

Pengaruh Ketiadaan Makan dan Minum Terhadap Kondisi Fisiologis Tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Galur Wistar

The Effect of Food and Water Deprivation on the Physiological Condition of Wistar Rats (Rattus norvegicus Berkenhout, 1769)

Laksmindra Fitria^{1*}, Nurfitri Oktavia², Ayu Aziza Ar Rachid¹

¹Laboratorium Fisiologi Hewan, Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, Sleman, D.I. Yogyakarta 55281, Indonesia

²Jurusan Biologi FMIPA Universitas Tadulako, Palu, Sulawesi Tengah 94148, Indonesia

*corresponding author, Email: laksmindraf@ugm.ac.id

Rekam Jejak Artikel:

Diterima : 06/07/2024

Disetujui : 24/01/2025

Abstract

Wistar rat (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) is one laboratory animal species commonly used as a model in biomedical-preclinical research. Husbandry has a major impact on the validity of research data. Shortage or deprivation of feed and drinking water possibly occur on weekends and holidays. This research aimed to study the effect of feed and/or water deprivation on the physiological condition of Wistar rats. Twelve adult female individuals were assigned into 4 groups: Group I received feed and water *ad libitum* (control), Group II received feed, but not water, Group III did not receive feed, only water, and Group IV: received neither feed nor water. The experiment was carried out for 4 consecutive days, after which feed and water were served again *ad libitum*. Data were analyzed statistically using one-way repeated measures ANOVA ($\alpha = 0.05$). Results demonstrated that feed and/or water deprivation caused starvation, dehydration, anemia, susceptibility to infection, and stress which is indicated by decreasing body weight, body temperature, blood glucose level, and alterations in the profile of erythrocytes, leukocytes, and thrombocytes. Although some statistical analyses did not yield significant results, these physiological disruptions inevitably reduce the quality of life and promote health issues of animals. Provision of feed and drink for 4 consecutive days restore the physiological condition of rats close to normal state. However, it is suggested to offer feed and water *ad libitum* daily to maintain animals' health and welfare, to meet the prerequisites to be used as subjects in research.

Key Words : animal welfare, blood profile, fasting, *Rattus norvegicus*, Wistar rat

Abstrak

Tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) galur Wistar adalah salah satu spesies hewan coba yang lazim digunakan sebagai model dalam penelitian biomedis-praktis. Perawatan hewan coba sangat menentukan validitas hasil penelitian. Kekurangan bahkan ketiadaan pakan dan air minum dapat terjadi saat akhir pekan maupun hari libur. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh ketiadaan makan dan/atau minum terhadap kondisi fisiologis tikus Wistar. Dua belas tikus Wistar betina dewasa dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu: Kelompok I: diberi makan dan minum *ad libitum* (kontrol), Kelompok II: diberi makan tetapi tidak diberi minum, Kelompok III: tidak diberi makan hanya diberi minum, dan Kelompok IV: tidak diberi makan dan minum sama sekali. Perlakuan dilakukan selama 4 hari berturut-turut, setelah itu hewan kembali diberi makan dan minum *ad libitum*. Data dianalisis secara statistik berdasarkan *one-way repeated measures ANOVA* ($\alpha = 0,05$). Hasil menunjukkan bahwa ketiadaan makan dan/atau minum menyebabkan kelaparan, dehidrasi, anemia, kerentanan terhadap infeksi, dan stres yang diindikasikan dengan penurunan berat badan, suhu badan, dan kadar glukosa darah, serta perubahan profil eritrosit, leukosit, dan trombosit. Meskipun sebagian analisis statistik tidak menunjukkan hasil yang signifikan, namun gangguan fisiologis ini tetap menurunkan kualitas hidup dan menimbulkan masalah kesehatan bagi hewan. Penyediaan kembali makan dan minum selama 4 hari berturut-turut mengembalikan kondisi fisiologis tikus mendekati semula. Meskipun demikian, sebaiknya tikus tetap diberi makan dan minum secara *ad libitum* setiap hari untuk menjaga kesehatan dan kesejahteraannya sehingga tetap layak digunakan sebagai subjek dalam penelitian.

Kata kunci : kesejahteraan hewan, profil darah, puasa, *Rattus norvegicus*, tikus Wistar

PENDAHULUAN

Tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Galur Wistar adalah salah satu hewan coba yang lazim digunakan dalam penelitian praklinis karena dapat merepresentasikan kondisi fisiologis manusia (Fitria & Sarto, 2014). Tikus diberi perlakuan tertentu sehingga mampu menjadi model berbagai kondisi fisiologis manusia. Perlakuan dapat berupa administrasi obat, paparan zat kimia, hingga tindakan

fisik. Sebagai contoh, tikus disuntik *streptozotocin* untuk induksi model diabetes melitus (Zahra *et al.*, 2023), tikus dipapar asap rokok untuk induksi model penyakit paru obstruktif kronis (PPOK), jantung, kardiovaskular, dan kanker (Bocalini *et al.*, 2020), tikus dikekang/dipasung untuk model stres (Pal *et al.*, 2023).

Untuk dapat menggambarkan kondisi fisiologis yang diharapkan, proses intervensi harus dilakukan dengan prosedur yang tepat. Selain itu, proses perawatan hewan (*husbandry*) juga harus mengikuti standar untuk mencegah stres dan tindakan pelanggaran kesejahteraan hewan yang akan menurunkan kualitas hidup mereka dan merusak validitas data penelitian (Marx et al., 2021). Salah satu kewajiban dalam perawatan hewan adalah penyediaan pakan dan air minum yang dapat diakses setiap saat atau *ad libitum* (Krueger et al., 2020). Namun demikian, ketiadaan pakan dan air minum dapat terjadi karena beberapa hal, misalnya pada akhir pekan atau liburan panjang (Barkus et al., 2022). Menurut Smith (2021), ketiadaan pakan dan minum pada tikus hanya dapat dilakukan dengan tujuan yang jelas misalnya pra-anestesi, administrasi oral (*gavage*), atau pemeriksaan darah. Pada tikus, puasa cukup dilakukan selama 6–8 jam saja, tidak direkomendasikan lebih dari 15 jam (*overnight*). Puasa (*fasting*) didefinisikan sebagai ketiadaan pakan dan air minum (asupan) selama periode akut pada hewan yang terbiasa dengan pakan dan air minum yang disediakan secara terus-menerus (*ad libitum*). Ketiadaan asupan dalam jangka waktu panjang disebut *food-water deprivation*, sedangkan jika asupan disediakan secara terbatas pada waktu dan durasi tertentu disebut *food-water restriction* (Smith, 2021). Kekurangan asupan akibat *deprivation* atau *restriction* menyebabkan kelaparan (*starvation*). Tubuh akan mengalami perubahan metabolisme energi untuk mempertahankan kondisi homeostasis (Namazi et al., 2016). Ketidakseimbangan homeostasis menyebabkan gangguan kesehatan dan memicu timbulnya berbagai penyakit (Wang & Qin, 2022).

Gangguan kesehatan akibat abnormalitas metabolisme tubuh dapat dideteksi melalui pemeriksaan sampel darah di laboratorium. Tes darah sangat penting untuk upaya pencegahan, diagnosis, dan pengelolaan penyakit kronis (Cabalar et al., 2024). Menurut Fitria & Sarto (2014), darah merupakan komponen penting dalam penilaian kondisi fisiologis tubuh. Profil darah dapat dibedakan menjadi dua, yaitu profil hematologi dan profil kimia darah. Profil hematologi berupa kajian hitung darah lengkap yang terdiri dari eritrosit, leukosit dan trombosit, sedangkan profil kimia darah mengukur kadar berbagai zat-zat terlarut dalam plasma darah, seperti: glukosa, lipid, protein, hormon, indikator kesehatan fungsi organ, dll. Oleh karena itu, profil darah dapat memberikan gambaran kesehatan individu dan sebagai penunjang diagnosis berbagai penyakit (Fitria et al., 2022). Profil hematologi dan kadar glukosa darah bahkan digunakan sebagai indikator kesehatan sejak individu dilahirkan (Triningtyas et al., 2024). Percobaan ketiadaan makan dan/atau minum pertama kali dilakukan oleh Archambeau et al. (1968). Selain data telah usang, hewan coba yang digunakan adalah mencit (*Mus*

musculus Linnaeus, 1758). Menurut Arias-Reyes et al. (2021), tikus dan mencit memiliki beberapa perbedaan fisiologis terutama terkait ventilasi (pernapasan), hematologi, dan metabolisme, sehingga data fisiologis kedua spesies tersebut bersifat spesifik. Dietze et al. (2016) melakukan percobaan ketiadaan makan dan/atau minum pada tikus Wistar namun parameter yang diamati berupa berat badan dan perilaku, tidak terdapat data hematologi dan kadar glukosa darah yang merupakan indikator metabolisme tubuh sebagai respons terhadap ketiadaan makan dan/atau minum. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari efek ketiadaan makan dan/atau minum pada tikus Wistar betina selama 4 hari berturut-turut (periode kronis) terhadap kondisi fisiologis dengan parameter berupa: berat badan, suhu badan, kadar glukosa darah, dan profil hematologi. Dalam penelitian *in vivo* disarankan menggunakan kedua jenis kelamin karena respons fisiologis antara individu jantan dan betina dapat berbeda. Perbedaan ini dapat mencakup interaksi kromosom (genetik), biokimia, siklus hormonal, tahapan reproduksi, atau manifestasi klinis yang berdampak pada status kesehatan individu (Cornelison & Clayton, 2017). Pada penelitian ini digunakan tikus betina karena mayoritas permasalahan bariatrik (berkaitan dengan perilaku makan dan pengelolaan berat badan) dihadapi oleh wanita (Blonde et al., 2021). Namun demikian, percobaan menggunakan tikus jantan juga tetap diperlukan sebagai pembanding.

MATERI DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di fasilitas hewan "Animal House" Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada (UGM) Yogyakarta pada Bulan Agustus 2021. Penelitian ini dilengkapi dengan Surat Keterangan Kelaikan Etik (*Ethical Clearance*) yang diterbitkan oleh Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Hewan UGM Nomor 00116/EC-FKH/Eks./2021.

Prosedur Kerja

Pengadaan Hewan Coba dan Pengelompokan

Hewan coba berupa tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Galur Wistar yang merupakan hasil pengembangbiakan di *Animal House* Fakultas Biologi UGM. Untuk penelitian ini digunakan 12 ekor tikus betina dewasa berumur 6 bulan dengan kisaran berat badan 200–390 g ($288,21 \pm 57,43$ g). Tikus dibagi menjadi 4 kelompok dengan jumlah ulangan masing-masing 3 ekor, yaitu: Kelompok I: diberi makan dan minum *ad libitum* sebagai kontrol (MA+MI+), Kelompok II: diberi makan tetapi tidak diberi minum (MA+MI-), Kelompok III: tidak diberi makan hanya diberi minum (MA-MI+), dan Kelompok IV: tidak diberi makan dan minum sama sekali (MI-MI-).

Tabel 1. Desain percobaan

Kode kelompok	Deskripsi Perlakuan	Ulangan	Makan	Minum
MA+MI+	Tikus diberi makan dan minum (Kontrol)	3 ekor	pelet rodensia* 60 g	air minum** 250 mL
MA+MI-	Tikus diberi makan namun tidak diberi minum	3 ekor	pelet rodensia* 60 g	-
MA-MI+	Tikus tidak diberi makan, hanya diberi minum	3 ekor	-	air minum** 250 mL
MA-MI-	Tikus tidak diberi makan dan minum sama sekali	3 ekor	-	-

Catatan: * pelet rodensia Ratbio produksi PT. Citra Ina Feedmill, Jakarta

** air minum produksi Sistem Penyediaan Air Minum (SPAM) TOYAGAMA UGM

Desain Percobaan

Setelah dikelompokkan, tikus diaklimasi selama satu minggu untuk membiasakan diri dengan lingkungan baru. Tikus dipelihara dalam kandang standar persegi empat dari bahan polipropilen transparan dengan penutup berupa anyaman kawat tahan karat, dan lantai kandang dialasi serutan kayu (*wood shaving*) yang telah disterilisasi (autoklaf). Kandang dilengkapi dengan loyang untuk wadah pakan, botol minum standar untuk rodensia, dan pipa paralon untuk tempat bersembunyi. Desain kandang ini mengikuti Fitria *et al.* (2022).

Sebelum penelitian dimulai atau pada hari ke-0, semua tikus diambil datanya untuk menentukan nilai *baseline*, meliputi: berat badan, suhu badan, kadar glukosa darah, dan profil hematologi rutin (hitung darah lengkap). Setelah itu, untuk masing-masing kelompok disiapkan ransum makan dan/atau minum sebagai berikut (Tabel 1).

Komposisi nutrisi pokok pada pelet Ratbio adalah sebagai berikut: Serat kasar maksimum 4 %, protein minimum 20 %, lemak maksimum 4 %, kadar air maksimum 12 %, abu maksimum 8 %, kalsium 1,2 %, dan fosfor 0,7 %. Jika dibandingkan dengan pelet rodensia yang lazim digunakan oleh para peneliti di dunia (produk Labdiet #5001), komposisi nutrisi pokok pelet Ratbio sebagai produk lokal tidak berbeda jauh: Serat kasar maksimum 6 %, protein minimum 23 %, lemak minimum 4,5 %, kadar air maksimum 12 %, abu maksimum 8 %, kalsium 0,95 %, dan fosfor 0,67 %.

Perlakuan ketiadaan makan dan/atau minum berlangsung selama 4 hari (96 jam) berturut-turut, mengikuti Yoda *et al.* (2000). Pada hari ke-4 dilakukan pengambilan data dengan parameter yang sama dengan pada hari ke-0. Setelah itu tikus diberi makan dan minum seperti pada kelompok kontrol selama 4 hari berturut-turut. Pada hari ke-8, kembali dilakukan pengambilan data dengan parameter yang sama dengan pada hari ke-0 dan ke-4. Selanjutnya tikus dieutanasia untuk diambil organ-organ dalamnya guna pengamatan struktur anatomis dan

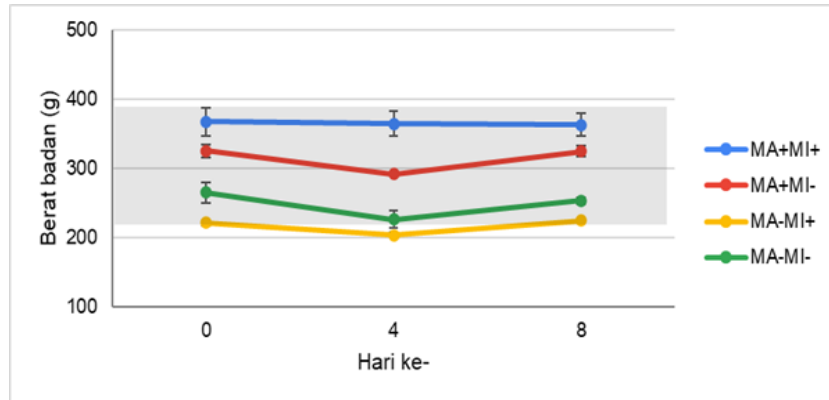
histologis (data tidak ditampilkan dalam artikel ini). Sisa karkas dan limbah medis selama percobaan diolah menggunakan insinerator di Pusat Inovasi Agroteknologi (PIAT) UGM.

Cara Pengambilan Data

Data diambil setelah tikus dipuaskan makan (namun tetap diberi minum) selama 6 jam (Smith, 2021). Berat badan (gram) ditimbang menggunakan neraca digital (Ohaus®, China), dan suhu badan (°C) diukur melalui rektum menggunakan termometer klinis digital (Omron®, Japan). Kadar glukosa darah (mmol/L) diukur menggunakan *rapid test strip* (EasyTouch®GCU, Taiwan). Profil hematologi rutin dianalisis menggunakan *hematology analyzer* (Sysmex®, Japan) dengan parameter: jumlah eritrosit ($\times 10^6/\mu\text{L}$), kadar hemoglobin (g/dL), jumlah total leukosit ($\times 10^3/\mu\text{L}$), persentase neutrofil (%), persentase limfosit (%), rasio neutrofil terhadap limfosit (N/L), dan jumlah trombosit ($\times 10^6/\mu\text{L}$) mengikuti Fitria & Sarto (2014). Sampel darah untuk analisis hematologi dikoleksi dari *sinus orbitalis* setelah hewan dianestesi menggunakan *cocktail* Ketamine (Kepro®, Holland) dosis 50 mg/kg bb dan Xylazine (Interchemie®, Holland) dosis 5 mg/kg bb secara intramuskular dengan volume 0,1 mL/100 g bb (Fitria *et al.*, 2022).

Analisis Statistik

Data dianalisis secara statistik menggunakan IBM-SPSS v.25 berdasarkan uji *one-way repeated measures* ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95 % ($\alpha = 0,05$), dilanjutkan dengan uji *post hoc* Duncan dengan tingkat kepercayaan 95 % ($\alpha = 0,05$) untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan antar-waktu. Alasan pemilihan metode uji ini adalah karena variabel bebas dianalisis satu per satu dengan pengamatan berulang pada hari ke-0, 4, dan 8 atau antar-waktu (Kim, 2015). Data disajikan dalam bentuk grafik guna menampilkan tren secara lebih jelas.



Gambar 1. Pengaruh ketiadaan makan dan/atau minum terhadap berat badan tikus Wistar

Keterangan: MA+MI+ = Tikus diberi makan dan minum (kontrol), MA+MI- = Tikus diberi makan namun tidak diberi minum, MA-MI+ = Tikus tidak diberi makan, hanya diberi minum, MA-MI- = Tikus tidak diberi makan dan minum sama sekali, Blok kelabu = kisaran *baseline* (berdasarkan populasi dalam penelitian ini)

Tabel 2. Persentase penurunan dan peningkatan berat badan pada percobaan ini

Kode kelompok	Persentase penurunan berat badan selama ketiadaan makan dan/atau minum (%)	Persentase peningkatan berat badan setelah penyediaan kembali makan dan/atau minum (%)
MA+MI+	0,82 ± 0,1	0,37 ± 0,3
MA+MI-	10,26 ± 3,1	10,12 ± 2,4*
MA-MI+	7,99 ± 1,0	9,43 ± 6,6*
MA-MI-	14,61 ± 1,8	10,67 ± 2,0*

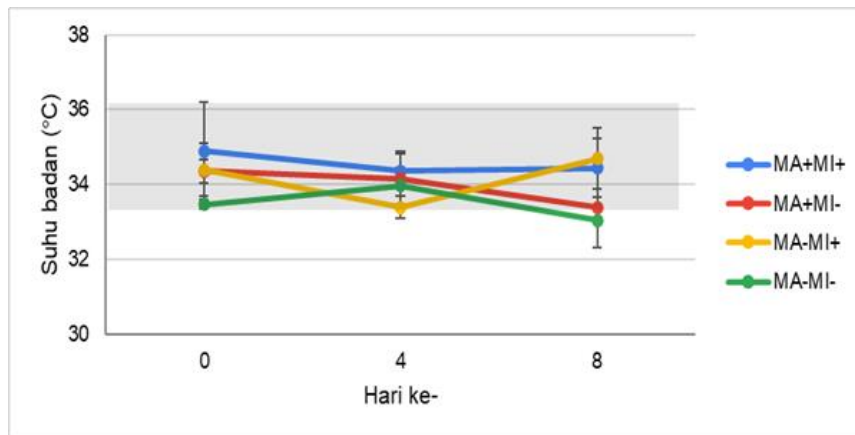
Keterangan: MA+MI+ = Tikus diberi makan dan minum (kontrol), MI+MI- = Tikus diberi makan namun tidak diberi minum, MA-MI+ = Tikus tidak diberi makan, hanya diberi minum, MI-MI- = Tikus tidak diberi makan dan minum sama sekali. Tanda bintang (*) menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada nilai dalam lajur yang sama (antar waktu) ($p < 0,05$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh ketiadaan makan dan/atau minum terhadap berat dan suhu badan tikus Wistar betina

Ketiadaan makan dan/atau minum selama 4 hari menyebabkan penurunan berat badan, meskipun masih berada di dalam kisaran *baseline* (Gambar 1). Penurunan berat badan terbanyak terjadi pada kelompok dengan ketiadaan air minum (MA+MI-, MA-MI-) yaitu hingga >10 % (Tabel 2). Hasil ini mirip dengan penelitian Dietze *et al.* (2016) pada tikus Wistar jantan dan betina yang mengalami penurunan berat badan sebanyak 9,4 %. Menurut Vasilev *et al.* (2021), ketiadaan minum dapat juga berarti kekurangan makan karena dalam kondisi ketiadaan minum, hewan akan mengurangi bahkan berhenti makan (anoreksia) dalam rangka menurunkan laju metabolisme, menjaga suhu tubuh, dan mencegah dehidrasi. Air sangat penting dalam proses metabolisme, transportasi substrat, homeostasis, termoregulasi, dan sirkulasi (Armstrong & Johnson, 2018). Hal inilah yang menyebabkan

terjadinya penurunan berat badan secara signifikan. Penurunan berat badan bersifat kritis jika mencapai 40 % pada mencit (Archambeau *et al.*, 1968), dan 20 % pada tikus (Talbot *et al.*, 2020). Sementara itu, menurut Smith (2021), persentase penurunan berat badan pada tikus dengan ketiadaan makan dan/atau minum berkisar antara 3,3–18 %. Perbedaan nilai kritis ini karena mencit memiliki laju metabolisme lebih tinggi daripada tikus (Arias-Reyes *et al.*, 2021) sehingga mencit membutuhkan lebih banyak energi untuk beraktivitas. Energi berasal dari konversi cadangan makanan di dalam tubuh selama periode ketiadaan makan dan/atau minum. Hasil penelitian ini sesuai dengan Dietze *et al.* (2016) dan Smith (2021), di mana tikus dengan ketiadaan makan dan/atau minum mengalami penurunan berat badan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penurunan berat badan tidak mencapai nilai kritis. Apabila hal ini terjadi, maka hewan harus dikorbankan sebagai pertimbangan etika dan moral atau *humane endpoint* (Talbot *et al.*, 2020). Dalam penelitian ini penurunan berat badan <20 % sehingga hewan dapat dibiarkan hidup dan penelitian dilanjutkan.



Gambar 2. Pengaruh ketiadaan makan dan/atau minum terhadap suhu badan tikus Wistar

Keterangan: MA+MI+ = Tikus diberi makan dan minum (kontrol), MA+MI- = Tikus diberi makan namun tidak diberi minum, MA-MI+ = Tikus tidak diberi makan, hanya diberi minum, MA-MI- = Tikus tidak diberi makan dan minum sama sekali, Blok kelabu = kisaran *baseline* (berdasarkan populasi dalam penelitian ini)

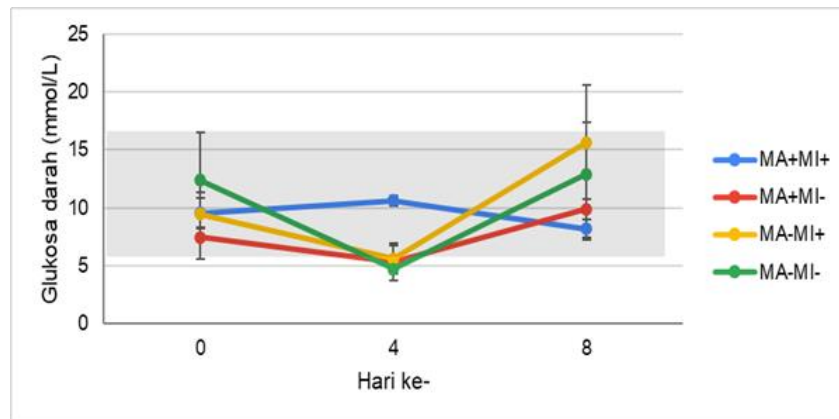
Penyediaan kembali pakan dan air minum meningkatkan berat badan mendekati kondisi semula (Gambar 1). Persentase peningkatan berat badan setelah penyediaan kembali makan dan/atau minum relatif sama pada ketiga kelompok yaitu sekitar 10 %, dengan nilai tertinggi pada kelompok yang tidak diberi makan dan minum sama sekali (MA-MI-) (Tabel 2). Hal ini sesuai dengan Jarvandi (2009) yang menyatakan bahwa tikus makan lebih banyak setelah puasa berkepanjangan dalam rangka mengantisipasi kelaparan.

Suhu badan tikus dengan ketiadaan makan dan/atau minum selama 4 hari mengalami fluktuasi dengan kecenderungan menurun, namun tidak sampai keluar dari kisaran *baseline* (Gambar 2). Selain berperan dalam membantu proses pencernaan, air juga berfungsi untuk ekskresi limbah metabolisme, membantu mengatur suhu tubuh dengan cara mendistribusikan panas dan membuang panas melalui urin. Oleh karena itu, kekurangan air (dehidrasi) menyebabkan fungsi termoregulasi terganggu (Muhamed *et al.*, 2019). Penyediaan kembali pakan dan air minum semestinya dapat meningkatkan suhu badan menjadi normal kembali, akan tetapi hasil penelitian menunjukkan bahwa suhu badan masih terus turun termasuk kontrol. Kelompok dengan ketiadaan air minum (MA+MI-, MA-MI-) terus mengalami penurunan suhu badan hingga di batas bawah *baseline*, namun demikian penurunan ini bersifat tidak signifikan (Gambar 2). Hal ini karena pengukuran suhu badan dilakukan pada siang hari. Rentang suhu badan tikus Wistar betina pada siang hari adalah 33,22–34,99 °C (Fitria *et al.*, 2022). Menurut Yoda *et al.* (2000), suhu badan tikus turun selama periode inaktif (siang) dan kembali normal pada periode aktif (malam). Mekanisme ini merupakan strategi yang lazim dilakukan oleh mamalia nokturnal dalam rangka konservasi energi dan menurunkan laju metabolisme sebagai respons terhadap kondisi ketiadaan makan dan/atau minum.

Pengaruh ketiadaan makan dan/atau minum terhadap kadar glukosa darah tikus Wistar

Ketiadaan makan dan/atau minum selama 4 hari menurunkan kadar glukosa darah hingga di batas bawah *baseline* dan bersifat signifikan. Hasil ini sesuai dengan Jimenez *et al.* (2021) yang melakukan percobaan serupa selama periode akut (24 jam) dan Okediran *et al.* (2021) yang melakukan percobaan serupa selama periode kronis (6 hari). Penurunan kadar glukosa darah paling banyak terjadi pada kelompok yang tidak diberi makan dan minum sama sekali (MA-MI-). Penurunan kadar glukosa darah disebabkan tidak ada asupan makanan dan tidak ada penyerapan glukosa oleh usus. Penyediaan kembali pakan dan air minum meningkatkan kadar glukosa darah secara signifikan, bahkan lebih tinggi dibandingkan kondisi awal sebelum perlakuan ketiadaan makan dan/atau minum (Gambar 3).

Peningkatan kadar glukosa darah paling banyak terjadi pada kelompok yang tidak diberi makan, hanya diberi minum (MA-MI+). Menurut Jarvandi (2009), tikus yang kelaparan akan makan lebih banyak sehingga terjadi lonjakan kadar glukosa darah yang signifikan. Glukosa darah berasal dari proses pencernaan makanan dalam kondisi normal (glikolisis) yang mampu mencukupi kebutuhan energi harian tubuh. Ketidadaan makan dan/atau minum selama periode akut (24 jam) menyebabkan pasokan glukosa darah menurun sehingga kebutuhan energi bergantung pada simpanan glikogen di hati dan otot melalui proses glikogenolisis. Jika ketidadaan makan dan/atau minum berlanjut hingga >24 jam (periode kronis), maka simpanan glikogen pun habis. Tubuh selanjutnya akan menggunakan simpanan energi dari jaringan adiposa dan protein struktural untuk dikonversi menjadi energi (glukoneogenesis). Glukoneogenesis meliputi lipolisis atau pemecahan lemak (trigliserida) menjadi asam lemak bebas dan gliserol yang kemudian dikonversi oleh hati menjadi badan keton (ketogenesis) dan glukosa. Badan keton



Gambar 3. Pengaruh ketiadaan makan dan/atau minum terhadap kadar glukosa darah tikus Wistar

Keterangan: MA+MI+ = Tikus diberi makan dan minum (kontrol), MA+MI- = Tikus diberi makan namun tidak diberi minum, MA-MI+ = Tikus tidak diberi makan, hanya diberi minum, MA-MI- = Tikus tidak diberi makan dan minum sama sekali, Blok kelabu = kisaran *baseline* (berdasarkan populasi dalam penelitian ini)

diedarkan ke seluruh tubuh untuk dikonversi kembali menjadi asetil-KoA di sel-sel atau jaringan yang membutuhkan energi. Selain katabolisme adiposa, katabolisme protein juga berlangsung secara bersamaan, menghasilkan glukosa dari asam amino yang tersimpan di otot (Sanvictores *et al.*, 2023). Oleh karena itu, penyediaan kembali pakan dan air minum meningkatkan kadar glukosa darah kembali normal.

Stres juga dapat meningkatkan kadar glukosa darah hingga di atas nilai normal (hiperglikemia) melalui mekanisme aksi berbagai sitokin, hepatokin, dan hormon yang memicu resistensi insulin serta meningkatkan laju glukoneogenesis (Vedantam *et al.*, 2022). Pada penelitian ini, meskipun kadar glukosa darah meningkat namun masih dipertahankan di dalam kisaran *baseline* (normoglikemia). Hal ini mengindikasikan bahwa ketiadaan makan dan/atau minum selama 4 hari tidak menyebabkan stres yang membahayakan kesehatan hewan coba.

Pengaruh ketiadaan makan dan/atau minum terhadap profil eritrosit tikus Wistar

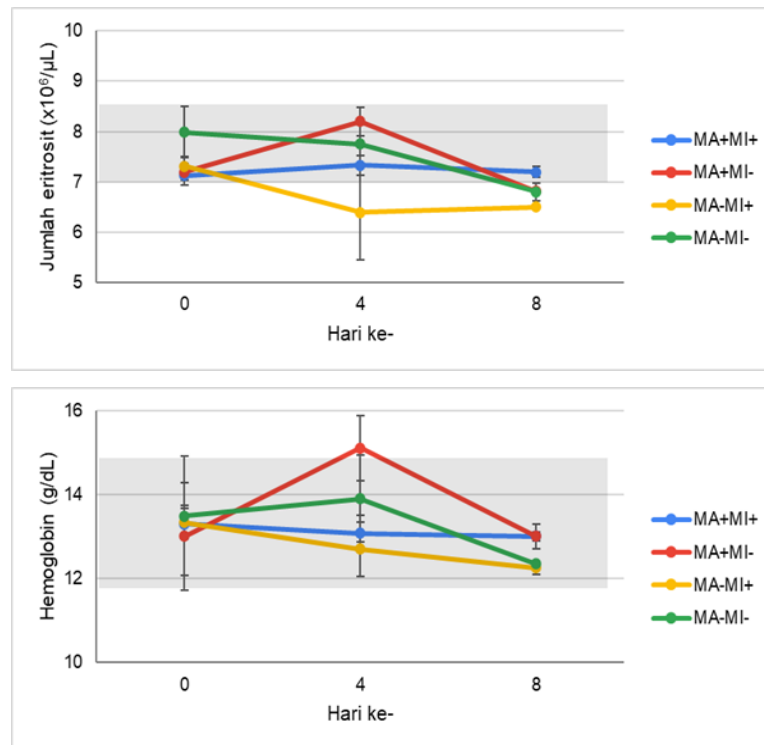
Ketiadaan makan menurunkan jumlah eritrosit dan hemoglobin secara signifikan, sebaliknya ketiadaan minum meningkatkan jumlah eritrosit dan hemoglobin secara signifikan. Sementara itu, ketiadaan makan dan minum menurunkan jumlah eritrosit dan hemoglobin namun tidak signifikan (Gambar 4). Hasil ini sesuai dengan Okediran *et al.* (2021) yang melakukan percobaan serupa menggunakan tikus jantan.

Peningkatan jumlah eritrosit dan hemoglobin selama ketiadaan air minum diawali dengan hewan yang mengalami kekurangan air (dehidrasi). Terdapat korelasi positif antara kondisi dehidrasi dan jumlah eritrosit yang disebabkan oleh penurunan cairan ekstrasel dan volume cairan darah (plasma) sehingga berdampak pada peningkatan jumlah eritrosit dan konsentrasi hemoglobin (Al-Toum &

Al-Johany, 2000). Ditambahkan oleh Okediran *et al.* (2021) bahwa peningkatan jumlah eritrosit dan hemoglobin disebabkan ketiadaan nutrien dan air yang diperlukan untuk hemopoiesis, sehingga menyebabkan dehidrasi, memicu stres, dan terjadi hemokonsentrasi. Stres memicu limpa memproduksi lebih banyak eritrosit yang kemudian dicurahkan ke dalam sirkulasi sehingga terjadi kondisi polisitemia. Polisitemia dan hemokonsentrasi menyebabkan peningkatan konsentrasi hemoglobin.

Sebaliknya, pada ketiadaan makan terjadi penurunan jumlah eritrosit dan hemoglobin yang dapat dijelaskan sebagai kondisi yang berlawanan dengan pada saat ketiadaan air minum. Hal ini sesuai dengan pernyataan Ghose *et al.* (2016) bahwa malnutrisi dan kelaparan menyebabkan anemia. Penyediaan kembali pakan dan air minum ternyata belum dapat memulihkan kondisi seperti sedia kala, bahkan jumlah eritrosit dan hemoglobin terus menurun secara signifikan yang mengindikasikan tikus mengalami anemia (Krueger *et al.*, 2020). Menurut Wojciak (2014), anemia pada tikus akibat ketiadaan makan dan minum disebabkan oleh defisiensi nutrien terutama zat besi. Oleh karena itu diperlukan diet tinggi zat besi untuk mempercepat proses pemulihan.

Pada manusia, prevalensi anemia lebih tinggi pada wanita dibandingkan pria. Hal ini berkaitan dengan kondisi hormonal: pria memiliki kadar testosteron yang lebih tinggi daripada wanita, di mana salah satu peranan testosteron adalah menstimulasi produksi eritrosit (eritropoiesis) melalui peningkatan kadar eritropoietin plasma (Warren & Grossmann, 2022). Kondisi ini kemungkinan juga terjadi pada tikus mengingat bahwa tikus memiliki fisiologis yang mirip manusia sehingga kerap dijadikan sebagai model dalam penelitian biomedik untuk merepresentasikan manusia (Fitria & Sarto, 2014). Untuk menjawab hipotesis ini, percobaan ketiadaan makan dan/atau minum pada tikus jantan perlu dilakukan.



Gambar 4. Pengaruh ketiadaan makan dan/atau minum terhadap profil eritrosit tikus Wistar

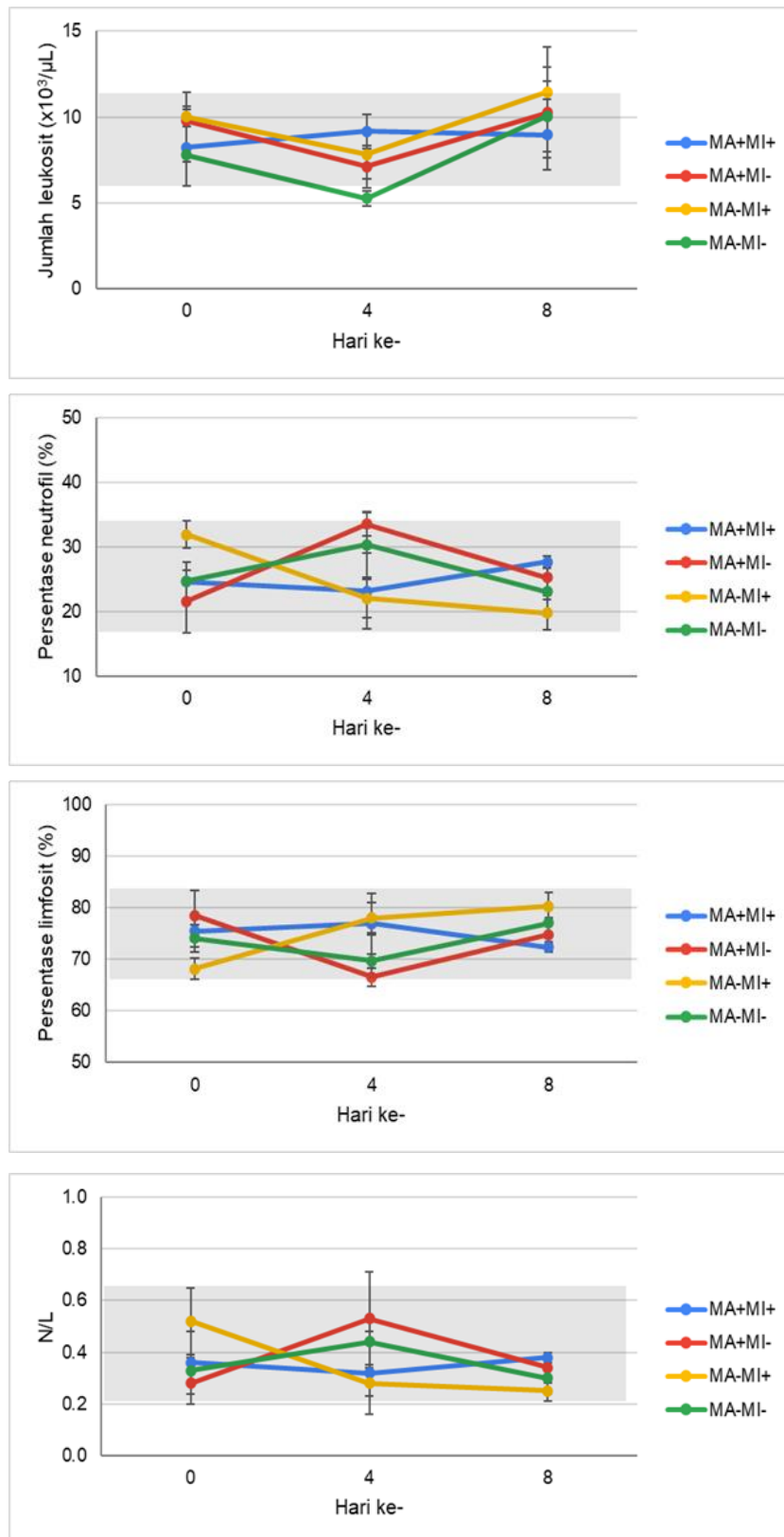
Keterangan: MA+MI+ = Tikus diberi makan dan minum (kontrol), MA+MI- = Tikus diberi makan namun tidak diberi minum, MA-MI+ = Tikus tidak diberi makan, hanya diberi minum, MA-MI- = Tikus tidak diberi makan dan minum sama sekali, Blok kelabu = kisaran *baseline* (berdasarkan populasi dalam penelitian ini)

Pengaruh ketiadaan makan dan/atau minum terhadap profil leukosit tikus Wistar

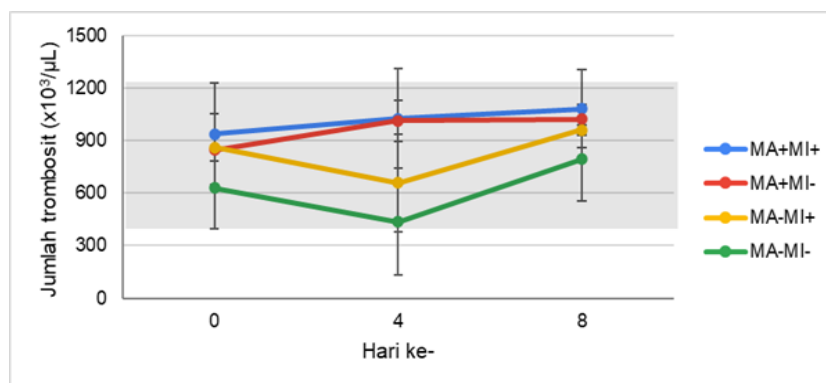
Ketiadaan makan dan/atau minum menurunkan jumlah leukosit total secara signifikan (leukopenia). Penyediaan kembali pakan dan air minum memulihkan jumlah leukosit total secara signifikan dengan nilai sedikit lebih tinggi daripada nilai awal (Gambar 5). Perhitungan leukosit diferensial pada penelitian ini hanya berfokus pada neutrofil dan limfosit dengan pertimbangan keduanya merupakan sel utama dalam respons imun sehingga perubahan proporsi atau persentasenya dapat menggambarkan respons imun yang sedang berlangsung. Neutrofil adalah sel utama dalam respons imun nonspesifik/akut, sedangkan limfosit adalah sel utama dalam respons imun spesifik/adaptif (Fitria & Sarto, 2014). Ketidadaan minum meningkatkan persentase neutrofil (neutrofilia), sebaliknya ketidadaan makan menurunkan neutrofil (neutropenia). Persentase limfosit berkebalikan dengan neutrofil, sehingga ketidadaan minum menurunkan persentase limfosit (limfopenia), sebaliknya ketidadaan makan meningkatkan persentase limfosit (limfositosis) (Gambar 5). Hasil ini sesuai dengan Di Filippo *et al.* (2021) yang melakukan percobaan serupa dengan durasi 48 jam, demikian juga sesuai dengan Umeya *et al.* (2024) yang melakukan percobaan menggunakan tikus Sprague-Dawley selama 3–7 hari.

Leukopenia mengindikasikan hewan mengalami stres kronis sebagai tanggapan terhadap perubahan fisiologis, dalam hal ini adaptasi terhadap ketidadaan makan dan/atau minum. Stres memicu sekresi epinefrin dan kortisol yang menyebabkan pelepasan neutrofil ke dalam sirkulasi darah serta mengurangi diapedesis ke jaringan, sehingga meningkatkan konsentrasi neutrofil dalam aliran darah (neutrofilia). Di sisi lain, kortisol menghambat limfopoiesis sehingga menyebabkan limfopenia. Ketidadaan makan menyebabkan neutropenia yang berarti meningkatkan kerentanan terhadap infeksi bakteri (Di Filippo *et al.*, 2021).

Selain berdasarkan kadar kortisol dan jumlah leukosit, stres kronis pada hewan laboratorium dapat dideteksi melalui perhitungan rasio neutrofil terhadap limfosit (N/L). Metode ini tidak membutuhkan biaya tinggi, tanpa peralatan khusus, namun hasilnya valid dan dapat diandalkan. Perubahan nilai N/L dibandingkan dengan kondisi awal atau kontrol mengindikasikan terjadi stres selama percobaan berlangsung (Hickman, 2017). Dalam penelitian ini terjadi peningkatan atau penurunan nilai N/L yang signifikan pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kondisi awal atau kontrol yang stabil sehingga dapat disimpulkan bahwa ketidadaan makan dan/atau minum memicu stres kronis. Namun demikian nilai N/L masih dipertahankan dalam kisaran *baseline* sehingga stres yang dialami tidak bersifat fatal atau membahayakan kesehatan (Gambar 5).



Gambar 5. Pengaruh ketiadaan makan dan/atau minum terhadap profil leukosit tikus Wistar
 Keterangan: MA+MI+ = Tikus diberi makan dan minum (kontrol), MA+MI- = Tikus diberi makan namun tidak diberi minum, MA-MI+ = Tikus tidak diberi makan, hanya diberi minum, MA-MI- = Tikus tidak diberi makan dan minum sama sekali, Blok kelabu = kisaran *baseline* (berdasarkan populasi dalam penelitian ini)



Gambar 6. Pengaruh ketiadaan makan dan/atau minum terhadap profil trombosit tikus Wistar

Keterangan: MA+MI+ = Tikus diberi makan dan minum (kontrol), MA+MI- = Tikus diberi makan namun tidak diberi minum, MA-MI+ = Tikus tidak diberi makan, hanya diberi minum, MA-MI- = Tikus tidak diberi makan dan minum sama sekali, Blok kelabu = kisaran *baseline* (berdasarkan populasi dalam penelitian ini)

Pengaruh ketiadaan makan dan/atau minum terhadap jumlah trombosit tikus Wistar

Ketiadaan makan menurunkan jumlah trombosit secara signifikan namun belum menyebabkan trombositopenia karena masih berada di dalam kisaran *baseline*, sementara itu ketiadaan minum relatif aman terhadap jumlah trombosit. Penyediaan kembali pakan dan air minum memulihkan jumlah trombosit dengan nilai sedikit lebih tinggi dibandingkan kondisi awal namun tidak signifikan (Gambar 6). Archambeau *et al.* (1968) telah melakukan percobaan serupa pada mencit, hasilnya menunjukkan ada sedikit perbedaan di mana ketiadaan makan dan/atau minum keduanya menurunkan jumlah trombosit secara signifikan. Meskipun mencit dan tikus termasuk dalam ordo yang sama (Rodentia), dan keduanya merupakan model hewan praklinik yang merepresentasikan manusia, namun ternyata memiliki beberapa perbedaan fisiologis, antara lain laju metabolisme dan profil hematologi (Arias-Reyes *et al.*, 2021). Oleh karena itu penelitian ini sebaiknya dilanjutkan pada mencit jantan dan betina untuk melengkapi informasi dan memperbarui data yang telah ada namun usang oleh Archambeau *et al.* (1968).

Ahmed *et al.* (2023) melaporkan bahwa orang sehat yang berpuasa tidak mengalami perubahan jumlah trombosit, sedangkan orang sakit yang berpuasa mengalami penurunan jumlah trombosit yang signifikan (trombositopenia). Hal ini karena selain berfungsi dalam proses hemostasis, trombosis, dan penyembuhan luka, trombosit memiliki peran penting dalam sistem kekebalan tubuh serta bertanggung jawab dalam komunikasi antar sel dan jaringan tubuh (Holinstat, 2017). Penurunan jumlah trombosit berkaitan dengan infeksi virus akibat aktivasi trombosit yang berlebihan dan komplikasi hemostatik. Jumlah trombosit yang rendah juga menunjukkan prognosis buruk pada berbagai penyakit menular (Schrottmaier *et al.*, 2022). Oleh karena tikus memiliki kemiripan fisiologis dengan manusia, maka membiarkannya dalam ketiadaan

makan dan/atau minum akan menurunkan kesehatannya. Penggunaan tikus yang tidak sehat dalam penelitian akan menghasilkan data yang tidak valid.

Meskipun beberapa hasil analisis statistik tidak menunjukkan nilai yang signifikan terhadap penurunan kondisi fisiologis tikus dengan ketiadaan makan dan/atau minum, namun gangguan fisiologis yang terjadi tetap menurunkan kualitas hidup dan menimbulkan masalah kesehatan bagi hewan. Penyediaan kembali pakan dan air minum secara *ad libitum* dapat memulihkan kondisi fisiologis dan kesehatan tikus mendekati semula. Namun demikian, sebaiknya tikus tetap diberi makan dan minum secara *ad libitum* setiap hari untuk menjaga kesehatan dan kesejahteraannya sehingga tetap layak digunakan sebagai subjek penelitian karena berdampak pada validitas data penelitian.

SIMPULAN

Ketiadaan makan dan/atau minum selama 4 hari berturut-turut menyebabkan kelaparan, dehidrasi, anemia, kerentanan terhadap infeksi, dan stres yang dapat diamati dari penurunan berat badan, suhu badan, dan kadar glukosa darah, serta perubahan parameter hematologis yang meliputi profil eritrosit, profil leukosit, dan jumlah trombosit. Penyediaan kembali makan dan minum secara *ad libitum* dapat mengembalikan kondisi fisiologis tikus mendekati semula.

DAFTAR REFERENSI

Ahmed, K., Abdu, Y., Khasawneh, S., Shukri, A., Adam, E., Mustafa, S., Affas, M., Ibrahim, M.I.M., Al Zayed, A. & Yassin, M.A. 2023. The effect of intermittent fasting on the clinical and hematological parameters of patients with sickle cell disease: A preliminary study. *Frontiers in Medicine Section Hematology*, 10. doi: 10.3389/fmed.2023.1097466.

- Al-Toum, M.O. & Al-Johany, A.M. 2000. Water deprivation and its effect on some blood constituents in Idmi Gazelle, *Gazella gazella*. *Journal of Arid Environments*, 45(3), pp. 253–262. doi: 10.1006/jare.1999.0606.
- Archambeau, J.O., Stryckmanns, P. & Brenneis, H. 1968. The effect of food and water deprivation on the peripheral blood parameters of the mouse. *Radiation Research*, 36(3), pp. 396–409. doi:10.2307/3572576.
- Arias-Reyes, C., Soliz, J. & Joseph, V. 2021. Mice and rats display different ventilatory, hematological, and metabolic features of acclimatization to hypoxia. *Frontiers in Physiology*, 12: 647822. doi: 10.3389/fphys.2021.647822.
- Armstrong, L.E. & Johnson, E.C. 2018. Water intake, water balance, and the elusive daily water requirement. *Nutrients*, 10(12): 1928. doi: 10.3390/nu10121928.
- Barkus, C., Bergmann, C., Branco, T., Carandini, M., Chadderton, P.T., Galinanes, G.L., Gilmour, G., Huber, D., Huxter, J.R., Khan, A.G., King, A.J., Maravall, M., O'Mahony, T., Ragan, C.I., Robinson, E.S.J., Schaefer, A.T., Schultz, S.R., Sengpiel, F. & Prescott, M.J. 2022. Refinements to rodent head fixation and fluid/food control for neuroscience. *Journal of Neuroscience Methods*, 381: 109705. doi: 10.1016/j.jneumeth.2022.109705.
- Blonde, G.D., Price, R.K., le Roux, C.W. & Spector, A.C. 2021. Meal patterns and food choices of female rats fed a cafeteria-style diet are altered by gastric bypass surgery. *Nutrients*, 13(11): 3856. doi: 10.3390/nu13113856.
- Bocalini, D.S., Luiz, R.D.A, Silva, K.A.S., Serra, A.J., Avila, R.A., Leopoldo, A.S., Lima-Leopoldo, A.P., da Cunha, M.R.H., Tucci, P.J.F. & dos Santos, L. 2020. Short-term cigarette smoking in rats impairs physical capacity and induces cardiac remodelling. *Biomed Research International*, 2020: 2589892. doi: 10.1155/2020/2589892.
- Cabalar, I., Le, T.H., Silber, A., O'Hara, M., Abdallah, B., Parikh, M. & Busch, R. (2024). The role of blood testing in prevention, diagnosis, and management of chronic diseases: A review. *The American Journal of the Medical Sciences*, 368(4): pp. 274–286. doi: 10.1016/j.amjms.2024.04.009.
- Cornelison, T.L. & Clayton, J.A. 2017. Article commentary: Considering sex as a biological variable in biomedical research. *Gender and the Genome*, 1(2): pp. 89–93. doi:10.1089/gg.2017.0006.
- Dietze, S., Lees, K.R., Fink, H., Brosda, J. & Voigt, J.P. 2016. Food deprivation, body Weight loss and anxiety-related behavior in rats. *Animals (Basel)*, 6(1): 4. doi: 10.3390/ani6010004.
- Fitria, L. & Sarto, M. 2014. Profil hematologi tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) galur Wistar jantan dan betina umur 4, 6, dan 8 minggu. *Biogenesis*, 2(2), pp. 94–100. doi: 10.24252/bio.v2i2.473.
- Fitria, L., Gunawan, I.C.P.G., Sanjaya, W.B.T. & Meidianing, M.I. 2022. Single-dose acute oral toxicity study of chloroform extract of Snake Plant (*Sansevieria trifasciata* Prain.) leaf in Wistar Rats (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769). *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 7(1): jtbb69389 doi: 10.22146/jtbb.69389.
- Ghose, B., Tang, S., Yaya, S. & Feng, Z. 2016. Association between food insecurity and anemia among women of reproductive age. *PeerJ Life & Environment*, 4, e1945. doi: 10.7717/peerj.1945.
- Hickman, D.L. 2017. Evaluation of the neutrophil:lymphocyte ratio as an indicator of chronic distress in the laboratory mouse. *Laboratory Animal (NY)*, 46(7), pp. 303–307. doi: 10.1038/labam.1298.
- Holinstat, M. 2017. Normal platelet function. *Cancer and Metastasis Reviews*, 36(2), pp. 195–198. doi: 10.1007/s10555-017-9677-x.
- Jimenez, J.C., Miranda-Barrientos, J., Becerra-Diaz, M. & Miranda, F. 2021. Acute food deprivation decreases the expression of methamphetamine-induced locomotor sensitization in rats. *bioRxiv*, 2021.04.20.440661. doi: 10.1101/2021.04.20.440661.
- Kim, H.Y. 2015. Statistical notes for clinical researchers: A one-way repeated measures ANOVA for data with repeated observations. *Restorative Dentistry & Endodontics*, 40(1), pp. 91–95. doi: 10.5395/rde.2015.40.1.91.
- Krueger, C., Schrer, K. & Schmidt, M. 2020. Food and water deprivation in laboratory animals. Specialist information from the Committee for Animal Welfare Officers (GV-SOLAS). pp 1–29. [Online] Tersedia pada: https://www.gv-solas.de/wp-content/uploads/2018/04/2020_11Food-water-deprivation.pdf [Diakses 3 Juli 2024].
- Marx, J.O., Jacobsen, K.O., Petervary, N.A. & Casebolt, D.B. 2021. A survey of laboratory animal veterinarians regarding mouse welfare in biomedical research. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*,

- 60(2), pp. 139–145. doi: 10.30802/AALAS-JAALAS-20-000063.
- Muhamed, A.M.C., Yusof, H.A., Stannard, S.R., Muendel, T. & Thompson, M.W. 2019. The efficacy of ingesting water on thermoregulatory responses and running performance in a warm-humid condition. *Frontiers in Physiology*, 10. doi: 10.3389/fphys.2019.00507.
- Namazi, F., Omidi, A., Abbasi, S., Afsar, M., Honarmand, M. & Nazifi, S. 2016. Starvation and refeeding in rats: effect on some parameters of energy metabolism and electrolytes and changes of hepatic tissue. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 36(Supl.1), pp. 1011–1015. doi: 10.1590/S0100-736X2016001300015.
- Okediran, B.S., Amid, S.A., Sanusi, F. & Oladesu, K.O. 2021. Haematological and biochemical changes associated with male rats deprived of feed and water. *Ceylon Journal of Science*, 50(1), pp. 11–16. doi: 10.4038/cjs.v50i1.7842.
- Pal, G., Mishra, H.P., Suvvari, T.K., Tanwar, A., Ghosh, T., Verma, P., Pal, A., Patial, K., Mahapatra, C., Amanullah, N.A., Shukoor, S.A., Kamal, S. & Rohil, V. 2023. Oxidative stress in Wistar rats under acute restraint stress and its modulation by antioxidants and nitric oxide modulators. *Cureus*, 15(8): e43333. doi: 10.7759/cureus.43333.
- Sanvictores, T., Casale, J. & Huecker, M.R. 2023. Physiology, Fasting. In: StatPearls [Online] Tersedia pada: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534877/> [Diakses 4 Juli 2024].
- Schrottmaier, W.C., Schmuckenschlager, A., Pirabe, A. & Assinger, A. 2022. Platelets in Viral Infections – Brave Soldiers or Trojan Horses. *Frontiers in Immunology Section Microbial Immunology*, 13. doi: 10.3389/fimmu.2022.856713.
- Smith, A. 2021. Fasting in rodents. Norecopa. [Online] Tersedia pada: <https://norecopa.no/3r-guide/fasting-in-rodents> [Diakses 2 Juli 2024].
- Talbot, S.R., Biernot, S., Bleich, A., van Dijk, R.M., Ernst, L., Hager, C., Helgers, S.O.A., Koegel, B., Koska, I., Kuhla, A., Miljanovic, N., Muller-Graff, F.T., Schwabe, K., Tolba, R., Vollmar, B., Weegh, N., Wolk, T., Wolf, F., Wree, A., Ziglowski, L., Potschka, H. & Zechner, D. 2020. Defining body-weight reduction as a humane endpoint: A critical appraisal. *Laboratory Animals*, 54(1), pp. 99–110. doi:10.1177/0023677219883319.
- Triningtyas, A.Y., Ayukarningsih, Y. & Ramdan, D.S. 2024. Routine hematology and blood sugar profile in premature infants with low birth weight at Dustira hospital in 2021. *Jurnal EduHealth*, 15(1), pp. 563–571. doi: 10.54209/jurnaleduhealth.v15i01.
- Umeya, N., Okada, K., Nishimura, N., Matsumoto, I., Usui, T. & Miyawaki, I. 2024. Effect of food restriction for 3 Or 7 days on toxicity-related parameters in rats. *Fundamental Toxicological Sciences*, 11(2), pp. 57–67. doi: 10.2131/fts.11.57.
- Vasilev, D., Havel, D., Liebscher, S., Slesiona-Kuenzel, S., Logothetis, N.K., Schenke-Layland, K. & Totah, N.K. 2021. Three water restriction schedules used in rodent behavioral tasks transiently impair growth and differentially evoke a stress hormone response without causing dehydration. *eNeuro*, 8(6), pp. 0424-21. doi: 10.1523/ENEURO.0424-21.2021.
- Vedantam, D., Poman, D.S., Motwani, L., Asif, N., Patel, A. & Anne, K.K. 2022. Stress-induced hyperglycemia: Consequences and management. *Cureus*, 14(7), e26714. doi: 10.7759/cureus.26714.
- Wang, S. & Qin, L. 2022. Homeostatic medicine: a strategy for exploring health and disease. *Current Medicine (Cham, Switzerland)*. 1(1): 16. doi: 10.1007/s44194-022-00016-9.
- Warren, A.M. & Grossmann, M. 2022. Haematological actions of androgens. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 36(5), 101653. doi: 10.1016/j.beem.2022.101653.
- Wojciak, R.W. 2014. Alterations of selected iron management parameters and activity in food-restricted female Wistar rats (animal anorexia models). *Eating and Weight Disorders*, 19, pp. 61–68. doi: 10.1007/s40519-013-0078-z.
- Yoda, T., Crawshaw, L.I., Yoshida, K., Su, L., Hosono, T., Shido, O., Sakurada, S., Fukuda, Y. & Kanosue, K. 2000. Effects of food deprivation on daily changes in body temperature and behavioral thermoregulation in rats. *Regulatory and Integrative Physiology*, 278(1), pp. 134–139. doi: 10.1152/ajpregu.2000.278.1.R134.
- Zahra, J.U., Ratnaningtyas, N.I. & Hernayanti, H. 2023. Potensi ekstrak etanol *Coprinus comatus* terhadap kadar SGOT dan SGPT pada tikus putih model diabetes. *BioEksakta: Jurnal Ilmiah Biologi Unsoed*, 5(1), pp. 7–17. doi: 10.20884/1.bioe.2023.5.1.4739.