Eksokrin Pankreas	14
2.4 Aloksan	16
2.5 Mencit (Hewan Coba Laboratorium)	18
III. METODE PENELITIAN	21
3.1 Waktu dan Tempat	21
3.2 Alat dan Bahan	21
3.4 Pelaksanaan penelitian	23
3.4.1 Tahap Persiapan Hewan Uji	23
3.4.2 Tahap Induksi Hiperglikemia dengan Aloksan	24
3.4.2.3 Tahap Pengukuran Kadar Glukosa Darah	25
3.4.3 Tahap Perlakuan Puasa 12 jam.	25
3.4.4 Tahap Nekroskopi Hewan	26
3.4.5. Tahap Pembuatan Preparat Histologi	27
3.8 Pengukuran luas dan diameter Pulau Langerhans	30
3.5 Analisis Data	31
3.6 Alur Penelitian	32
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	33
4.6 Deskripsi Gambaran Histologi Pulau Langerhans Mencit pada Masing- Masing Perlakuan	41
4.6.1 Kelompok Mencit Kontrol (K)	41
4.6.2 Kelompok Mencit Normal Puasa 12 Jam Siang Hari (P1)	42
4.6.3 Kelompok Mencit Normal Puasa 12 Jam di Malam Hari (P2)	43
4.6.4 Kelompok Mencit Hiperglikemia Puasa 12 Jam Siang Hari (P3)	45
4.6.5 Kelompok Mencit Hiperglikemia Puasa 12 Jam Malam Hari (P4)	46
V. KESIMPULAN DAN SARAN	48
5.1 Kesimpulan	48
5.2 Saran	48
DAFTAR PUSTAKA	49

LAMPIRAN	58
LAMPIRAN 1	59
LAMPIRAN 2	60
LAMPIRAN 3	61
LAMPIRAN 4	68
LAMPIRAN 5	72
LAMPIRAN 6	76
LAMPIRAN 7	78
LAMPIRAN 8	83
LAMPIRAN 9	84
LAMPIRAN10	88

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 1. Pankreas	12
Gambar 2 . Pankreas mencit (<i>Mus musculus</i>) kontrol negatif (normal)	15
Gambar 3. Mencit (<i>Mus musculus</i>)	18
Gambar 4. Gambaran histologi Pulau Langerhans Kelompok K dengan perbesaran 400x (pewarnaan <i>hematoxylin-Eosin</i>)	41
Gambar 5. Gambaran histologi Pulau Langerhans Kelompok P1 dengan perbesaran 400x (pewarnaan <i>hematoxylin-Eosin</i>)	42
Gambar 6. Gambaran histologi Pulau Langerhans kelompok P1 perbesaran 400x (pewarnaan <i>Hematoxylin-Eosin</i>)	43
Gambar 7. Gambaran histologi Pulau Langerhans kelompok P3 perbesaran 400x (pewarnaan <i>Hematoxylin-Eosin</i>)	45
Gambar 8. Gambaran histologi Pulau Langerhans kelompok p4 perbesaran 40x (pewarnaan <i>Hematoxylin-Eosin</i>)	46

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1 . Kondisi dan Perlakuan Sampel	22
Tabel 2 . Rerata berat badan mencit (gram)	33
Tabel 3 . Rerata kadar glukosa mencit (Mg/dL)	35
Tabel 4 . Rerata luas pulau Langerhans pankreas mencit (μm^2)	37
Tabel 5 . Rerata diameter pulau Langerhans pankreas mencit (μm^2)	38
Tabel 6 . Rerata skor kerusakan pulau Langerhans pankreas mencit	39

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus merupakan penyakit metabolik kronis yang ditandai oleh hiperglikemia akibat gangguan sekresi insulin, resistensi insulin, atau kombinasi keduanya (American Diabetes Association, 2023). Menurut data *International Diabetes Federation* (IDF, 2025), jumlah penderita diabetes diperkirakan mencapai 589 juta orang pada tahun 2025 dan meningkat menjadi 783 juta pada tahun 2045. Indonesia diperkirakan menempati peringkat kelima dunia dengan 21,3 juta penderita diabetes pada tahun 2025, menunjukkan beban penyakit yang semakin meningkat di negara berkembang (International Diabetes Federation, 2025).

Hiperglikemia kronis menimbulkan berbagai komplikasi, salah satunya kerusakan organ termasuk pankreas. Pada diabetes tipe 1, kerusakan sel β pankreas dipicu oleh mekanisme autoimun, sedangkan pada diabetes tipe 2 terjadi resistensi insulin disertai penurunan kemampuan sekresi insulin. Kondisi ini memicu stres oksidatif, inflamasi, apoptosis, serta penurunan jumlah dan massa sel β pankreas sehingga homeostasis glukosa semakin terganggu (Dinić dkk., 2022; Lu dkk., 2024).

Salah satu strategi yang mendapat perhatian adalah puasa atau *time-restricted feeding*. Puasa 12 jam membatasi asupan kalori dalam periode waktu tertentu dan menyerupai pola makan pada puasa Ramadan. Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa puasa Ramadan dapat memperbaiki metabolisme tubuh, termasuk menurunkan kadar glukosa darah, meningkatkan profil lipid, serta memperbaiki sensitivitas insulin (Hassanein dkk., 2021; Tahapary dkk., 2020). Secara fisiologis, puasa menggeser sumber energi dari glukosa menuju lemak dan keton, sehingga mengurangi beban kerja sel β pankreas. Selain itu, puasa

intermiten terbukti dapat menurunkan stres oksidatif, meningkatkan fungsi mitokondria, dan menjaga viabilitas sel β (De Cabo dan Mattson, 2019; Patel dkk., 2024).

Dalam penelitian eksperimental, hiperglikemia dapat diinduksi dengan aloksan. Senyawa ini bekerja dengan menghambat enzim glukokinase dan menghasilkan spesies oksigen reaktif (ROS) yang menimbulkan kerusakan nekrotik selektif pada sel β pankreas. Hal ini menyebabkan defisiensi insulin dan deplesi pulau Langerhans, sehingga model ini banyak digunakan untuk mempelajari patogenesis diabetes (Ibrahim dkk., 2023).

Hingga saat ini, sebagian besar penelitian mengenai puasa lebih berfokus pada aspek biokimia, seperti kadar glukosa darah, lipid, dan sensitivitas insulin. Namun, kajian yang secara khusus mengevaluasi dampak puasa 12 jam terhadap gambaran histologi pankreas pada kondisi hiperglikemia akibat induksi aloksan masih sangat terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menganalisis pengaruh puasa 12 jam terhadap struktur histologi pankreas, khususnya pada luas dan diameter pulau Langerhans, serta skor kerusakan organ pankreas.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh puasa terhadap luas dan diameter pulau Langerhans pankreas mencit yang hiperglikemia?
2. Apakah puasa 12 jam dapat mengurangi derajat kerusakan histologi pulau Langerhans pankreas akibat induksi aloksan?
3. Apakah terdapat perbedaan efek puasa 12 jam antara periode siang dan malam terhadap gambaran histologi pulau Langerhans pankreas?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. Menganalisis pengaruh puasa 12 jam terhadap luas dan diameter pulau Langerhans pada pankreas mencit hiperglikemia induksi aloksan.

2. Menganalisis efek puasa 12 jam pada skor kerusakan histologi jaringan pankreas pada mencit yang diinduksi aloksan.
3. Membandingkan efek puasa 12 jam di siang dan malam hari terhadap gambaran histologi pankreas.

1.4 Hipotesis Penelitian

1. Puasa 12 jam berpengaruh meningkatkan luas dan diameter pulau Langerhans pankreas pada mencit hiperglikemia induksi aloksan.
2. Puasa 12 jam dapat mengurangi derajat kerusakan histologi pankreas akibat induksi aloksan.
3. Terdapat perbedaan efek antara puasa 12 jam siang dan malam terhadap gambaran histologi pankreas, dengan puasa malam memberikan efek perbaikan yang lebih baik.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini dapat menambah pengetahuan, wawasan, serta pemahaman mengenai pengaruh puasa 12 jam terhadap karakteristik mikroskopis pankreas dan dapat menjadi bahan referensi dalam kajian ilmiah yang berhubungan dengan metode *intermittent fasting* terhadap penyandang Diabetes Melitus.

1.6 Kerangka Teoritis

Diabetes melitus merupakan penyakit metabolik kronis yang ditandai oleh hiperglikemia persisten akibat gangguan sekresi insulin, resistensi insulin, atau kombinasi keduanya. Kondisi hiperglikemia yang berlangsung lama berperan penting dalam terjadinya kerusakan organ target serta disfungsi pankreas, khususnya pada sel β yang berfungsi sebagai penghasil insulin dan pengatur utama homeostasis glukosa darah. Pada tingkat jaringan, gangguan fungsi sel β akan berdampak pada perubahan struktur pulau Langerhans, yang dapat diamati melalui parameter morfometri dan gambaran histologi pankreas.

Hiperglikemia kronis menyebabkan peningkatan stres metabolik pada sel β pankreas. Paparan glukosa tinggi secara terus-menerus memicu peningkatan produksi spesies oksigen reaktif (Reactive Oxygen Species/ROS), gangguan fungsi retikulum endoplasma, serta aktivasi jalur kematian sel. Kondisi ini berkontribusi terhadap terjadinya degenerasi, nekrosis, dan penurunan jumlah sel β , yang secara morfologis tercermin sebagai penyusutan diameter dan luas pulau Langerhans serta peningkatan skor kerusakan jaringan pankreas. Perubahan struktural ini pada akhirnya memperburuk kemampuan pankreas dalam mempertahankan keseimbangan glukosa darah.

Untuk mereplikasi kondisi hiperglikemia pada hewan coba, penelitian ini menggunakan aloksan sebagai agen diabetogen. Aloksan diketahui memiliki afinitas tinggi terhadap sel β pankreas melalui transporter GLUT2 dan bekerja dengan menghasilkan ROS secara cepat di dalam sel. Mekanisme ini menyebabkan kerusakan sel β dalam waktu relatif singkat dan menurunkan produksi insulin. Induksi aloksan dilakukan tiga kali dalam 6 hari, dosis yang digunakan berdasarkan penelitian terdahulu mampu menimbulkan kondisi hiperglikemia yang terukur dalam periode observasi tertentu, sehingga cukup representatif sebagai model eksperimental hiperglikemia untuk mengevaluasi perubahan metabolik dan histologi pankreas.

Puasa merupakan salah satu bentuk intervensi non-farmakologis yang semakin banyak diteliti dalam konteks pengendalian metabolik. Puasa 12 jam, yang termasuk dalam pendekatan *time-restricted feeding*, menyebabkan perubahan adaptif pada metabolisme energi. Pada fase puasa, terjadi penurunan ketersediaan glukosa dan cadangan glikogen, sehingga tubuh beralih menggunakan asam lemak dan keton sebagai sumber energi utama. Pergeseran substrat energi ini diikuti dengan penurunan sekresi insulin serta peningkatan sensitivitas insulin jaringan perifer. Kondisi tersebut berpotensi mengurangi beban kerja sel β pankreas dan menurunkan risiko glukotoksisitas.

Selain itu, puasa diketahui dapat menurunkan stres oksidatif dan mengaktifkan mekanisme protektif seluler, seperti peningkatan efisiensi mitokondria dan autofagi, yang berperan dalam mempertahankan viabilitas sel. Dalam konteks pankreas, mekanisme ini diperkirakan dapat menekan laju kerusakan sel β dan memperbaiki atau mempertahankan struktur pulau Langerhans, yang tercermin melalui perubahan luas, diameter, dan skor kerusakan histologi. Pemilihan puasa 12 jam pada siang dan malam hari didasarkan pada perbedaan ritme sirkadian metabolik. Mencit merupakan hewan nokturnal, sehingga aktivitas makan, metabolisme, dan sekresi hormon sangat dipengaruhi oleh siklus terang–gelap. Puasa yang dilakukan pada waktu yang berbeda (siang dan malam) diperkirakan akan menghasilkan respons metabolik yang berbeda pula, terutama dalam regulasi glukosa dan fungsi sel β pankreas. Oleh karena itu, perbandingan puasa 12 jam siang dan malam dilakukan untuk mengevaluasi apakah keselarasan waktu puasa dengan ritme biologis dapat memengaruhi derajat perlindungan terhadap kerusakan pankreas pada kondisi hiperglikemia.

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh puasa 12 jam terhadap gambaran histologis pankreas mencit hiperglikemia induksi aloksan, yang dinilai melalui parameter luas dan diameter pulau Langerhans serta skor kerusakan jaringan, serta untuk membandingkan efek puasa 12 jam siang dan malam hari terhadap struktur pankreas.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Definisi Puasa

Puasa adalah kebiasaan membatasi jumlah makanan atau minuman yang dikonsumsi selama waktu tertentu. Berbagai alasan telah mendorong puasa, mulai dari diet hingga keyakinan agama hingga pemeriksaan medis. Dalam praktik medis, ini umumnya digunakan untuk tes laboratorium glukosa darah dan penanda lipid untuk membantu dalam diagnosis berbagai penyakit dan menilai berbagai faktor risiko. Jenis puasa telah dipelajari karena kemampuannya untuk meningkatkan metrik fisiologis yang terkait dengan kesehatan. Sensitivitas insulin, tekanan darah, lipid aterogenik, lemak tubuh, dan peradangan adalah beberapa faktor ini. Banyak dari penelitian ini melibatkan mereka yang berpartisipasi dalam tradisi Islam Ramadan karena para peserta berpuasa setiap hari dari fajar hingga matahari terbenam selama sebulan penuh (Sanvictores dkk., 2018).

Dua jenis puasa intermiten utama telah dipilih untuk menjalani gaya hidup yang lebih sehat: puasa fajar hingga matahari terbenam atau fajar hingga senja, yang melibatkan satu kali puasa dan satu kali waktu makan dan minum dalam sehari. Puasa fajar hingga matahari terbenam adalah jenis puasa intermiten yang paling umum di bulan Ramadan. Makan terbatas waktu, memiliki arti yang lebih luas daripada puasa intermiten. Secara umum, puasa intermiten melibatkan satu kali puasa dan satu kali waktu makan atau minum dalam satu hari, sedangkan makan terbatas waktu dapat mencakup lebih dari satu kali puasa dan lebih dari satu waktu makan atau minum dalam satu hari. Sebagai contoh, seseorang dapat makan sarapan pagi antara pukul 7 dan 8 pagi dan kemudian berpuasa hingga pukul 8 sore (Bhatti dan Mindikoglu, 2022).

Perubahan radikal dalam fisiologi dan metabolisme seluler terjadi selama puasa. Tubuh biasanya menggunakan glukosa darah melalui glikolisis untuk memenuhi kebutuhan energinya. Selama berpuasa, simpanan glikogen di hati dan otot rangka adalah cara pertama yang digunakan untuk menjaga kadar glukosa darah tetap stabil. Rantai monosakarida glukosa terpolimerisasi yang disebut glikogen digunakan untuk menghasilkan energi dalam proses glikogenolisis (Sanvictores dkk., 2018).

Organ yang paling langsung terpengaruh oleh puasa adalah pankreas. Selama masa glukosa plasma rendah, pankreas akan melepaskan lebih banyak glukagon dari sel-sel alfa yang ditemukan di pulau Langerhans. Glukagon terutama akan memengaruhi hati karena menyimpan sebagian besar glikogen dalam tubuh. Otot rangka juga dipengaruhi oleh glukagon, tetapi pada tingkat yang lebih rendah karena otot rangka mengandung konsentrasi glikogen yang rendah. Setelah simpanan glikogen hati habis, tubuh menggunakan jaringan adiposa dan protein untuk energi. Hati memiliki peran aktif dalam metabolisme lemak karena merupakan pengoksidasi utama trigliserida. Dalam versi puasa yang lebih ekstrem, di mana sumber lemak telah dikeluarkan, tubuh memecah otot rangka untuk energi. Katabolisme otot rangka menyediakan tubuh dengan asam amino yang dapat dimetabolisme. Namun, proses ini juga menyebabkan pengurangan massa otot (Sanvictores dkk., 2018).

Puasa ini telah banyak diteliti pada hewan percobaan seperti mencit karena dampaknya terhadap berbagai fisiologis. Setelah mencit dipuasakan selama dua belas hingga enam belas jam, kadar glukosa darahnya tetap stabil. Setelah dua belas jam berpuasa, tubuh mencit dan hewan lainnya mengalami perubahan metabolisme, yang menyebabkan penurunan sekitar dua puluh persen kadar glukosa darah dan penghancuran cadangan glikogen di hati. Dalam situasi ini, tubuh tidak lagi menggunakan glukosa hati sebagai sumber energinya, tetapi lebih memilih untuk menggunakan keton dari lemak dan asam lemak bebas (Hamdani dan Pahlevi, 2025).

2.1.1 Efek Puasa Terhadap Fisiologi Tubuh

Metode puasa intermiten ini sangat mengubah tubuh, terutama dalam hal penurunan lemak, mempertahankan massa otot, dan mengoptimalkan pemanfaatan energi. Serangkaian penelitian menunjukkan bahwa puasa singkat dapat mengubah metabolisme, yang berarti penurunan lemak tubuh, sensitivitas insulin yang lebih baik, dan penggunaan energi yang lebih efisien. Selain itu, orang yang menjalankan puasa intermiten dengan protokol yang tepat dapat menggunakan teknik ini untuk mempertahankan atau bahkan meningkatkan massa otot mereka (Čermáková dkk., 2024; Dote-Montero dkk., 2022).

Setelah cadangan glikogen tubuh habis selama puasa intermiten, tubuh mulai menggunakan lemak sebagai sumber energi utama. Beberapa jenis penelitian Interval waktu puasa yang lebih lama, seperti metode 16:8, yang melibatkan 16 jam puasa dan 8 jam makan, dapat meningkatkan oksidasi lemak dan mempercepat pemecahan trigliserida menjadi asam lemak bebas. Asam lemak bebas kemudian diubah menjadi energi melalui proses beta oksidasi (Herz dkk., 2024).

Menurut sejumlah penelitian terdahulu, puasa intermiten memiliki pengaruh yang signifikan terhadap penurunan lemak tubuh. Pengurangan persentase lemak tubuh adalah fokus utama. Dibandingkan dengan diet restriktif, penurunan lemak terjadi secara bertahap dan lebih mudah dipertahankan dalam jangka panjang. Ini menunjukkan bahwa tubuh dapat menggunakan lemak sebagai sumber energi selama berpuasa tanpa kehilangan banyak energi (Dote-Montero dkk., 2022).

Studi oleh Junaid dkk. (2024) menunjukkan bahwa Puasa selama dua belas jam siang dan malam selama empat belas hari dapat menurunkan kadar glukosa darah puasa dan berat badan pada mencit hiperglikemia yang diinduksi aloksan. Selain itu, puasa selama dua belas jam juga

terbukti menurunkan berat badan dan kolesterol total mencit. Efek ini terjadi karena saat puasa, tubuh mengalami perubahan adaptif, seperti peningkatan ekspresi *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF) di otak bebas (Hamdan dan Pahlevi, 2025).

Namun, penting untuk diingat bahwa keberhasilan puasa intermiten dalam mencapai penurunan lemak, pemeliharaan otot, dan optimalisasi energi sangat bergantung pada banyak hal, termasuk jenis puasa dan lamanya puasa, jumlah dan kualitas asupan gizi selama jendela makan (Herz dkk., 2024). Penurunan kinerja fisik dan mental, serta risiko kehilangan massa otot, dapat disebabkan oleh puasa berulang yang tidak sehat, terutama jika tidak memiliki asupan gizi yang seimbang. Akibatnya, penting untuk berpikir secara menyeluruh tentang hal-hal ini dan membuat rencana yang mencakup pola makan yang seimbang, latihan fisik yang cukup, dan istirahat yang cukup (Tjakradidjaja, 2024).

2.1.2 Efek Puasa Terhadap Histologis

Studi oleh Ratri (2018) tentang Pengaruh *Intermittent Fasting* Terhadap Gambaran Histopatologi Sel Goblet Pada Mencit Balb-C yang bertujuan untuk mengetahui ada/tidaknya perbedaan jumlah sel goblet intestinal antara kelompok perlakuan IF dan kelompok kontrol, dilakukan penghitungan kuantitatif jumlah sel goblet pada duodenum mencit, menemukan bahwa tidak terdapat perbedaan jumlah sel goblet pada duodenum mencit Balb-C antara kelompok yang menerima perlakuan *Intermittent Fasting* (IF) dibandingkan dengan kelompok AL maupun HF.

Studi oleh Farhan (2023) tentang efek *intermittent fasting* terhadap gambaran histologi lemak subkutan pada mencit model obesitas. hasil pengamatan histologi, diperoleh temuan bahwa penerapan *intermittent fasting* tipe *time-restricted feeding* tidak memberikan pengaruh yang bermakna terhadap perubahan jumlah sel adiposit pada jaringan lemak subkutan inguinal. Selain itu, metode ini juga tidak menunjukkan efek

signifikan terhadap perubahan berat badan pada mencit obesitas. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa dalam kondisi penelitian yang diterapkan, *intermittent fasting* tipe *time-restricted feeding* tidak memengaruhi struktur histologi adiposit maupun parameter berat badan pada mencit model obesitas.

Studi oleh Ginting (2023) tentang pengaruh puasa intermiten diurnal (pid) terhadap mediator pro inflamasi, hasil analisis histopatologi pankreas memperlihatkan penurunan jumlah sel yang mengalami degenerasi dan nekrosis serta peningkatan pulau-pulau Langerhans, yang menunjukkan adanya perbaikan morfologis jaringan pankreas pada tikus yang menjalani protokol puasa tersebut. Gambaran histopatologi hati (liver) juga menunjukkan penurunan jumlah sel yang mengalami degenerasi dan nekrosis, serta dilaporkan adanya peningkatan pulau Langerhans pada tikus model diabetes melitus tipe II dalam konteks pengamatan yang dilakukan pada studi ini.

2.1.3 Intervensi Puasa 12 Jam

Berdasarkan studi oleh Isman dkk. (2024), pemilihan durasi puasa 12 jam didasarkan pada desain penelitian *intermittent fasting* yang umum digunakan dalam studi metabolik untuk meniru pola puasa intermiten pada manusia, sekaligus mempertimbangkan karakteristik fisiologis mencit (*Mus musculus*) sebagai model hewan yang memiliki kesamaan genomik dengan manusia. Durasi 12 jam dipilih karena merupakan periode yang cukup untuk memicu perubahan metabolik signifikan, seperti penurunan glukosa darah dan peningkatan mobilisasi asam lemak, tanpa menyebabkan stres fisiologis berlebihan pada hewan uji (Isman dkk., 2024).

Dalam studi ini, metode intervensi harian kronis digunakan. Ini berarti mencit dipuaskan setiap hari selama dua belas jam dalam interval waktu tertentu siang atau malam sepanjang periode penelitian. Ini berbeda dengan memberikan mencit puasa satu kali sebelum

pengukuran. Hal ini terlihat dari pengukuran berkala pada minggu pertama dan kedua, yang menunjukkan perubahan progresif pada berat badan dan kadar kolesterol. Pemilihan jendela puasa 12 jam juga mempertimbangkan aspek sirkadian, di mana puasa malam hari lebih efektif karena selaras dengan ritme metabolik alami menciit yang nokturnal, sehingga meminimalkan risiko gangguan metabolisme dan stres oksidatif. Kontrol yang dilakukan termasuk pemberian *high-fat diet* yang seragam pada semua kelompok, pengukuran *baseline* kolesterol sebelum intervensi, dan penggunaan kelompok kontrol non-puasa untuk memastikan bahwa perubahan yang diamati benar-benar disebabkan oleh intervensi (Isman dkk., 2024).

2.2 Hiperglikemia

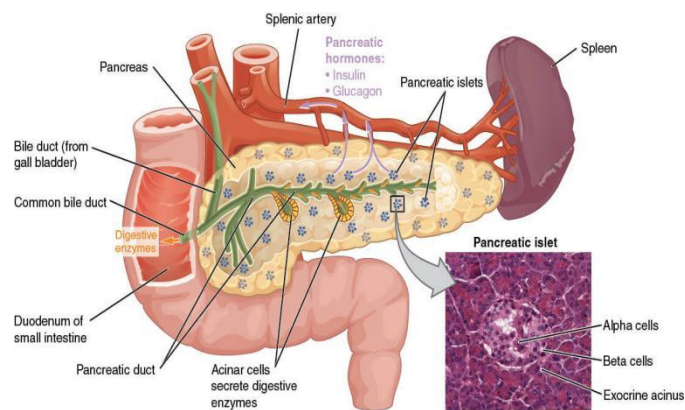
Hiperglikemia merupakan peningkatan kadar glukosa darah melebihi batas normal yang disebabkan oleh kekurangan insulin, penurunan efektivitas kerja insulin, atau kombinasi keduanya, adalah tanda klinis dari penyakit metabolik yang dikenal sebagai diabetes melitus. Kegagalan pankreas untuk menghasilkan jumlah insulin yang cukup atau resistensi sel-sel tubuh terhadap insulin menyebabkan hiperglikemia. Akibatnya, glukosa tidak dapat masuk ke dalam sel untuk digunakan sebagai sumber energi. Kondisi hiperglikemia jangka panjang ini menyebabkan gangguan metabolisme karbohidrat, protein, dan lemak. Hal ini menyebabkan kerusakan jaringan dan disfungsi pembuluh darah, serta mata, ginjal, saraf, jantung, dan pembuluh darah (Elsayed dkk., 2023).

Hiperglikemia pada diabetes melitus berdampak langsung dan merusak pada organ pankreas, terutama pada sel pulau Langerhans yang bertanggung jawab atas produksi insulin. Peningkatan kadar glukosa darah yang berkelanjutan menyebabkan stres oksidatif, yang merusak sel melalui mekanisme apoptosis dan nekrosis, yang mengurangi kemampuan pankreas untuk menghasilkan cukup insulin (Mirontoneng dkk., 2019). Selain itu, paparan glukosa tinggi juga dapat menyebabkan peradangan lokal, yang memperburuk kerusakan

jaringan pankreas dan mengganggu struktur normal pulau Langerhans. Akibatnya, perbedaan antara pulau Langerhans dan sel asinar menjadi tidak jelas atau bahkan hilang (Beandrade dkk., 2022).

Studi oleh Aminah dan Qomariyah (2023) menunjukkan bahwa diameter pulau Langerhans di kelompok kontrol negatif (HFD dan Aloksan) dan dosis I (215 mg/kg BB) lebih kecil. Paparan zat yang menyebabkan diabetes seperti aloksan merusak permeabilitas membran sel dan mengganggu sel pankreas yang menghasilkan hormon insulin. Selain itu, batas yang membedakan pulau Langerhans dari sel asinar tidak jelas dan bahkan telah menghilang. Sebagai turunan urea, alkanal memiliki kemampuan untuk menyebabkan nekrosis sel pankreas.

2.3 Pankreas



Gambar 1. Pankreas

(Frank dkk., 2004)

Pankreas merupakan organ yang memiliki peran ganda, yaitu sebagai organ eksokrin sekaligus endokrin. Pada fungsi eksokrin, pankreas menghasilkan berbagai enzim pencernaan yang berperan penting dalam proses pemecahan serta penyerapan nutrisi di saluran cerna. Sementara itu, pada fungsi endokrin, pankreas menghasilkan hormon-hormon seperti insulin dan glukagon yang berperan penting dalam menjaga keseimbangan kadar glukosa

darah serta mengatur metabolisme energi tubuh secara keseluruhan (Silverthorne, 2013).

Pankreas terletak di retroperitoneum dan merupakan kelenjar campuran yang melakukan fungsi eksokrin dan endokrin, menghasilkan enzim pencernaan dan hormon yang memanjang ke sisi kiri dengan kauda dan bagian kaput dekat duodenum (Mescher dan Junqueira, 2016). Pankreas memiliki berat sekitar 150 gram dan berukuran 25 cm panjang, 5 cm lebar, dan 2 cm tebal (Gartner dan Hiatt, 2017).

2.3.1 Jaringan Endokrin Pankreas

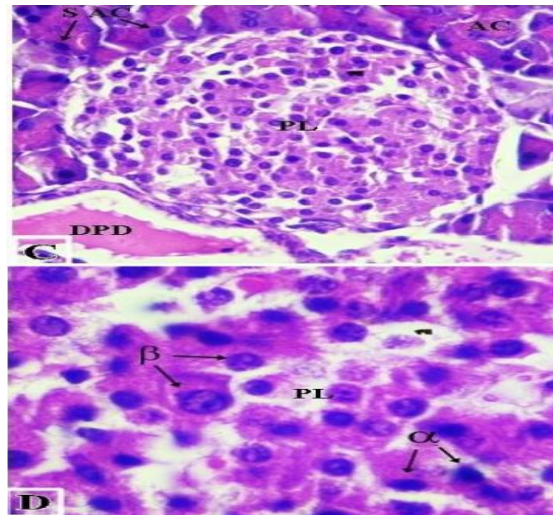
Pankreas merupakan kelenjar campuran yang menghasilkan sekresi internal maupun eksternal. Sebagian besar jaringan pankreas terdiri atas jaringan kelenjar asinus eksokrin. Di dalam jaringan tersebut terdapat pulau-pulau Langerhans yang berfungsi menghasilkan sekresi internal. Pulau-pulau Langerhans merupakan pusat fungsi endokrin pankreas. Struktur ini terbentuk dari berbagai jenis sel dengan ukuran bervariasi antara 50–300 mikrometer yang tersusun dalam pola anatomi tertentu. Pada bagian tengah pulau Langerhans terdapat sel beta. Sel beta berperan penting dalam sintesis dan sekresi insulin, yaitu salah satu regulator utama metabolisme manusia. Insulin merupakan hormon peptida kecil yang tersusun atas 51 asam amino, diproduksi serta dikemas di dalam sel beta pankreas. Sekresi eksternalnya yang mengandung berbagai enzim pencernaan dialirkan ke duodenum melalui duktus pankreatikus, sedangkan sekresi internalnya langsung masuk ke dalam aliran darah (Nakamura dan Satou, 2012; Arıncı dan Elhan, 2001; Çağlar dkk., 2014).

Pulau Langerhans umumnya terdiri atas tiga kelompok utama sel, yaitu sel alfa (A) yang menyekresikan glukagon, sel beta (B) yang menyekresikan insulin, dan sel delta (D) yang menyekresikan gastrin serta somatostatin. Selain itu, terdapat pula sel-sel berukuran lebih kecil yang menyerupai sel A, B, dan D, yang berfungsi menyekresikan

berbagai peptida. Sel yang menyekresikan hormon polipeptida pankreas dari kelompok ini disebut sel PP. Aktivitas parasimpatis merangsang sel beta untuk menyekresikan insulin, yang kemudian mengubah glukosa menjadi glikogen dan menyimpannya di hati. Sebaliknya, aktivitas simpatik merangsang sel alfa untuk menyekresikan glukagon, yang berperan mengubah glikogen menjadi glukosa (Nakamura dan Satou, 2012; Arıncı dan Elhan, 2001; Çağlar dkk., 2014).

2.3.2 Jaringan Eksokrin Pankreas

Bagian pankreas yang menghasilkan sekresi eksokrin memiliki kemiripan dengan kelenjar ludah, dengan bentuk gabungan berupa tabula alveolar. Sekresi eksokrin pankreas terdiri atas dua komponen, yaitu bagian cairan berair yang kaya bikarbonat dan bagian enzim. Sekresi eksokrin pankreas bersifat jernih, isotonik, dan alkalis, dengan volume rata-rata sekitar 1500–2000 ml per hari. Proses sekresi cairan ini dikendalikan oleh saraf, yaitu nervus vagus, serta oleh hormon sekretin dan cholecystokinin yang diproduksi di duodenum. Jaringan ikat pada pankreas eksokrin dan kelenjar cenderung mengalami penurunan volume seiring bertambahnya usia. Oleh karena itu, penuaan umumnya diikuti dengan terjadinya atrofi anatomi maupun histologi pada kelenjar pankreas (Guyton dan Hall, 2006; Çağlar dkk., 2014).



Gambar 2. Pankreas mencit (*Mus musculus*) kontrol negatif (normal)

C: Per besaran 40x10, Pulau Langerhans (PL), Saluran pembuluh darah (DPD), Asinar (AC) dan Sel-sel Asinar (S AC); D: Per besaran 100x10, Pulau Langerhans (PL), Sel Beta (β), dan Sel Alfa (α)

(Nubatonis dkk., 2019)

Bagian sitoplasma dari pulau Langerhans, yang memiliki warna eosinofilik yang lemah dan lebih muda pada pewarnaan HE, ditunjukkan dalam histopatologi pankreas mencit (Gambar 2C) dengan per besaran 40 kali. Ini membuatnya sangat mudah untuk membedakan dengan bagian eksokrin sel-sel asinar dan daerah pulau Langerhans memiliki batas yang jelas dan terdiri dari sel-sel penghasil hormon yang padat dan kompak. Tidak ada sel yang mengalami pembengkakan, atau edema, yang menunjukkan bahwa pulau Langerhans tidak rusak atau dalam kondisi normal (Nubatonis dkk., 2019).

Sel alfa (α) dan sel beta (β), yang terletak di tengah pulau Langerhans dan menyekresi 70% dari sel endokrin pulau Langerhans, ditunjukkan dalam gambar histopatologi pankreas mencit (Gambar 2D), serta memiliki inti besar dan bulat. Sel alfa menyekresi glukagon terletak di bagian perifer pulau Langerhans dan merupakan 15% dari sel endokrin pulau Langerhans. Sel ini memiliki inti yang tidak teratur dan granula seretoris yang mengandung glukagon (Nubatonis dkk., 2019).

2.4 Aloksan

Aloksan dikenal sebagai senyawa eksperimental yang digunakan untuk menginduksi hiperglikemia pada model hewan coba. Senyawa ini bekerja dengan menghambat aktivitas enzim glukokinase dan memicu pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS). Akibatnya, aloksan mengakibatkan kerusakan nekrotik yang selektif pada sel- β pankreas. Penurunan jumlah sel- β tersebut menyebabkan defisiensi insulin, yang selanjutnya memicu gangguan pada metabolisme karbohidrat, protein, dan lemak. Dengan demikian, aloksan secara efektif menciptakan kondisi diabetes yang ditandai dengan hiperglikemia dan disfungsi metabolik yang menyertainya (Ibrahim dkk., 2023).

Aloksan adalah senyawa diabetogen yang banyak digunakan dalam penelitian eksperimental untuk menginduksi kondisi hiperglikemia, karena memiliki toksisitas selektif terhadap sel β pankreas. Senyawa ini merupakan analog glukosa dengan kemiripan struktur yang memungkinkan masuk ke dalam sel β melalui transporter GLUT2 dan terakumulasi di dalamnya. Mekanisme sitotoksitas aloksan terutama dimediasi oleh pembentukan spesies oksigen reaktif (*Reactive Oxygen Species/ROS*), yang dihasilkan melalui reaksi redoks siklik antara aloksan dan bentuk tereduksinya, yaitu asam dialurat (Rehman dan Akash, 2016).

Studi terbaru oleh Mallhid dkk. (2023) menunjukkan bahwa aloksan menyebabkan diabetes melalui mekanisme yang kompleks; senyawa ini menyebabkan perubahan struktural dalam hitungan jam dan kerusakan fungsional sel yang ireversibel dalam hitungan menit. Injeksi intravena aloksan pada dosis 60 mg/kg berat badan dapat menyebabkan insulinopenia berat, menurunkan konsentrasi insulin hingga 10–30 persen dari nilai normal, menurut penelitian tersebut.

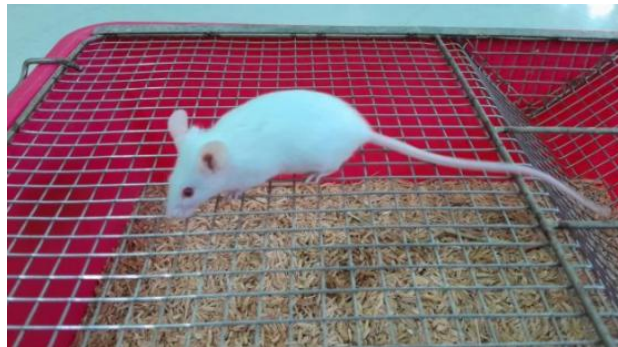
Studi oleh Azzahra dan Sujono (2024) menemukan bahwa injeksi aloksan meningkatkan glukosa darah, menurunkan insulin plasma, dan menurunkan berat badan. Defisiensi insulin menyebabkan kerusakan sel beta pankreas,

yang menyebabkan hiperglikemia. Selanjutnya, kondisi ini menyebabkan berbagai perubahan metabolik sekunder. Beberapa di antaranya adalah perubahan dalam metabolisme karbohidrat, protein, dan lemak.

Menurut studi yang dilakukan oleh Aljazzaf dkk. (2023) menggunakan analisis imunohistokimia, perlakuan aloksan segera menyebabkan massa sel beta pankreas, yang dikenal sebagai sel positif insulin, dan kerusakan bertahap dari struktur islet Langerhans. Degenerasi sel beta, infiltrasi sel inflamasi, fibrosis, dan penurunan densitas islet pankreas adalah perubahan histopatologi yang diamati.

Dalam studi terbaru yang dilakukan oleh Ibrahim dkk. (2023), injeksi aloksan menyebabkan deplesi pada pulau Langerhans yang signifikan, diikuti oleh perubahan morfologi sel beta pankreas yang ditunjukkan oleh pembengkakan sitoplasma, kondensasi nukleus, dan fragmentasi DNA. Taye dkk. (2020) juga melakukan penelitian yang menunjukkan bahwa mencit yang diinduksi aloksan menunjukkan tanda-tanda diabetes klasik, seperti hiperglikemia, poliuria, polidipsia, dan penurunan berat badan yang signifikan. Defisiensi insulin mengganggu utilitas glukosa dan meningkatkan katabolisme protein dan lemak, yang menyebabkan penurunan berat badan.

2.5 Mencit (Hewan Coba Laboratorium)



Gambar 3. Mencit (*Mus musculus*)
(Fahmi dkk, 2023)

Saat melakukan penelitian, *Mus musculus* atau yang biasa disebut mencit, adalah hewan kecil dari kelas mamalia. Sebagai model hewan, mencit digunakan dari 40% hingga 80% dalam laboratorium. Mencit ini sangat umum untuk menggunakan dalam penelitian, terutama dalam bidang biologi, genetika, toksikologi, patologi, histopatologi, dan bidang lain. Ciri khas mencit adalah ukurannya yang panjang kecil dan panjangnya hanya 7–10 sentimeter (tanpa ekor) (Khairani, Ilyas, dan Yurndadi, 2024).

Taksonomi mencit menurut (Nugroho, 2018) adalah sebagai berikut.

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Sub filum	: Vertebrata
Class	: Mamalia
Sub class	: Theria
Ordo	: Rodentia
Sub ordo	: Myomorpha
Famili	: Muridae
Sub family	: Murinae
Genus	: Mus
Species	: <i>Mus musculus</i>

Dari klasifikasi mencit di atas, dapat menguraikan beberapa karakteristik utama mencit yaitu mencit termasuk dalam filum *chordate*, yang berarti mereka memiliki *chorda dorsalis*, satu batang syaraf dorsal, dan selama masa embrionya, mereka hanya memiliki celah insang dan tidak berfungsi sebagai alat pernapasan. Klasifikasi mamalia mencakup mencit. Seperti yang diketahui, mamalia adalah kelompok hewan vertebrata dengan panjang perkembangan tertinggi. Nama mamalia mengacu pada karakteristik utama anggota mamalia, seperti kelenjar mammae atau kelenjar air susu, yang pada betina dapat menghasilkan air susu yang dapat diberikan ke keturunannya (Nugroho, 2018).

Semua jenis mamalia memiliki rambut selain kelenjar mammae; namun, distribusi, ukuran, fungsi, modifikasi, dan kelebatan rambut berbeda-beda. Mencit juga termasuk hewan dengan adaptasi homoterm, yaitu kemampuan untuk mempertahankan suhu tubuhnya. Ciri-ciri lain mencit sebagai kelompok mamalia dan subkelas *theria* adalah memiliki daun telinga (pinna), tengkorak yang bersendi pada tulang atlas melalui dua *condyles occipitalis*, Panjang yang ditemukan baik pada hewan muda maupun tua, eritrosit tidak bernukleus, dan otak dengan empat lobus opticus dengan jumlah jari pada tiap lobus, kaki tidak lebih dari lima, dan ginjalnya berbentuk metanefros dan vivipar. Mencit memiliki ciri-ciri berikut sebagai anggota ordo rodentia: jari-jari lima masing-masing bercakar, testis abdominal, plasenta tipe discoidal, dan hanya sepasang gigi seri pada rahang atas yang tumbuh terus dan membentuk seperti pahat (Nugroho, 2018).

Sebagai hewan percobaan, mencit memiliki banyak keunggulan, termasuk siklus hidup yang panjang pendek, banyak anak per kelahiran, dan variasi sifat yang tinggi. Mencit memiliki bulu putih halus pendek dan ekor berwarna kemerahan yang lebih panjang dari badan dan kepala. Secara umum, mencit memiliki ciri-ciri seperti tekstur rambut yang lembut dan halus, hidung yang terpotong dengan bentuk kerucut, bentuk badan silindris yang agak membesar ke belakang warna rambut putih, dan mata dan ekor berwarna merah muda (Nugroho, 2018).

Dalam penelitian ini digunakan mencit strain BalbC sebagai hewan uji karena memiliki beberapa keunggulan, antara lain biaya pemeliharaan yang relatif rendah, ukuran tubuh kecil sehingga memudahkan penanganan, serta kesamaan fisiologis dengan manusia sebagai sesama mamalia yang menjadikannya relevan untuk model penelitian biomedis. Strain ini umumnya berwarna putih (albino) dan bersifat nokturnal dengan aktivitas puncak pada sore hingga malam hari. Pemeliharaan dilakukan pada suhu ruang 20–25°C dengan kelembapan 45–55% (Nugroho, 2018).

Penelitian ini menggunakan mencit jantan. Pemilihan jantan didasarkan pada pertimbangan bahwa siklus estrus pada betina dapat memengaruhi hasil penelitian, sedangkan jantan memiliki kondisi hormonal yang lebih stabil. Selain itu, keseragaman umur dan berat badan dipertahankan untuk meminimalkan variabilitas antar hewan coba, sehingga respons terhadap perlakuan menjadi lebih konsisten (Ramadani, 2022).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Oktober 2025 - Desember 2025, diawali dengan tahap aklimatisasi atau pemeliharaan hewan uji dilanjutkan dengan tahap induksi aloksan dan tahap perlakuan puasa 12 jam siang dan malam pada hewan uji mencit di Laboratorium Hewan Uji Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Proses pembedahan dan pembuatan preparat histologi pankreas dilakukan di Laboratorium Anatomi, Histologi dan Patologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung. Tahap pengamatan preparat dilakukan di Laboratorium Zoologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi kandang standar untuk pemeliharaan mencit yang dilengkapi botol minum dan wadah pakan, timbangan digital presisi dan timbangan analitik, spuit 1 mL, seperangkat alat bedah minor berupa pinset, gunting, dan skalpel yang dilengkapi alas serta papan bedah mencit, lancet atau jarum kecil, mikrotom, *Waterbath* histologi, oven atau inkubator jaringan, *embedding cassette* dan *base mold*, *object glass* dan *cover glass*, kamera mikroskop atau kamera digital untuk dokumentasi preparat, komputer atau laptop yang dilengkapi perangkat lunak analisis statistik (SPSS), alat POCT (*Point of Care Testing*) beserta strip uji glukosa, serta perlengkapan keselamatan kerja berupa jas laboratorium, sarung tangan, masker, label, dan tisu steril.

Bahan penelitian yang digunakan meliputi mencit putih jantan (*Mus musculus*) berumur 8–12 minggu dengan bobot 20–35 gram, aloksan monohidrat, larutan NaCl fisiologis 0,9%, larutan formalin 10%, alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, 96%, dan absolut), xilol, parafin cair, larutan bufer fosfat (PBS), pewarna Hematoksin dan Eosin, entellan atau *mounting* medium, akuades, kapas dan kasa steril, alkohol 70% sebagai desinfektan, pakan standar mencit, serta air minum.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini termasuk ke dalam penelitian eksperimental dengan menggunakan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 kelompok perlakuan dan 5 pengulangan. Penelitian ini menggunakan hewan percobaan berupa mencit putih jantan (*Mus musculus*) strain BalbC sebagai hewan uji dengan berat badan 20–35 gram dan berusia 2–3 bulan. Hewan percobaan diperoleh dari Mini Mouse, Sukarama. Pada penelitian ini, organ yang digunakan sebagai sampel adalah pankreas yang berasal dari 5 kelompok perlakuan sebagaimana ditunjukkan pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Kondisi dan Perlakuan Sampel

Kelompok Mencit	Deskripsi	Hiperglikemia /Tidak	Perlakuan
K (Kontrol)	Kelompok mencit normal tidak puasa	Tidak	Tanpa perlakuan
P1	Kelompok mencit normal Puasa 12 jam siang hari	Tidak	Tanpa perlakuan
P2	Kelompok mencit normal Puasa 12 jam malam hari	Tidak	Tanpa perlakuan
P3	Kelompok mencit hiperglikemia puasa 12 jam siang hari	Hiperglikemia	Induksi aloksan monohidrat 150 mg/BB selama
P4	Kelompok mencit hiperglikemia puasa 12 jam malam hari	Hiperglikemia	Induksi aloksan monohidrat 150 mg/BB

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian berdasarkan buku panduan penelitian WHO tahun 2005. Perhitungan sampel dilakukan menggunakan rumus Federer (Suarni dan Badri, 2016).

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

Keterangan:

t = Jumlah kelompok

n = Jumlah subyek per kelompok

Karena penelitian ini melibatkan 4 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol, maka jumlah sampel yang diperlukan adalah:

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

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

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \dots\dots\dots \geq 4,75$$

$$n \dots\dots\dots \geq 5$$

Pada penelitian ini besar sampel yang digunakan dalam setiap kelompok perlakuan ada 5 ekor mencit. Sehingga jumlah sampel pada penelitian ini adalah 25 ekor mencit.

3.4 Pelaksanaan penelitian

3.4.1 Tahap Persiapan Hewan Uji

Mencit diaklimatisasi selama tujuh hari di laboratorium dengan pemberian pakan pelet standar dan air minum secara *ad libitum*. Masa aklimatisasi ini bertujuan untuk memungkinkan mencit menyesuaikan diri dengan lingkungan baru, sehingga dapat meminimalkan stres yang berpotensi memengaruhi metabolisme serta mengganggu jalannya penelitian. Selama periode adaptasi, berat badan mencit ditimbang secara berkala untuk menentukan dosis perlakuan yang sesuai. Mencit yang digunakan sebagai hewan uji adalah mencit sehat, yang ditandai dengan kondisi fisik normal berupa bulu halus tidak berdiri, warna bulu

putih bersih, mata jernih, serta aktivitas dan perilaku yang normal (Junaid dkk., 2024).

3.4.2 Tahap Induksi Hiperglikemia dengan Aloksan

3.4.2.1 Pembuatan Larutan Aloksan

Larutan aloksan untuk induksi hiperglikemia dibuat dengan cara melarutkan aloksan monohidrat ke dalam larutan NaCl 0,9% steril sesuai dosis yang ditentukan berdasarkan berat badan mencit. Aloksan ditimbang terlebih dahulu, kemudian dilarutkan dalam saline hingga larut sempurna dan tidak meninggalkan partikel. Pembuatan larutan dilakukan sesaat sebelum injeksi, karena aloksan bersifat tidak stabil dan mudah terdegradasi apabila disimpan terlalu lama setelah dilarutkan. Larutan yang telah dibuat segera digunakan dan diberikan secara intraperitoneal pada mencit untuk menghasilkan kondisi hiperglikemia melalui kerusakan selektif sel β pankreas (Fajarwati dkk., 2023).

3.4.2.2 Induksi Hiperglikemia

Induksi hiperglikemia pada mencit dilakukan dengan menyuntikkan larutan aloksan yang sudah disiapkan berdasarkan dosis yang dihitung dari berat badan hewan. Sebelum injeksi, mencit dibiarkan puasa beberapa jam agar respons hiperglikemianya lebih stabil, kemudian aloksan diberikan melalui rute intraperitoneal untuk mencapai kerusakan sel β pankreas secara cepat dan memicu kenaikan kadar glukosa darah. Pemberian aloksan seperti ini dipilih karena mekanismenya yang relatif *reproducible* dalam menurunkan produksi insulin melalui toksisitas selektif terhadap sel β , sehingga model hiperglikemia yang dihasilkan menyerupai kondisi diabetes pada manusia yang berlatar stres oksidatif dan gangguan sekresi insulin. Teknik induksi ini telah banyak

dipakai dalam penelitian hewan dan dilaporkan efektif untuk menghasilkan hiperglikemia dalam kurun waktu yang dapat diukur secara konsisten (Fajarwati dkk., 2023).

3.4.2.3 Tahap Pengukuran Kadar Glukosa Darah

Pengukuran kadar glukosa darah hewan percobaan dilakukan pada beberapa titik waktu yang telah ditentukan, yaitu sebelum induksi aloksan, setelah induksi (pada hari ke-10), dan setelah periode intervensi puasa 12 jam (pada hari ke-25). Sebelum proses pengukuran kadar glukosa dilakukan, hewan yang diuji terlebih dahulu dipuasakan sekitar 8-12 jam untuk menghindari dampak makanan terhadap glukosa darah. Selanjutnya, darah diambil dari ujung ekor mencit. Proses ini dilakukan dengan menusuk ujung ekor dengan lancet kecil atau jarum steril. Setelah itu, tetesan darah yang keluar langsung diteteskan ke dalam strip tes glukometer yang sudah terpasang pada perangkat glukometer. Selama proses pengambilan darah, penting untuk menjaga hewan tetap bersih dan menghindari stres agar hasil pengukuran tidak terpengaruh (Rahayu dan Hardia, 2023).

3.4.3 Tahap Perlakuan Puasa 12 jam.

Mencit dibagi ke dalam lima kelompok perlakuan secara acak. Kelompok kontrol (K) terdiri atas mencit sehat yang tidak diinduksi aloksan dan tidak dipuasakan, dengan akses pakan serta minum secara tanpa terbatas selama 14 hari. Kelompok P1 terdiri atas mencit normal yang dipuasakan selama 12 jam pada siang hari (pukul 06.00–18.00 WIB), sedangkan kelompok P2 terdiri atas mencit normal yang dipuasakan selama 12 jam pada malam hari (pukul 18.00–06.00 WIB). Kelompok P3 terdiri atas mencit yang diinduksi aloksan hingga hiperglikemia kemudian dipuasakan selama 12 jam pada siang hari (pukul 06.00–18.00 WIB), sementara kelompok P4 terdiri atas mencit yang diinduksi aloksan hingga hiperglikemia kemudian dipuasakan

selama 12 jam pada malam hari (pukul 18.00–06.00 WIB). Selama periode perlakuan, seluruh kelompok tetap memperoleh jenis pakan dan minuman yang sama untuk menjaga konsistensi asupan nutrisi serta meminimalkan faktor perancu yang dapat memengaruhi hasil penelitian (Junaid dkk., 2024).

Selama periode puasa 12 jam, mencit tetap diberikan akses air minum secara *ad libitum* untuk menjaga status hidrasi. Konsumsi air diperkirakan berada pada kisaran fisiologis normal mencit, yaitu sekitar 4–7 ml per ekor per hari, sehingga selama periode puasa 12 jam mencit mengonsumsi ± 2 –3 ml air dilakukan secara *ad libitum* (Nicholaus dkk., 2016). Menurut penelitian oleh Bekkevold dkk. (2013), pembatasan akses air hingga 50% dari konsumsi normal selama periode puasa jangka panjang dapat diterima secara etis, asalkan dilakukan dengan pemantauan yang ketat terhadap kondisi fisik dan fisiologis mencit. Namun, derivasi air total selama lebih dari 12-24 jam tidak dianjurkan karena dapat menyebabkan stres dan perubahan fisiologis yang signifikan pada mencit.

3.4.4 Tahap Nekroskopi Hewan

Nekroskopi dilakukan untuk memperoleh jaringan organ target dalam kondisi yang masih representatif secara morfologis. Pada tahap ini, hewan terlebih dahulu dieuthanasia menggunakan metode yang sesuai, kemudian dilakukan pembedahan secara aseptik untuk membuka rongga tubuh. Organ pankreas diambil dengan hati-hati, dibersihkan dari jaringan sekitarnya, lalu segera di fiksasi menggunakan PBS 10% untuk mencegah terjadinya autolisis dan perubahan struktur jaringan.

3.4.5. Tahap Pembuatan Preparat Histologi

Pembuatan preparat histologi pankreas mencit dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE) dilakukan mengikuti prosedur yang dijelaskan oleh Sari dkk. (2016) menggunakan metode parafin. Tahapan yang dilakukan meliputi seleksi jaringan, fiksasi, dehidrasi, penjernihan, infiltrasi parafin, embedding, pemotongan jaringan, penempelan pada kaca objek, deparafinasi, proses pewarnaan, penutupan preparat, serta pemberian label.

a. Fiksasi

Tahap fiksasi dilakukan untuk mempertahankan struktur sel dan jaringan agar tidak mengalami kerusakan maupun perubahan morfologi setelah jaringan diambil dari tubuh hewan. Proses ini juga bertujuan untuk mengeraskan jaringan, khususnya jaringan lunak, sehingga memudahkan proses pemotongan pada tahap selanjutnya. Organ pankreas yang telah diambil terlebih dahulu dicuci menggunakan larutan NaCl 0,9% untuk membersihkan sisa darah, kemudian direndam dalam larutan formalin 10% dengan pH netral. Perendaman ini memungkinkan jaringan tetap terawetkan dengan baik hingga siap diproses lebih lanjut.

b. *Trimming*

Setelah proses fiksasi selesai, jaringan pankreas dikeluarkan dari larutan formalin dan dibilas menggunakan air mengalir untuk menghilangkan sisa formalin yang menempel. Jaringan kemudian dipotong menjadi bagian-bagian kecil dengan ketebalan sekitar 2–4 mm agar ukuran jaringan sesuai untuk proses selanjutnya. Potongan jaringan tersebut dimasukkan ke dalam *embedding cassette* yang berfungsi sebagai wadah jaringan selama tahap pemrosesan.

c. Dehidrasi dan *Clearing*

Tahap dehidrasi bertujuan untuk menghilangkan kandungan air yang masih terdapat di dalam jaringan hasil fiksasi, sehingga jaringan

dapat diisi oleh parafin. Proses ini dilakukan secara bertahap dengan merendam jaringan ke dalam larutan alkohol dengan konsentrasi meningkat, mulai dari 70% hingga 100%, hingga jaringan terendam sempurna. Selanjutnya jaringan dimasukkan ke dalam oven bersuhu 60°C selama sekitar 30 menit, kemudian dikeringkan menggunakan kertas saring. Proses dehidrasi ini diulangi sebanyak dua kali. Setelah dehidrasi selesai, jaringan mengalami tahap pembersihan (*clearing*) menggunakan campuran xilol dan etanol dengan perbandingan 1:1 selama 30 menit, dilanjutkan perendaman dalam larutan xilol murni selama 40 menit, yang juga dilakukan sebanyak dua kali, hingga jaringan menjadi transparan.

d. Embedding

Pada tahap *embedding*, jaringan yang telah mengalami dehidrasi dan *clearing* kemudian diinfiltrasi menggunakan parafin cair. Jaringan direndam dalam parafin cair yang dipanaskan dalam oven pada suhu sekitar 60°C selama satu jam dan dilakukan sebanyak dua kali untuk memastikan parafin meresap sempurna ke dalam jaringan. Setelah itu, jaringan dicetak menggunakan *base mold* untuk membentuk blok parafin. *Base mold* dipanaskan, jaringan ditempatkan di dalamnya, lalu diisi dengan parafin cair hingga seluruh jaringan tertutup. *Embedding cassette* yang telah diberi nomor kemudian diletakkan di atas cetakan dan didinginkan di dalam lemari pendingin hingga parafin mengeras, sehingga terbentuk blok jaringan yang siap dipotong.

e. Pemotongan (*Cutting*)

Pemotongan jaringan dilakukan menggunakan mikrotom di ruangan bersuhu dingin agar blok parafin tetap keras dan mudah dipotong. Sebelum dipotong, blok parafin terlebih dahulu didinginkan. Pemotongan diawali dengan pemotongan kasar, kemudian dilanjutkan dengan pemotongan halus hingga diperoleh irisan jaringan dengan ketebalan sekitar 4-5 μm . Irisan terbaik kemudian diapungkan di atas

permukaan air dan dipindahkan ke *waterbath* bersuhu 56–58°C selama beberapa detik hingga jaringan mengembang sempurna. Setelah itu, jaringan diambil dan ditempelkan pada kaca objek yang bersih serta diberi penomoran, lalu dikeringkan dan dipanaskan dalam inkubator bersuhu 45°C selama kurang lebih satu jam hingga jaringan melekat dengan baik.

f. Pewarnaan (*Staining*)

Setelah jaringan menempel sempurna pada kaca objek, dilakukan proses pewarnaan menggunakan metode Hematoksilin dan Eosin (HE).

Pewarnaan ini bertujuan untuk memperjelas struktur jaringan, di mana hematoksilin akan mewarnai inti sel menjadi biru atau ungu, sedangkan eosin akan mewarnai sitoplasma dan jaringan sekitarnya menjadi merah muda, sehingga perbedaan struktur sel dapat diamati dengan jelas di bawah mikroskop.

g. Mounting

Tahap *mounting* dilakukan dengan meneteskan bahan perekat atau mounting medium, seperti Entellan, pada preparat yang telah diwarnai. Selanjutnya, preparat ditutup menggunakan *cover glass* dengan hati-hati agar tidak terbentuk gelembung udara yang dapat mengganggu pengamatan mikroskopis. Proses ini bertujuan untuk melindungi preparat dan menjaga kualitas preparat agar dapat digunakan dalam jangka waktu yang lama.

h. Pembacaan Slide

Pembacaan slide dilakukan dengan mengamati preparat histopatologi di bawah mikroskop cahaya. Pengamatan dilakukan pada perbesaran 400 kali untuk melihat gambaran mikroskopis jaringan pankreas, khususnya perubahan yang terjadi pada pulau Langerhans. Hasil pengamatan kemudian dicatat berdasarkan variabel yang diteliti, seperti adanya nekrosis atau perubahan struktur sel lainnya.

3.8 Pengukuran luas dan diameter Pulau Langerhans

Pengukuran luas dan diameter pulau Langerhans menurut Morini (2006) yaitu setiap preparat diamati pada lima bidang pandang yang berbeda. Penilaian histologi dilakukan melalui pendekatan morfometri dengan cara mengukur diameter serta luas pulau Langerhans. Pengukuran diameter pulau Langerhans dilakukan dengan menentukan dua sumbu utama, yaitu sumbu terpanjang (a) dan sumbu terpendek (b), sebagaimana metode yang umum digunakan dalam analisis histologi.

Penentuan luas pulau Langerhans pankreas pada preparat histologi didasarkan pada gambaran morfologi sebagaimana dijelaskan oleh Lee dkk. (2003). Pulau Langerhans diidentifikasi berdasarkan perbedaan struktur jaringan dibandingkan jaringan eksokrin di sekitarnya, yang ditandai oleh susunan sel yang lebih rapat, batas yang relatif jelas, serta pewarnaan yang lebih pucat. Perhitungan luas pulau Langerhans dilakukan dengan mengacu pada pendekatan bentuk oval (elips). Luas pulau Langerhans dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Luas pulau Langerhans } (\mu\text{m}^2) = 1/2 \pi \times r_{\text{mayor}} \times r_{\text{minor}}$$

Keterangan:

r_{minor} = jari-jari minor, yaitu setengah dari diameter pulau Langerhans yang lebih pendek

r_{mayor} = jari-jari mayor, yaitu setengah dari diameter pulau Langerhans yang lebih panjang

π = konstanta pi (3,14)

Perbaikan kerusakan pankreas mencit dilihat dengan cara mengamati kerusakan jaringan pada preparat histologi pankreas mencit seluruh kelompok perlakuan kemudian dilakukan skoring kerusakan berdasarkan penelitian Safitri dkk. (2023) dengan skoring kerusakan sebagai berikut.

1. Skor 0: Struktur pulau Langerhans dalam kondisi normal tanpa perubahan pada batas pulau, jumlah sel, nekrosis sel, maupun bentuk sel.
2. Skor 1: Batas sel masih jelas, jumlah sel mulai berkurang, belum ditemukan sel nekrotik, hanya terdapat degenerasi sel, dan bentuk sel masih normal.
3. Skor 2: Batas sel mulai tidak jelas, jumlah sel berkurang, terdapat degenerasi sel, dan sebagian sel menunjukkan perubahan bentuk.
4. Skor 3: Batas sel tidak jelas, jumlah sel semakin berkurang, sel nekrotik mulai tampak, dan banyak sel mengalami perubahan bentuk.
5. Skor 4: Batas sel sangat tidak jelas, jumlah sel menurun drastis, hampir seluruh sel mengalami nekrosis, dan bentuk sel abnormal.

3.5 Analisis Data

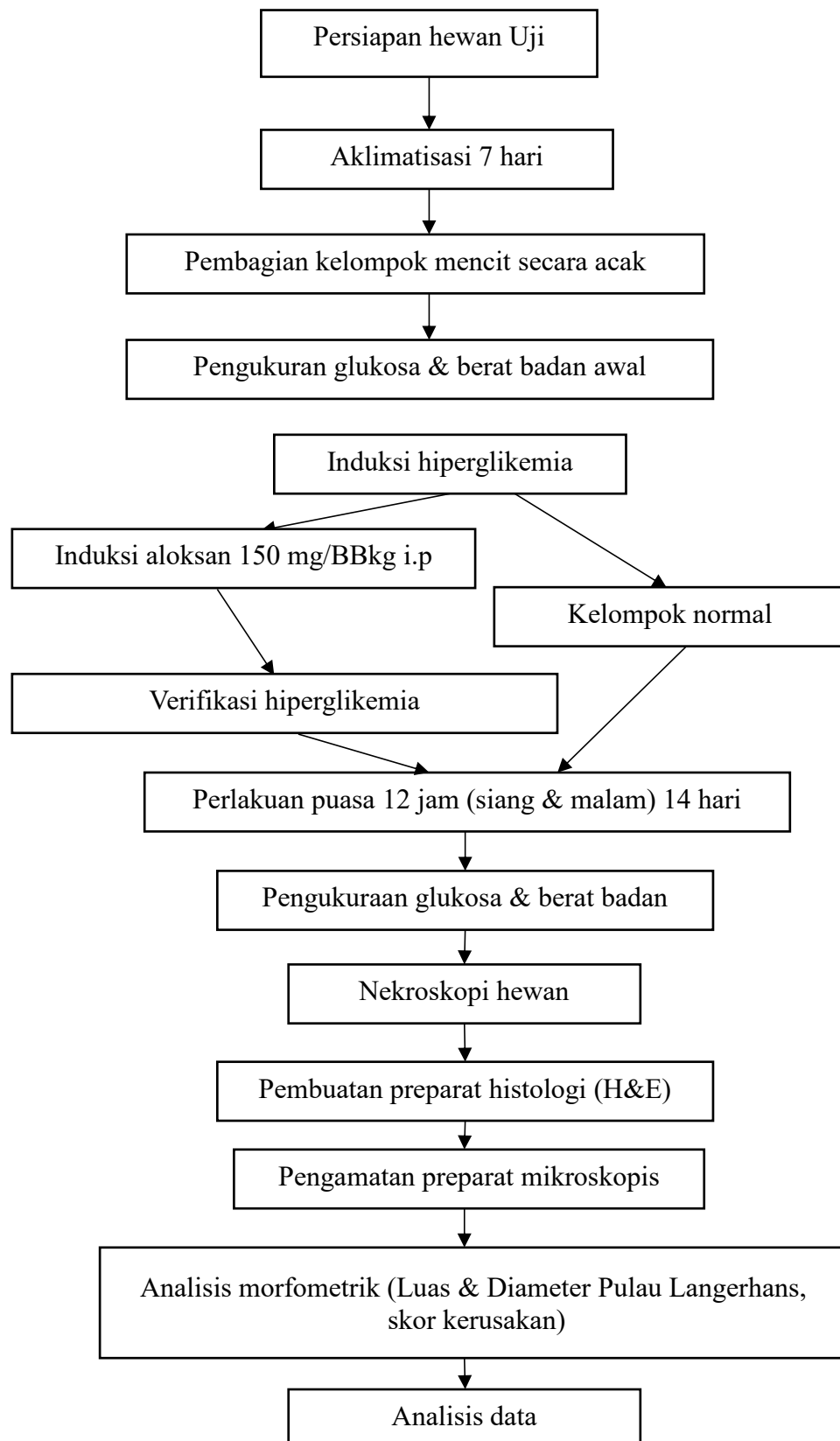
Analisis data dilakukan dengan dua cara yaitu sebagai berikut:

1 Analisis data kuantitatif penelitian ini dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS *for windows*. Data berat badan dan kadar glukosa darah dianalisis menggunakan uji *Repeated Measures* ANOVA karena pengukuran dilakukan berulang pada subjek yang sama untuk melihat perubahan antar waktu dan perlakuan. Data luas dan diameter pulau Langerhans dianalisis menggunakan uji One Way ANOVA untuk membandingkan perbedaan rerata antar kelompok perlakuan dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$).

Sementara itu, data skoring kerusakan histopatologi pankreas dianalisis menggunakan uji nonparametrik *Kruskal–Wallis* karena data bersifat ordinal, dan apabila terdapat perbedaan yang bermakna, analisis dilanjutkan dengan uji *Mann–Whitney* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok secara spesifik.

2. Analisis data deskriptif dalam penelitian ini disajikan berdasarkan hasil pengamatan histologi pankreas mencit seluruh perlakuan. Data diperoleh dari pemeriksaan mikroskopis preparat jaringan pankreas.

3.6 Alur Penelitian



V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dalam penelitian ini, maka dapat disimpulkan:

1. Puasa 12 jam tidak mempengaruhi luas dan diameter Pulau Langerhans pada pankreas mencit hiperglikemia induksi aloksan..
2. Puasa 12 jam berpengaruh terhadap skor kerusakan histologi pankreas pada mencit yang diinduksi aloksan.
3. Terdapat perbedaan efek antara puasa 12 jam siang dan malam hari terhadap gambaran histologi pulau Langerhans pankreas mencit. Puasa 12 jam malam hari menunjukkan gambaran histologi pulau Langerhans yang lebih baik dibandingkan puasa 12 jam siang hari pada kondisi hiperglikemia.

5.2 Saran

1. Penelitian selanjutnya disarankan untuk menggunakan durasi puasa yang lebih lama atau variasi waktu puasa, sehingga dapat diketahui apakah efek puasa terhadap perbaikan pulau Langerhans dapat menjadi lebih optimal
2. Perlu dilakukan pemeriksaan tambahan selain histologi HE, seperti pemeriksaan imunohistokimia atau parameter biokimia (misalnya kadar insulin), agar perubahan struktur pulau Langerhans dapat dikaitkan dengan fungsi pankreas secara lebih jelas.

DAFTAR PUSTAKA

- Aljazzaf, B., Regeai, S., Elghmasi, S., Alghazir, N., Balgasim, A., Hdud Ismail, I. M., and Alghazeer, R. 2023. Evaluation of Antidiabetic Effect of Combined Leaf and Seed Extracts of *Moringa oleifera* (*Moringaceae*) on Alloxan-Induced Diabetes in Mice: A biochemical and Histological Study. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, (1), 9136217.
- Alshaer, S., El-Hajji, F. D., Abu-Tayeh, R., Basheti, I., and Al-Najjar, M. A. 2022. Changes in Gut Microbiota of Alloxan-Induced Diabetic Rats in Response to Orally Administered Combined Aqueous Extracts of Olive Leaves and Ginger. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 12(3): 150-159.
- Alturkistani, H. A., Tashkandi, F. M., & Mohammedsaleh, Z. M. 2015. Histological Stains: A Literature Review and Case Study. *Global journal of health science*, 8(3), 72.
- Aluwong, T., Ayo, J. O., Kpukple, A., and Oladipo, O. O. 2016. Amelioration of Hyperglycaemia, Oxidative Stress and Dyslipidaemia in Alloxan-Induced Diabetic Wistar Rats Treated with Probiotic and Vitamin C. *Nutrients*, 8(5): 151.
- American Diabetes Association. 2023. *Standards of care in diabetes—2023*. *Diabetes Care*, 46(Supplement_1), S1–S290.
- Aminah, F. T. B., dan Qomariyah, N. 2023. Efek Antihiperglikemik Ekstrak Daun Ceremai (*Phyllanthus acidus*) pada Mencit (*Mus musculus*) Diabetes Mellitus Tipe II. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 12(3): 363-370.
- Antaryani, D., Tandi, J., dan Nobertson, R. 2019. Efek ekstrak biji buah pinang terhadap gambaran histopatologi pankreas tikus putih diinduksi streptozotocin. *Farmakologika Jurnal Farmasi*, 16(2):135-144.
- Anton, S. D., Moehl, K., Donahoo, W. T., Marosi, K., Lee, S. A., Mainous, A. G., 3rd, Leeuwenburgh, C., and Mattson, M. P. 2018. Flipping the Metabolic Switch: Understanding and Applying the Health Benefits of Fasting. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 26(2): 254–268.
- Argaistieng, J., Doraisamy, B. V., Halim, H., Syed Alwi, S. S., Ali, A. A., & Maniam, S. 2025. Time-restricted feeding in rodent obesity models:

impact on body weights, lipid profile and glucoregulation: Animal Models. *International Journal of Obesity*, 1-12.

- Arıncı, K. ve Elhan, A. 2001. *Anatomi*. Birinci cilt. Ankara Üniv. Güneş Kitabevi Ltd. Şti., Ankara, s. 191-198.
- Azzahra, A. A., and Sujono, T. A. 2024. Testantidiabetic Activity of A Combination of 70% Ethanol Extract of Meniran Leaves (*Phyllanthus Niruri L.*) and Glibenclamide in Male white Wistar Rats Induced by Alloxan. *Science Midwifery*, 12(1):434-443.
- Beandrade, M. U., Amelia, R., dan Hasmar, W. N. 2022. Gambaran Histologi Pankreas Tikus dengan Diabetes Melitus Tipe 2 yang Diberikan Tablet Kedelai Detam II. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*, 18(2):240-248.
- Becker, K. F., Schott, C., Becker, I., & Höfler, H. 2008. Guided Protein Extraction from Formalin Fixed Tissues for Quantitative Multiplex Analysis Avoids Detrimental Effects of Histological Stains. *PROTEOMICS–Clinical Applications*, 2(5): 737-743.
- Bekkevoold, C. M., Robertson, K. L., Reinhard, M. K., Battles, A. H., and Rowland, N. E. 2013. Dehydration parameters and standards for laboratory mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science : JAALAS*, 52(3): 233–239.
- Bhatti, S. I., and Mindikoglu, A. L. 2022. The Impact of Dawn to Sunset Fasting on Immune System and Its Clinical Significance in COVID-19 Pandemic. *Metabolism Open*, 13:100162.
- Bhoopalan, V., Gardiner, E. E., and Kaur, A. 2023. An Optimized Method of Collecting Murine Peripheral Blood and Dilution Correction for Accurate Blood Cell Enumeration. *Current Protocols*, 3(5), e765.
- Bi, Joanna. 2024. *FFPE Sample Collection, Processing, and Embedding*. Stanford University.
- Burrack, A. L., Martinov, T., and Fife, B. T. 2017. T Cell-Mediated Beta Cell Destruction: Autoimmunity and Alloimmunity in the Context of Type 1 Diabetes. *Frontiers in endocrinology*, 8, 343.
- Çağlar V., Gönül Y., and Songur A. 2014. Pancreas Anatomy and Variations. *International. Journal of Clinical Research*, 2(2):77-82.
- Campbell-Thompson, M., & Tang, S. C. 2021. *Pancreas optical clearing and 3-D microscopy in health and diabetes*. *Front Endocrinol (Lausanne)* 12: 644826.

- Čermáková, Erika, Martin Forejt, and Martin Čermák. 2024. The Influence of Intermittent Fasting on Selected Human Anthropometric Parameters. *International Journal of Medical Sciences*, 21(14): 2630–39.
- Chan, K., Wong, F. S., & Pearson, J. A. 2022. Circadian rhythms and pancreas physiology: A review. *Frontiers in endocrinology*, 13, 920261.
- Chuli, H. 2024. Understanding the Role of the Pancreas in Diabetes. *African Journal of Diabetes Medicine*, 32.
- De Cabo, R., and Mattson, M. P. 2019. Effects of intermittent fasting on health, aging, and disease. *New England Journal of Medicine*, 381(26), 2541–2551.
- Dinić, S., Arambašić Jovanović, J., Uskoković, A., Mihailović, M., Grdović, N., Tolić, A., Rajić, J., Đorđević, M., & Vidaković, M. 2022. Oxidative stress-mediated beta cell death and dysfunction as a target for diabetes management. *Frontiers in endocrinology*, 13, 1006376.
- Dludla, P. V, Mabhida, S. E., Ziqubu, K., Nkambule, B. B., Mazibuko-Mbeje, S. E., Hanser, S., Basson, A. K., Pheiffer, C., and Kengne, A. P. 2023. Pancreatic β -cell Dysfunction in Type 2 Diabetes: Implications of inflammation and oxidative stress. *World Journal of Diabetes*, 14(3):130–146.
- Dote-Montero, Manuel, Guillermo Sanchez-Delgado, and Eric Ravussin. 2022. Effects of Intermittent Fasting on Cardiometabolic Health: An Energy Metabolism Perspective. *Nutrients*, 14: 489.
- Dokpuang, D., Zhiyong Yang, J., Nemati, R., He, K., Plank, L. D., Murphy, R., and Lu, J. 2023. Magnetic Resonance Study of Visceral, Subcutaneous, Liver and Pancreas Fat Changes After 12 Weeks Intermittent Fasting in Obese Participants With Prediabetes. *Diabetes research and clinical practice*, 202, 110775.
- Elsayed, N. A., Aleppo, G., Aroda, V. R., Bannuru, R. R., Brown, F. M., Bruemmer, D., Collins, B. S., Hilliard, M. E., Isaacs, D., Johnson, E. L., Kahan, S., Khunti, K., Kosiborod, M., Leon, J., Lyons, S. K., Murdock, L., Perry, M. Lou, Prahalad, P., Pratley, R. E., and Gabbay, R. A. 2023. 2 Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Care in Diabetes. *Diabetes Care*, 46: S19–S40.
- Erkelens D. W. 2001. Insulin Resistance Syndrome and Type 2 Diabetes Mellitus. *The American journal of cardiology*, 88(7B):38J–42J.
- Fahmi, K. N., Ansori, M. M. L., dan Fitriani, D. 2023. Penerapan Kesejahteraan Hewan Serta Teknik dan Manajemen Pemeliharaan Mencit di BBVF Pusvetma. *Buletin Veteriner Farma*, 19–34.

- Fajarwati, I., Solihin, D. D., Wresdiyati, T., & Batubara, I. 2023. *Self-recovery in Diabetic Sprague Dawley Rats Induced by Intraperitoneal Alloxan and Streptozotocin. Heliyon, 9, e15533.*
- Farhan, M. 2023. *Efek intermittent Fasting terhadap gambaran histologi lemak subkutan pada mencit model obesitas.* (Skripsi). Universitas Sriwijaya.
- Farid, M., Darwin, E., dan Sulastri, D. 2014. Pengaruh Hiperglikemia terhadap Gambaran Histopatologis Pulau langerhans Mencit. *Jurnal Kesehatan Andalas.* 3(3): 420-428.
- Fiestana, E. 2024. Laporan Kasus Pankreatitis Akut. *Journal of Language and Health, 5(3);1463-1470.*
- Fitrianita, A., Yardi, Y., dan Musir, A. 2018. Uji efek Antihiperglikemia Ekstrak Etanol 70% Daun Kecombrang (*Etlingera elatior*) pada Tikus Sprague Dawley dengan Penginduksi Aloksan. *Jurnal Ilmiah Farmasi, 14(1): 9-16.*
- Frank, A., Deng, S., Huang, X., Velidedeoglu, E., Bae, Y. S., Liu, C., and Markmann, J. F. 2004. Transplantation for type I diabetes: comparison of vascularized whole-organ pancreas with isolated pancreatic islets. *Annals of surgery, 240(4): 631-643.*
- Fu, J., Liu, S., Li, M., Guo, F., Wu, X., Hu, J., dan Li, X. 2024. Optimal fasting duration for mice as assessed by metabolic status. *Scientific Reports, 14(1), 21509.*
- Gartner LP. 2017. *Textbook of Hsytology.* 4th ed. Philadelphia : Elsevier.
- Ginting, S. 2023. Pengaruh Puasa Intermiten diural (PID) Terhadap Mediator Pro Inflamasi, Literature Review. *Jurnal Penelitian Keperawatan Medik, 6(1): 110-117.*
- Gong, P. F., Jiang, Z. R., Huang, X., Wang, S. S., Li, H. B., Peng, Y. J., and Zhang, J. 2022. Long-Term Intermittent Fasting Induces Abnormal Lipid Accumulation in Mouse Liver. *Sheng li xue bao:[Acta Physiologica Sinica], 74(6): 962-969.*
- Guyton AC and Hall JE. 2006. *Textbook of Medical Physiology.* 11. bask1. Pennsylvania: Insevier inc.
- Hamdani, R., dan Fahlevi, I. 2025. Pengaruh Puasa Intermiten Terhadap Kesehatan Kardiovaskular. *Scientific Journal, 4(3):181-192.*
- Hassanein, M., Abdelgadir, E., Obaid, H. A., Ahmed, F. S., Alsharhan, M., Thabit, S., and Alawadi, F. 2021. Biometric and metabolic changes in patients with diabetes prior, during and after the holy month of Ramadan (ABCD Study). *Diabetes research and clinical practice, 173, 108678.*

- Hill, T. G., dan Hill, D. J. 2024. The importance of intra-islet communication in the function and plasticity of the islets of Langerhans during health and diabetes. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(7), 4070.
- Hirano T. 2018. Pathophysiology of Diabetic Dyslipidemia. *Journal of atherosclerosis and thrombosis*, 25(9):771–782.
- Ibrahim, R. M., Abdelhafez, H. M., El-Shamy, S. A. E. M., Eid, F. A., and Mashaal, A. 2023. Arabic Gum Ameliorates Systemic Modulation in Alloxan Monohydrate-Induced Diabetic Rats. *Scientific Reports*, 13(1): 5905.
- Huang, L., Chen, Y., Wen, S., Lu, D., Shen, X., Deng, H., & Xu, L. (2023). Is time-restricted eating (8/16) beneficial for body weight and metabolism of obese and overweight adults? A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Food science & nutrition*, 11(3), 1187-1200.
- Ide, S., Maezawa, Y., and Yokote, K. 2023. Updates on Dyslipidemia in Patients with Diabetes. *Journal of Diabetes Investigation*, 14(9):1041-1044.
- International Diabetes Federation. 2025. *IDF Diabetes Atlas, 11th edition*. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation. Diakses dari https://diabetesatlas.org/media/uploads/sites/3/2025/04/IDF_Atlas_11th_Edition_2025.
- Isman, T. B., Makmun, A., Ningsih, J. W., Mukhtar, S., dan Murfat, Z. 2024. Pengaruh puasa Terhadap Kadar Kolesterol pada Hewan Mencit (*Mus musculus*) Hiperkolesterolemia. *Maheesa: Malahayati Health Student Journal*, 4(5):2036–2047.
- Javaeed, A., Qamar, S., Ali, S., Mustafa, M. A. T., Nusrat, A., & Ghauri, S. K. 2021. Histological Stains in the Past, Present, and Future. *Cureus*, 13(10), e18486.
- Junaid, N. M., Makmun, H. A., Ningsi, I. W., Julyani, S., dan Rasfayanah, R. 2024. Pengaruh Puasa 12 Jam Terhadap Kadar Glukosa Darah Puasa dan Berat Badan Pada Mencit (*Mus Musculus*) Hiperglikemia Induksi Aloksan. *MAHESA : Malahayati Health Student Journal*, 4(7):2986–2998.
- Kim, J. M. 2024. Induction of diabetes mellitus using Alloxan in Sprague Dawley Rats. *Cureus*, 16(6).
- Lee, H. W., Park, Y. S., Choi, J. W., Yi, S. Y., & Shin, W. S. 2003. Antidiabetic effects of chitosan oligosaccharides in neonatal streptozotocin-induced noninsulin-dependent diabetes mellitus in rats. *Biol. Pharm. Bull.* 26(8): 1100-1103.

- Li, Y. S., Fujihara, H., Fujisawa, K., & Kawai, K. 2024). Effect of circadian rhythm disruption induced by time-restricted feeding and exercise on oxidative stress and immune in mice. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 76(1), 35.
- Liu, X., Du, P., Xu, J., Wang, W., & Zhang, C. 2024. Therapeutic effects of intermittent fasting combined with SLBZS and prebiotics on STZ-HFD-induced type 2 diabetic mice. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity*, 4013-4030.
- Liu, J., Zhong, Y., Luo, X. M., Ma, Y., Liu, J., & Wang, H. (2021). Intermittent fasting reshapes the gut microbiota and metabolome and reduces weight gain more effectively than melatonin in mice. *Frontiers in Nutrition*, 8, 784681.
- Lu, L., Chen, X., Liou, S., and Weng, X. 2025. The effect of Intermittent Fasting on Insulin Resistance, Lipid Profile, and Inflammation on Metabolic Syndrome: a GRADE Assessed Systematic Review and Meta Analysis. *Journal of Health, Population and Nutrition*, 44(1): 293.
- Lu, X., Xie, Q., Pan, X., Zhang, R., Zhang, X., Peng, G., and Tong, N. 2024. Type 2 diabetes mellitus in adults: pathogenesis, prevention and therapy. *Signal transduction and targeted therapy*, 9(1), 262.
- Mallhi, I. Y., Sohaib, M., Khan, A. U., and Rabbani, I. 2023. Antidiabetic, Antioxidative and Antihyperlipidemic Effects of Strawberry Fruit Extract in Alloxan-Induced Diabetic Rats. *Foods*, 12(15): 2911.
- Mescher AL. 2016. *Junqueira's Basic Hystology : Text & Atlas*. 4th ed. Indiana : McGraw-Hill Education.
- Mirotoneng, G. S., Kairupan, C. F., dan Durry, M. F. 2019. Gambaran Mikroskopik Endokrin Pankreas pada Tikus Wistar yang Diberikan Sukrosa Dosis Bertingkat. *eBiomedik*, 7(2).
- Morini, S., Braun, M., Onori, P., Cicalese, L., Elias, G., Gaudio, E. and Rastellini, C. 2006. Morphological changes of isolated rat pancreatic islets: a structural, ultrastructural and morphometric study. *J. Anat.* 209(2006): 381–392.
- Nakamura, Y., Yamada, R., Kaneko, M., Naota, H., Fujimura, Y., Tabata, M., Kobayashi, K., and Tanaka, K. 2019. Isolated Pancreatic Metastasis from Malignant Melanoma: a Case Report and Literature Review. *Clin J Gastroenterol*, 12(6):626-636.
- Nguyen, H. L., Thuy, H., Phuong, T. T., Nguyen, N. P., Nguyen, P., Linh, N. H., ... & Mai, H. N. 2024. *Effect of Camellia flava (Pitard) Sealy flower extract on the degeneration of Islets of Langerhans and insulin*

resistance in alloxan-induced hyperglycemia model on Swiss albino mice. Pharmacia 71: 1–15.

- Nubatonis, D. C., Ndaong, N. A., dan Selan, Y. N. 2019. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) Terhadap Histopatologi Pankreas Mencit (*Mus musculus*) Diabetes Melitus (DM) Tipe I. *Jurnal Kajian Veteriner*, 3(1):31-40.
- Nugroho, Rudy Agung. 2018. *Mengenal Mencit Sebagai Hewan Laboratorium*. Samarinda : Mulawarwan University Press.
- Patel, S., Yan, Z., and Remedi, M. S. 2024. Intermittent fasting protects β -cell identity and function in a type-2 diabetes model. *Metabolism*, 153, 155813.
- Rahayu, D., Hardia, L., dan Irwandi, I. 2023. Uji Efek Hipoglikemik Ekstrak Buah Merah (*Pandanus conoideus* L.) Terhadap Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Entofarmasi*, 1(1): 38-45.
- Rajesh, R., Kotasthane D. S., Manimekalai, K., Singh, A., Sreekala, V., and Rajasekar, S. S. 2017. Histopathological and Histomorphometric Analysis of Pancreas and Liver of Diabetic Rats Treated with Mucuna pruriens Seed Extract. *Annals of Pathology and Laboratory Medicine*. 4(5): A-547-A552.
- Ratri, N. W. 2018. *Pengaruh Intermittent Fasting Terhadap Gambaran Histopatologi Sel Goblet Pada Mencit Balb-C*. (Doctoral dissertation, UII).
- Rehman, K., and Akash, M. S. H. 2016. Mechanisms of Inflammatory Responses and Development of Insulin Resistance: How are They Interlinked?. *Journal of biomedical science*, 23(1): 87.
- Safitri, E., Sutyarso, S., Wahyuningsih, S., & Agustrina, R. 2023. Pancreas Histology of Hyperglycemia of Mice (*Mus musculus* L.) After Treatment Basil (*Ocimum x africanum* Lour.) Leaf Extract and Papaya (*Carica papaya* L.). *Jurnal Natur Indonesia*, 21(2), 118-123.
- Sampieri, A., Paoli, A., Spinello, G., Santinello, E., and Moro, T. 2024. Impact of Daily Fasting Duration on Body Composition and Cardiometabolic Risk Factors During A Time-Restricted Eating Protocol: A Randomized Controlled Trial. *Journal of Translational Medicine*, 22(1): 1-13.
- Sanvictores, T., Casale, J., and Huecker, M. R. 2018. *Physiology, fasting*.
- Sari, D. P., Fatmawati, U., Prabasari, R. M., & Word, K. 2016. Profil Hands On Activity pada Mata Kuliah Mikroteknik di Prodi Pendidikan Biologi FKIP

UNS. In *Proceeding Biol. Educ. Conf. Biol. Sci. Enviromental, Learn* (Vol. 13, No. 1, pp. 476-481).

- Simonyan, R. M., Simonyan, K. V., Simonyan, G. M., Khachatryan, H. S., Babayan, M. A., Danielyan, M. H., and Simonyan, M. A. 2022. Superoxide Producing Thermostable Associate from the Small Intestines of Control and Alloxan-Induced Diabetic Rats: Quantitative and Qualitative Changes. *BMC Endocrine Disorders*, 22(1): 250.
- Speksnijder, E. M., Bisschop, P. H., Siegelaar, S. E., Stenvers, D. J., & Kalsbeek, A. 2024. Circadian desynchrony and glucose metabolism. *Journal of Pineal Research*, 76(4), e12956.
- Suarni, E., dan Badri, P. R. A. 2016. Uji Efektifitas Lendir Bekicot (*Achatina Fulica*) Dibandingkan dengan Povidon Iodine 10% Terhadap Penyembuhan Luka Sayat (*Vulnus Scissum*) pada Mencit (*Mus musculus*). *Syifa'MEDIKA: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 7(1): 9-15.
- Tahapary, D. L., Astrella, C., Kristanti, M., Harbuwono, D. S., and Soewondo, P. 2020. The impact of Ramadan fasting on metabolic profile among type 2 diabetes mellitus patients: a meta-analysis. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 14(5): 1559-1570.
- Taye, M.G., Bule, M., Alemayehu Gadisa, D., Teka, F., and Abula, T. 2020. In vivo Antidiabetic Activity Evaluation of Aqueous and 80% Methanolic Extracts of Leaves of *Thymus schimperi* (*Lamiaceae*) in Alloxan-Induced Diabetic Mice. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity*, 3205-3212.
- Tjakradidjaja, F. A. 2024. Puasa Intermiten dan Transformasi Tubuh: Sains di Balik Penurunan Lemak, Pemeliharaan Otot, dan Optimalisasi Energi. *Asian Journal of Multidisciplinary Research*, 1(4): 157-165.
- Vasim, I., Majeed, C. N., & DeBoer, M. D. 2022. Intermittent fasting and metabolic health. *Nutrients*, 14(3), 631.
- Yang, Y., & Liu, D. 2024. Impacts of time-restricted feeding on middle-aged and old mice with obesity. *The Journal of Physiology*, 602(22), 6109-6123.
- Zhang, Z., Chen, X., Loh, Y. J., Yang, X., & Zhang, C. 2021. The effect of calorie intake, fasting, and dietary composition on metabolic health and gut microbiota in mice. *BMC biology*, 19(1), 51.
- Zhao, X., An, X., Yang, C., Sun, W., Ji, H., and Lian, F. 2023. The Crucial Role and Mechanism of Insulin Resistance in Metabolic Disease. *Frontiers in endocrinology*, 14, 1149239.

Zhou, M., Li, R., Venkat, P., Qian, Y., Chopp, M., Zacharek, A and Cui, X. 2022. Post-Stroke Administration of L-4F Promotes Neurovascular and White Matter Remodeling in Type-2 Diabetic Stroke Mice. *Frontiers in Neurology*, 13, 863934.