

## Pengaruh Intermittent Fasting terhadap Penurunan Ekspresi mRNA Gen Tumor Necrosis Factor-Alpha pada Mencit (Mus Musculus)

Muhammad Basir<sup>1</sup>, Mochammad Hatta<sup>2</sup>, Suryani As'ad<sup>3</sup>, Ihamjaya Patellongi<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Postgraduate, Universitas Megarezky, Indonesia

<sup>2</sup>Molecular Biology and Immunology Department, Faculty of Medicine, Universitas Hasanuddin Makassar, Indonesia

<sup>3</sup>Nutrition Department, Faculty of Medicine, Universitas Hasanuddin Makassar, Indonesia

<sup>4</sup>Department of Physiology, Faculty of Medicine, Universitas Hasanuddin Makassar, Indonesia

### ARTICLE INFO

#### Article history:

DOI:

[10.30595/pshms.v7i.1454](https://doi.org/10.30595/pshms.v7i.1454)

Submitted:

Jan 25, 2025

Accepted:

Feb 10, 2025

Published:

Feb 25, 2025

#### Keywords:

Intermittent Fasting; TNF- $\alpha$

### ABSTRACT

Saat ini perkembangan berbagai penyakit degeneratif sangat pesat. Pesatnya perkembangan penyakit tersebut telah mendorong masyarakat luas untuk memahami dampak yang ditimbulkannya. Intermittent fasting bisa membantu mencegah munculnya kanker (salah satu penyakit degeneratif) karena selama puasa sel-sel tubuh berada dalam mode protektif sehingga menjaga tubuh dari serangan penyakit. Intermittent fasting mengurangi status inflamasi tubuh dengan menghambat ekspresi sitokin proinflamasi terutama Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- $\alpha$ ). Penelitian ini bertujuan menguji pengaruh intermittent fasting terhadap ekspresi mRNA gen TNF- $\alpha$ . Penelitian ini adalah experiment dengan rancangan Pretest-Posttest with Control Group untuk menguji adanya pengaruh intermittent fasting terhadap ekspresi mRNA Gen TNF- $\alpha$ . Subyek penelitian ini adalah 10 ekor mencit yang dibagi 2 kelompok yaitu kelompok perlakuan (intermittent fasting) dan kelompok kontrol. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Imunologi dan Biologi Molekuler Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar sebagai tempat pemeliharaan dan perawatan hewan coba serta pemeriksaan ekspresi mRNA Gen TNF- $\alpha$ . Penelitian dilaksanakan selama 30 hari. Hasil penelitian memperlihatkan adanya penurunan rerata nilai ekspresi mRNA gen TNF- $\alpha$  subyek sebelum dan setelah intermittent fasting dengan nilai  $p=0,013$  ( $p<0,05$ ) menunjukkan bahwa ada pengaruh yang bermakna antara intermittent fasting terhadap penurunan ekspresi mRNA Gen TNF- $\alpha$ . Kesimpulannya terjadi penurunan ekspresi mRNA gen TNF- $\alpha$  setelah intermittent fasting.

This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).



#### Corresponding Author:

Muhammad Basir

Universitas Megarezky

Jl. Antang Raya, Antang, Kec. Manggala, Kota Makassar, Sulawesi Selatan 90234, Indonesia

Email: [muhammadbasir@unimerz.ac.id](mailto:muhammadbasir@unimerz.ac.id)

### 1. PENDAHULUAN

Saat ini perkembangan berbagai penyakit degeneratif sangat pesat. Pesatnya perkembangan penyakit tersebut telah mendorong masyarakat luas untuk memahami dampak yang ditimbulkannya. Indonesia dihadapkan pada masalah beban ganda di bidang kesehatan, yakni selain masalah penyakit infeksi yang belum tuntas

ditangani, muncul masalah baru berupa penyakit degeneratif yang memerlukan biaya kesehatan yang lebih mahal. Hasil Riset Kesehatan Dasar ([Risikesdas](#)) 2018 menunjukkan prevalensi penyakit degeneratif mengalami kenaikan seperti prevalensi kanker naik dari 1,4 persen (Risikesdas2013) menjadi 1,8 persen di 2018<sup>1</sup>. Penyakit degeneratif adalah istilah medis untuk menjelaskan suatu penyakit yang muncul sebagai akibat proses kemunduran fungsi sel tubuh dari keadaan yang normal menjadi lebih buruk atau tingkat aktifitas sel di dalam tubuh yang menurun. Tubuh mengalami defisiensi produksi enzim dan hormon, imunodefisiensi, peroksida lipid, kerusakan sel (DNA) dan pembuluh darah. Penyakit degeneratif merupakan penyakit kronik menahun yang banyak mempengaruhi kualitas hidup serta produktivitas seseorang<sup>2</sup>. Salah satu metode untuk mengembalikan fungsi sel tubuh dan meningkatkan imunitas adalah dengan puasa (*intermittent fasting*).<sup>3</sup> *Intermittent fasting* dianjurkan sebagai pengobatan medis untuk berbagai kondisi, termasuk mengendalikan berat badan, mengistirahatkan pencernaan, memperbaiki profil lemak darah, dan mengatasi penyakit degeneratif<sup>4,5</sup>. *Intermittent fasting* membantu mencegah munculnya kanker (salah satu penyakit degeneratif) karena selama puasa sel-sel tubuh berada dalam mode protektif sehingga menjaga tubuh dari serangan penyakit. Selain itu, sel-sel kanker akan kesulitan berkembang karena sumber makanannya, glukosa tidak ditemukan dalam aliran darah saat sedang *intermittent fasting*<sup>6</sup>.

Beberapa penelitian eksperimental telah membuktikan manfaat kesehatan dari *intermittent fasting* dengan mempengaruhi fungsi biokimia dan fisiologis, meningkatkan sensitivitas insulin, mengurangi risiko aterosclerosis, stres oksidatif, dan keadaan inflamasi tubuh<sup>3</sup>. Proses inflamasi merupakan bagian dari respon imun (sistem kekebalan tubuh) yang diperlukan dalam kondisi tertentu. Mekanisme inflamasi membantu menghilangkan sel yang rusak dan mempercepat penyembuhan<sup>7</sup>. *Intermittent fasting* mengurangi status inflamasi tubuh dengan menghambat ekspresi sitokin proinflamasi dan kemokin terutama *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- $\alpha$ )<sup>8</sup>. TNF- $\alpha$  sebagai sitokin proinflamasi mempunyai peran yang sangat penting dalam menjaga imunitas dari berbagai faktor eksternal dan internal penyebab inflamasi. *Intermittent fasting* mempengaruhi status inflamasi tubuh, yang ditandai dengan menghambat ekspresi sitokin (terutama TNF- $\alpha$ ), kemokin, dan mediator inflamasi lainnya yang berkontribusi pada patogenesis beberapa gangguan proinflamasi seperti aterosclerosis, resistensi insulin, penyakit kardiovaskular, dan kanker<sup>9,10</sup>.

TNF- $\alpha$  sebagai sitokin pleiotrofik diproduksi oleh banyak tipe sel, termasuk makrofag, monosit, limfosit, keratinosit, dan fibroblas, dalam respon terhadap inflamasi, infeksi, luka, dan tantangan lingkungan lainnya. TNF- $\alpha$  sebagai sitokin proinflamasi yang kuat sekaligus imunoregulator memainkan peran penting dalam aktivasi dan migrasi leukosit, demam, respon fase akut, proliferasi sel, diferensiasi, dan apoptosis<sup>3</sup>. Menurut hasil ulasan di atas, *intermittent fasting* tidak hanya mengatur proses biokimia dan fisiologis tubuh, tetapi juga memunculkan respon anti inflamasi yang kuat di kedua model manusia dan hewan. *Intermittent fasting* mengatur ekspresi sitokin proinflamasi, kemokin, dan mediator proinflamasi lainnya. Namun, penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memperjelas mekanisme molekuler dari fungsi sinyal proteksi *intermittent fasting* untuk mempertimbangkan praktek ini sebagai pendekatan terapi komplementer dalam pengobatan gangguan inflamasi. Penelitian ini bertujuan menguji pengaruh *intermittent fasting* terhadap ekspresi mRNA gen TNF- $\alpha$ .

## 2. METODE

### 1. Design

Penelitian ini adalah *experiment* dengan rancangan *Pretest-Posttest with Control Group* untuk menguji adanya pengaruh *intermittent fasting* terhadap ekspresi mRNA Gen TNF- $\alpha$ .

### 2. Sampling

Subyek penelitian ini adalah 10 ekor mencit yang dibagi 2 kelompok yaitu kelompok perlakuan (*intermittent fasting*) dan kelompok kontrol. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Imunologi dan Biologi Molekuler Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar sebagai tempat pemeliharaan dan perawatan hewan coba serta pemeriksaan ekspresi mRNA Gen TNF- $\alpha$  dan IL-6. Penelitian dilaksanakan selama 30 hari. Inclusion criteria: Mencit jantan strain BALB/ c; mencit albino; berat badan mencit 25-35 gram; umur 6-9 minggu, sehat ditandai dengan gerakan yang aktif (nokturnal), mata jernih, suhu rektal rata-rata 37°C, serta bulu tebal, licin, mengkilat dan bersih. Exclusion criteria: Mencit yang sakit/mati dalam perjalanan penelitian, secara makroskopis tampak adanya abnormalitas, mencit yang pernah diikuti dalam penelitian lain.

### 3. Instrumen Penelitian

Alat untuk pemeliharaan mencit, Kandang pemeliharaan, tempat makanan dan bahan pakan standar D12102C, botol air, kawat kasa untuk penutup kandang. Alat pemberian perlakuan, Sarung tangan, sonde dan pipet, masker. Alat untuk pengambilan dan pemeriksaan sampel darah mencit, Disposable syringe, tabung untuk darah, tabung larutan L6.

### 4. Prosedur Penelitian

Sebelum diberi perlakuan, mencit diadaptasi terlebih dahulu selama 1 minggu agar kondisi fisik dan psikis mencit stabil. Kemudian mencit dibagi dalam dua kelompok yaitu: Kelompok I: Mencit *intermittent fasting* 13 jam + diet standar sebagai kelompok perlakuan, Kelompok II: Mencit tidak ada perlakuan *intermittent fasting*

+ diet standar sebagai kontrol. Mencit pada kelompok I, dan II diambil sampel darah sebanyak 100 $\mu$ l pada pretest dan posttest. Perlakuan dilakukan selama 30 hari. *Intermittent fasting* untuk mencit kelompok I dari pukul 17.30 – 06.30 (13 jam pada malam hari).

#### 5. Pengukuran Ekspresi mRNA Gen TNF- $\alpha$

Pengukuran dilakukan di Laboratorium Imunologi dan Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar sebagai tempat pemeriksaan ekspresi mRNA Gen TNF- $\alpha$  dengan *Real Time PCR* karena sensitivitas tinggi dan spesifik.

#### 6. Data Analysis

The statistical test used was *Paired Sample T-Test* with a confidence degree of 95% and a value of  $a < 0.05$ . All data were analyzed using the SPSS Version 22.0 program (SPSS, Inc. Chicago, IL).

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Seluruh subyek berumur 8 minggu 100% dan berjenis kelamin jantan (100%) (**Tabel 1**).

**Tabel 1. Karakteristik Subyek (n=10)**

Kelompok	Pretest	Posttest	$\rho^*$	$\Delta$	$\rho^*$
	Mean + SD	Mean + SD			
Kontrol	31,10 $\pm 1,24$	33,26 $\pm 2,75$	0,181	2,16	0,826
Perlakuan	29,40 $\pm 0,99$	32,86 $\pm 1,69$	0,006	3,46	

Pada kelompok kontrol terjadi peningkatan berat badan rata-rata 2,16 g, dan nilai  $\rho = 0,181$  ( $\rho > 0,05$ ), artinya tidak terdapat perbedaan berat badan pada mencit kelompok kontrol pada pretest dan posttest. Pada kelompok perlakuan terjadi peningkatan berat badan rata-rata 3,46 g, dan nilai  $\rho = 0,006$  ( $\rho < 0,05$ ), artinya terdapat perbedaan berat badan yang bermakna pada pretest dan posttest mencit yang *intermittent fasting*. (**Tabel 1**).

Hasil analisis uji t berpasangan diperoleh nilai  $\rho = 0,826$  ( $\rho > 0,05$ ) berarti tidak ada pengaruh *intermittent fasting* terhadap berat badan mencit. Hal ini ditandai dengan tidak adanya perbedaan bermakna antara berat badan mencit pada kelompok kontrol dengan kelompok yang *intermittent fasting*. (**Tabel 2**).

**Tabel 2. Pengaruh Intermittent Fasting terhadap Berat Badan Mencit**

Kelompok	Pretest	Posttest	$\rho^*$	$\Delta$	$\rho^*$
	Mean + SD	Mean + SD			
Kontrol	12,30 $\pm 0,68$	12,12 $\pm 0,73$	0,617	-0,18	0,004
Perlakuan	12,18 $\pm 0,45$	7,73 $\pm 1,28$	0,000	-4,45	

Ekspresi mRNA gen TNF- $\alpha$  pada mencit kelompok kontrol (tidak *intermittent fasting*) pada *pretest* rata-rata 12,30 dan pada *posttest* rata-rata 12,12 dengan perbedaan rerata 0,68 pada *pretest* dan 0,73 pada *posttest*, nilai  $\rho = 0,68$  ( $\rho > 0,05$ ) menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan ekspresi mRNA gen TNF- $\alpha$  *pretest* dan *posttest*. Ekspresi mRNA gen TNF- $\alpha$  pada mencit kelompok perlakuan (*intermittent fasting*) pada *pretest* rata-rata 12,18 dan pada *posttest* rata-rata 7,73 dengan perbedaan rerata 0,45 (*pretest*) dan 1,28 (*posttest*), nilai  $\rho = 0,000$  ( $\rho < 0,05$ ) menunjukkan bahwa terjadi penurunan yang signifikan ekspresi mRNA Gen TNF- $\alpha$  (**Tabel 3**).

**Tabel 3. Pengaruh Intermittent Fasting terhadap Penurunan Ekspresi mRNA Gen TNF- $\alpha$  pada Mencit**

Kelompok	Pretest	Posttest	$\rho^*$	$\Delta$	$\rho^*$
	Mean + SD	Mean + SD			
Kontrol	12,30 $\pm 0,68$	12,12 $\pm 0,73$	0,617	-	0,004
Perlakuan	12,18 $\pm 0,45$	7,73 $\pm 1,28$	0,000	-	

Hasil uji *Paired Sample T-Test*  $\rho = 0,004$  ( $\rho < 0,05$ ) pada tingkat kepercayaan 95% menunjukkan bahwa ada pengaruh bermakna *intermittent fasting* terhadap penurunan ekspresi mRNA gen TNF- $\alpha$  pada mencit. (**Tabel 3**).

## PEMBAHASAN

### 1. Pembahasan Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *experimental* dengan rancangan *pretest-posttest with control group* untuk menguji pengaruh *intermittent fasting* terhadap penurunan ekspresi mRNA gen TNF- $\alpha$ . Subyek penelitian ini adalah 10 ekor mencit sebagai hewan coba yang dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

Pada *pretest* dilakukan pemeriksaan ekspresi mRNA gen TNF- $\alpha$  pada kedua kelompok hewan coba. Dalam waktu satu bulan (30 hari) kemudian dilakukan pemeriksaan kembali ekspresi mRNA gen TNF- $\alpha$  baik pada kelompok kontrol maupun pada kelompok *intermittent fasting*. Pemeriksaan ekspresi mRNA gen TNF- $\alpha$  dengan metode *Real Time PCR* karena sensitivitas tinggi dan spesifik.

### 2. Karakteristik Subyek

Sampel adalah 10 ekor mencit (*mus musculus*) albino berjenis kelamin jantan yang dibagi menjadi 5 ekor untuk kelompok kontrol (tidak dipuasakan) dan 5 ekor untuk kelompok perlakuan (dipuasakan). Menggunakan mencit karena memiliki sifat lebih tenang dibanding hewan coba jenis lain terutama saat pengambilan sampel darah untuk pemeriksaan ekspresi mRNA gen dengan metode *Real Time PCR*.

Keseluruhan sampel adalah mencit jantan dengan alasan mencit jantan tidak mengalami siklus estrus sehingga sampel menjadi homogen, mudah dikendalikan dan hasilnya diharapkan akan lebih akurat. Sampel yang digunakan adalah mencit yang keseluruhan berumur 8 minggu untuk keseragaman baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan.

### 3. Perubahan Berat Badan.

Berat badan mencit rata-rata pada *pretest* adalah 31,10 g untuk kelompok kontrol dan 29,40 g untuk kelompok *intermittent fasting*. Berat badan rata-rata mengalami kenaikan baik untuk kelompok kontrol maupun kelompok *intermittent fasting* pada *posttest* yaitu 33,26 g (kelompok kontrol) dan 32,86 g (kelompok *intermittent fasting*). Pada kelompok *intermittent fasting* secara keseluruhan mengalami kenaikan berat badan secara merata. Sedangkan pada kelompok kontrol ada 1 ekor mencit mengalami penurunan berat badan dari 31,5 g menjadi 30,4 g. Juga terdapat 1 ekor mencit mengalami peningkatan berat badan yang cukup tajam dari 30,4 g menjadi 37,3 g.

Hasil analisis uji t berpasangan didapatkan nilai  $\rho = 0,826$  ( $\rho > 0,05$ ) berarti tidak ada pengaruh *intermittent fasting* terhadap berat badan mencit, hal ini ditandai dengan tidak adanya perbedaan bermakna antara berat badan mencit pada kelompok kontrol dengan kelompok *intermittent fasting*. Hal ini bermakna bahwa secara umum perubahan berat badan yang terjadi pada mencit *intermittent fasting* tidak jauh berbeda dengan perubahan berat badan pada mencit kontrol. *Intermittent fasting* dalam hal ini menjadi positif dalam rangka menyeimbangkan dan menjaga kenaikan berat badan yang terkontrol.

Berdasarkan penelitian Marice Sihombing (2010) berat badan normal mencit pada umur 12 minggu rata-rata 32,96 g, sehingga secara umum berat badan mencit pada penelitian ini baik pada kelompok kontrol maupun kelompok *intermittent fasting* berada pada rentang referensi, namun secara khusus kelompok *intermittent fasting* lebih mendekati referensi tersebut yaitu 32,86 g (standar=32,96 g).

### 4. Pengaruh *intermittent fasting* terhadap penurunan ekspresi mRNA gen TNF- $\alpha$ .

Hasil uji *Paired Sample T-Test*  $\rho=0,004$  ( $\rho < 0,05$ ) pada tingkat kepercayaan 95% menunjukkan bahwa ada pengaruh bermakna *intermittent fasting* terhadap penurunan ekspresi mRNA gen TNF- $\alpha$  pada mencit. Hasil tersebut di atas menunjukkan penelitian ini membuktikan bahwa *intermittent fasting* dapat menurunkan nilai ekspresi mRNA gen TNF- $\alpha$  secara signifikan. Hal ini sejalan dengan pendapat Lahdimawan, et al (2013) bahwa *intermittent fasting* menurunkan gejala penyakit pada pasien dengan asma sedang, serta penanda stres oksidatif dan inflamasi dalam darah, termasuk TNF- $\alpha$  dan faktor neurotropik yang diturunkan dari otak<sup>11</sup>.

Hal itu diperkuat oleh penelitian lainnya yang dilakukan pada pasien asma dan hewan coba asma telah mengkonfirmasi menurunnya TNF- $\alpha$  dan *Brain Derived Neurotrophic Factor* (BDNF) mediator penting dari inflamasi saluran napas setelah *intermittent fasting*<sup>12</sup>. Menariknya, *intermittent fasting* juga memperlambat proses penuaan secara efektif dan melindungi jantung tikus terhadap lama peradangan diinduksi dan fibrosis dengan menghambat kerusakan oksidatif dan aktivasi NF- $\kappa$ B<sup>13</sup>. Dalam studi lain, Unalacak et al. (2011) melaporkan bahwa beberapa mediator inflamasi, seperti IL-2, IL-8, dan TNF- $\alpha$ , menurun setelah *intermittent fasting*<sup>6</sup>.

*Intermittent fasting* telah menunjukkan dapat memperpanjang usia harapan hidup dan mengurangi inflamasi dan promosi kanker pada model hewan coba. *Intermittent fasting* secara positif dapat mempengaruhi keadaan inflamasi ditandai dengan menurunnya ekspresi mRNA gen TNF- $\alpha$  sebagai sitokin proinflamasi yang secara signifikan lebih rendah. Sel kekebalan tubuh menurun secara signifikan namun tetap berada dalam rentang referensi. Hasil ini menunjukkan bahwa *intermittent fasting* mengurangi status inflamasi tubuh dengan menekan ekspresi sitokin proinflamasi<sup>14</sup>.

Menurut hasil ulasan di atas, *intermittent fasting* tidak hanya mengatur proses biokimia dan fisiologis tubuh, tetapi juga memunculkan respon anti inflamasi yang kuat di kedua model manusia dan hewan. *Intermittent fasting* memiliki efek antiinflamasi yang signifikan dan bisa menjadi pendekatan terapeutik komplementer dalam pengobatan gangguan inflamasi. Menurunnya ekspresi mRNA gen TNF- $\alpha$  (sitokin proinflamasi), kemokin, dan

mediator proinflamasi lainnya dengan *intermittent fasting* adalah tanda bahwa kesehatan tubuh terjaga<sup>3</sup>.

#### 4. KESIMPULAN

Terjadi penurunan ekspresi mRNA gen TNF- $\alpha$  setelah *intermittent fasting*.

#### DAFTAR PUSTAKA

Dinkes RI. (2018). *Riset Kesehatan Dasar 2018*.

A. Abbas, A. Lichtman, S.Pillai. (2015). Cellular and molecular immunology. International Edition, 8<sup>th</sup>. ISBN: 9780323315906

Hasanian-Mehr, M., Ebrahimi, S., Rahmani, F., Avan, A., Nematy, M., Mostafa Parizadeh, S., & Mohammad Reza Parizadeh, S. (2016). Effects of Ramadan Fasting on the Regulation of Inflammation. *J Fasting Health*, 4(1), 32–37. Retrieved from [http://jfh.mums.ac.ir/article\\_6624\\_d49a33cb785a5e5f42c5392fa8f363b5.pdf](http://jfh.mums.ac.ir/article_6624_d49a33cb785a5e5f42c5392fa8f363b5.pdf)

Aliasghari, F., Izadi, A., Gargari, B. P., & Ebrahimi, S. (2017). The Effects of Ramadan Fasting on Body Composition, Blood Pressure, Glucose Metabolism, and Markers of Inflammation in NAFLD Patients: An Observational Trial. *Journal of the American College of Nutrition*. <https://doi.org/10.1080/07315724.2017.1339644>

St. Pierre, B., & Berardi, J. (2014). Intermittent Fasting: A Primer. *IDEA Fitness Journal*.

Ünalacak, M., Kara, İ. H., Baltacı, D., Erdem, Ö., & Bucaktepe, P. G. E. (2011). Effects of Ramadan Fasting on Biochemical and Hematological Parameters and Cytokines in Healthy and Obese Individuals. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*. <https://doi.org/10.1089/met.2010.0084>

Effendi, Z. (2013). Peranan Leukosit Sebagai Anti Inflamasi Alergik Dalam Tubuh. *Repository USU*, 1–8.

Akrami Mohajeri, F., Ahmadi, Z., Hassanshahi, G., Akrami Mohajeri, E., Ravari, A., & Razi Ghalebi, S. (2013). Dose Ramadan fasting affects inflammatory responses: Evidences for modulatory roles of this unique nutritional status via chemokine network. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*.

Jahromi, et al. (2014). Islamic fasting and multiple sclerosis. *BMC Neurology*. <https://doi.org/10.1186/1471-2377-14-56>

Nematy, et al. (2012). Effects of Ramadan fasting on cardiovascular risk factors: A prospective observational study. *Nutrition Journal*. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-11-69>

Lahdimawan, Ardik Handono, Kusworini Rasjad Indra, M Prawiro, Sumarno Reto. (2013). Effect of Ramadan Fasting On Classically Activated, Oxidative Stress and Inflammation of Macrophage. *IOSR Journal Of Pharmacy Wwww.Iosrphr.Org*

Wan, Ruiqian Ahmet, Ismayil Brown, Martin Cheng, Aiwu Kamimura, Naomi Talan, Mark Mattson, Mark P. (2010). Cardioprotective effect of intermittent fasting is associated with an elevation of adiponectin levels in rats. *The Journal of nutritional biochemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2009.01.020>

Castello, L., Froio, T., Maina, M., Cavallini, G., Biasi, F., Leonarduzzi, G., ... Chiarpotto, E. (2010). Alternate-day fasting protects the rat heart against age-induced inflammation and fibrosis by inhibiting oxidative damage and NF- $\kappa$ B activation. *Free Radical Biology and Medicine*. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.10.003>

Faris, M. A.-I. E., Kacimi, S., Al-Kurd, R. a, Fararjeh, M. a, Bustanji, Y. K., Mohammad, M. K., & Salem, M. L. (2012). Intermittent fasting during Ramadan attenuates proinflammatory cytokines and immune cells in healthy subjects. *Nutrition Research (New York, N.Y.)*. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2012.06.021>