

**UJI EFEK ASPIRIN TERHADAP EKSPRESI GEN *cat*
DAN *atg8a* PADA *Drosophila melanogaster***

**EFFECT OF ASPIRIN ON THE EXPRESSION OF *cat*
AND *atg8a* GENES IN *Drosophila melanogaster***

RESKI AMELIA KAMRI

N011 17 1030



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

**UJI EFEK ASPIRIN TERHADAP EKSPRESI GEN *cat* DAN *atg8a* PADA
*Drosophila melanogaster***

**EFFECT OF ASPIRIN ON THE EXPRESSION OF *cat* AND *atg8a* GENES
IN *Drosophila melanogaster***

SKRIPSI

untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana

RESKI AMELIA KAMRI

N011 17 1030

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2021

UJI EFEK ASPIRIN TERHADAP EKSPRESI GEN *cat* DAN *atg8a* PADA
Drosophila melanogaster

RESKI AMELIA KAMRI

N011 17 1030

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama



Firzan Nainu, S.Si., M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt.

NIP. 19820610 200801 1 012

Pembimbing Pendamping



Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt.

NIP. 19560114 198601 2 001

Pada tanggal 11 05 2021

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

UJI EFEK ASPIRIN TERHADAP EKSPRESI GEN *cat* DAN *atg8a* PADA *Drosophila melanogaster*

Disusun dan diajukan oleh :

RESKI AMELIA KAMRI
N011 17 1030

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
pada tanggal 11. 05 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

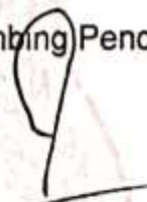
Menyetujui,

Pembimbing Utama



Firzan Nainu, S.Si., M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 19820610 200801 1 012

Pembimbing Pendamping



Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt.
NIP. 19560114 198601 2 001

Plt. Ketua Program Studi S1 Farmasi,
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin



Prof. Dr. rer.nat. Marianti A. Manggau, Apt.
NIP. 19670319 199203 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini benar-benar adalah hasil karya saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh batal demi hukum.

Makassar, 11 05 2021



Yang Menyatakan

Reski Amelia Kamri
N011171030

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, tidak ada kata yang lebih patut diucapkan oleh seorang hamba yang beriman selain ucapan puji syukur ke hadirat Allah Subhanahu Wa Ta'ala, Tuhan Yang Maha Mengetahui, pemilik segala ilmu, karena atas petunjuk-Nya maka skripsi ini dapat diselesaikan.

Sungguh banyak kendala yang penulis hadapi dalam rangka penyusunan skripsi ini, namun berkat dukungan dan bantuan berbagai pihak, akhirnya penulis dapat melewati kendala-kendala tersebut. Oleh karena itu, penulis dengan tulus menghaturkan banyak terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada:

1. Bapak Firzan Nainu, S.Si., M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt. selaku pembimbing utama yang telah bersedia memberikan bimbingan, ilmu, arahan, dukungan serta bersedia meluangkan waktunya dalam penyusunan skripsi ini.
2. Ibu Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt. selaku pembimbing kedua yang telah bersedia memberikan bimbingan, ilmu, arahan, dukungan, serta bersedia meluangkan waktunya dalam penyusunan skripsi ini.
3. Bapak Aminullah, S.Si., M.Pharm.Sc., Apt. dan Ibu Prof. Dr. Sartini., M.Si., Apt. selaku tim penguji yang telah bersedia meluangkan waktunya serta memberikan saran dan masukan dalam penyusunan skripsi ini.

4. Dekan dan para Wakil Dekan, seluruh staf dosen serta staf akademik Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas segala ilmu, bantuan, serta fasilitas yang diberikan selama penulis menempuh studi, melakukan penelitian hingga menyelesaikan skripsi ini.
5. Ibu Prof. Dr. Sartini., M.Si., Apt. selaku Dosen Penasehat Akademik atas segala arahan, saran dan nasehat yang telah diberikan kepada penulis selama berkuliah.
6. Keluarga besar K.A.L. Biofarmaks FF-UH (Dosen, Laboran, dan seluruh asisten) atas segala ilmu serta pengalaman berharga yang penulis dapatkan selama menjadi bagian di dalamnya.
7. UFRG (Unhas *Fly Research Group*) atas segala ilmu dan bantuan yang diberikan selama penulis melakukan penelitian.
8. Sahabat penulis, Rahmah, Latifah, dan Yuyun yang selalu memberikan masukan dan semangat kepada penulis.
9. Teman-teman *Go Ahead* Ana, Lia, Fafa, Amina, dan Novi yang selalu memberikan semangat kepada penulis dalam perkuliahan dan penyelesaian skripsi ini.
10. Keluarga Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin (KEMAFAR-UH), terkhusus teman-teman angkatan 2017 (CLOSTRIDIUM) atas segala dukungan, dan pengalaman berharga yang penulis dapatkan selama menjadi bagian di dalamnya.

Akhirnya, semua ini tiada artinya tanpa dukungan moril dari kedua orang tua tercinta Ayahanda Akhmad Kamri dan Ibunda Bau Anti, dan

saudara penulis Restu Anugrah, serta seluruh keluarga, atas segala dukungan, doa, serta semangat yang diberikan selama penulis menempuh studi.

Penulis menyadari skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Sehingga, segala saran dan masukan akan sangat berharga bagi penulis. Semoga karya ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan. Aamiin.

Makassar, 11 05 2021



Reski Amelia Kamri

ABSTRAK

RESKI AMELIA KAMRI. Uji Efek Aspirin Terhadap Ekspresi Gen *cat* dan *atg8a* pada *Drosophila melanogaster* (dibimbing oleh Firzan Nainu dan Elly Wahyudin).

Aspirin telah diketahui dapat meningkatkan masa hidup *Drosophila melanogaster*. Peningkatan masa hidup dapat dipengaruhi oleh aktivitas intrinsik sel seperti status antioksidan endogen dan autofagi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek aspirin terhadap ekspresi gen *cat* dan *atg8a* pada *D. melanogaster*. Dalam penelitian ini digunakan 5 kelompok uji, diantaranya kontrol sehat, kontrol pelarut, dan kelompok yang diberikan aspirin pada konsentrasi 5 μM , 50 μM dan 500 μM . Pegujian yang dilakukan meliputi analisis ekspresi gen *cat* dan *atg8a* dengan metode RT-qPCR dan pengujian fenotip lokomotor. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aspirin pada konsentrasi 500 μM dapat meningkatkan ekspresi gen *cat* namun aspirin pada berbagai varian konsentrasi tidak memberikan pengaruh terhadap ekspresi gen *atg8a*. Pada pengujian fenotip diperoleh hasil bahwa aspirin tidak mempengaruhi lokomotor *D. melanogaster* setelah 30 hari perlakuan. Berdasarkan hasil penelitian di atas, dapat disimpulkan bahwa pemberian aspirin pada konsentrasi tinggi dapat meningkatkan ekspresi gen *cat* namun tidak memberikan pengaruh apapun terhadap ekspresi gen *atg8a* pada *D. melanogaster*.

Kata Kunci: Aspirin, Penuaan, *Drosophila melanogaster*, *cat*, *atg8a*.

ABSTRACT

RESKI AMELIA KAMRI. Effect of Aspirin on The Expression of *cat* and *atg8a* Genes in *Drosophila melanogaster* (supervised by Firzan Nainu and Elly Wahyudin).

Aspirin has been shown to extend the life span of *Drosophila melanogaster*. Lifespan extension is influence by intrinsic cell activities such as endogenous antioxidant status and autophagy. The aim of this experiment was to examine the effect of aspirin on *cat* and *atg8a* gene expression in *D. melanogaster*. In this study, five test groups were used, healthy control, solvent control, and groups that were given aspirin at concentrations of 5 μ M, 50 μ M and 500 μ M. The experiments were carried out to analyse *cat* and *atg8a* gene expression using the RT-qPCR method and locomotor phenotype testing. The results showed that aspirin at a concentration of 500 μ M could increase the expression of the *cat* gene but aspirin at various concentrations had no effect on the expression of the *atg8a* gene. In phenotypical assay it was found that aspirin does not affect the locomotor *D. melanogaster* after 30 days of treatment. In conclusion, aspirin at high concentrations can increase the expression of the *cat* gene but it did not have any effect on the expression of the *atg8a* gene in *D. melanogaster*.

Keywords: Aspirin, Aging, *Drosophila melanogaster*, *cat*, *atg8a*.

DAFTAR ISI

	halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	3
I.3 Tujuan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Penuaan (<i>Aging</i>)	4
II.1.1 Pengertian	4
II.1.2 Ciri Penuaan	4
II.1.3 Mekanisme Penuaan	5
II.1.3.1 Mekanisme Dasar Penuaan	5
II.1.3.2 Mekanisme Penuaan Secara Molekuler	7
II.2 Aspirin	9
II.2.1 Indikasi	9

II.2.2 Mekanisme Kerja	9
II.2.3 Farmakokinetik	10
II.2.4 Efek Pada Masa Hidup	11
II.3 <i>Drosophila melanogaster</i>	11
II.3.1 Klasifikasi	11
II.3.2 Deskripsi	11
II.3.3 Siklus Hidup	12
II.3.4 <i>Drosophila melanogaster</i> Dalam Penelitian Penuaan	13
II.4 Gen	14
II.4.1 <i>cat</i>	14
II.4.2 <i>atg8a</i>	16
II.4.3 Data Ekspresi Gen Pada <i>Drosophila melanogaster</i>	18
BAB III. METODE PENELITIAN	19
III.1 Alat dan Bahan	19
III.2 Cara Kerja	19
III.2.1 Penyiapan Hewan Uji	19
III.2.2 Penyiapan Sampel	20
III.2.3 Penyiapan Pakan	20
III.2.4 Penyiapan Pakan + Sampel	20
III.2.5 Penyiapan Sampel RNA	21
III.2.6 Pengujian Dengan PCR	22
III.2.7 Uji Lokomotor	23
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	25

IV.1 Hasil Pengujian Ekspresi Gen	25
IV.1.1 Uji Ekspresi Gen <i>cat</i>	25
IV.1.2 Uji Ekspresi Gen <i>atg8a</i>	26
IV.2 Hasil Pengujian Lokomotor	28
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	31
V.1 Kesimpulan	31
V.2 Saran	31
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN	35

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Sekuens primer gen	23
2. Data lokomotor sebelum perlakuan	40
3. Data lokomotor hari ke-30	40
4. Uji statistik data lokomotor sebelum perlakuan	41
5. Uji statistik data lokomotor hari ke-30	41
6. Perbandingan lokomotor sebelum perlakuan dan hari ke-30	41
7. Data PCR gen <i>cat</i>	42
8. Data PCR gen <i>atg8a</i>	42

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Mekanisme penuaan	6
2. Struktur aspirin	9
3. Tahapan siklus hidup <i>Drosophila melanogaster</i>	13
4. Mekanisme katalase	15
5. <i>Signaling pathway</i> terkait dengan pengaturan umur	15
6. Peran <i>Atg8</i> dalam proses autofagi	17
7. Data ekspresi gen <i>cat</i>	18
8. Data ekspresi gen <i>atg8a</i>	18
9. Grafik ekspresi gen <i>cat</i>	25
10. Grafik ekspresi gen <i>atg8a</i>	27
11. Grafik uji lokomotor pra-perlakuan	28
12. Grafik uji lokomotor hari ke-30 perlakuan	29
13. Grafik uji lokomotor lalat pra-perlakuan dan hari ke-30 perlakuan	30
14. Pembuatan pakan	43
15. Pemisahan lalat jantan dan betina	43
16. Uji Lokomotor	43
17. Sampel isolasi RNA	43
18. Isolasi RNA	43
19. Running PCR	43

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema kerja	35
2. Perhitungan pengenceran aspirin	38
3. Tabel hasil lokomotor	40
4. Tabel olah data lokomotor	41
5. Tabel olah statistic data uji genotip	42
6. Gambar penelitian	43

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Aspirin merupakan salah satu prototipe AINS yang secara resmi disetujui oleh *Food and Drug Administration* (FDA) pada tahun 1939. Aspirin merupakan turunan asam salisilat yang paling umum digunakan sebagai agen anti-inflamasi serta anti-agregasi platelet (Clark *et al*, 2012). Untuk memberikan efek anti-inflamasi, aspirin bekerja dengan menghambat COX-1 dan COX-2 yang menyebabkan berkurangnya sintesis prostaglandin (Adams & Koch, 2010). Selain itu, AINS memiliki aktivitas antioksidan melalui aktivitas anti-radikal dan penstabilan membran yang dimediasi oleh pembersihan radikal bebas dan aktivitas enzim antioksidan (Danilov *et al.*, 2015). Aspirin juga telah dilaporkan dapat menekan gejala penuaan dengan mengganggu produksi oksidan dan proses respons sitokin dengan memblokir reaksi glikoloksidasi (Keser & Karata, 2012).

Penuaan (*aging*) merupakan proses biologis normal yang terjadi pada makhluk hidup. Proses penuaan ditandai dengan hilangnya fungsi fisiologis sel atau organ, kegagalan aktivitas fisik dan adanya akumulasi progresif komponen seluler yang rusak dan cacat (Pan *et al.*, 2012). Kerusakan dalam sel dan jaringan yang terjadi seiring bertambahnya usia dapat menyebabkan peningkatan resiko terjadinya penyakit dan kematian (Tosato *et al.*, 2007). Penelitian terkait penuaan telah berkembang pesat dengan menggunakan

beberapa organisme model, utamanya untuk mengidentifikasi pengaruh gen-gen tertentu dalam memperpanjang masa hidup (Pan *et al.*, 2012). Salah satunya adalah lalat buah *Drosophila melanogaster* (Nainu, 2018). Secara genetika, lebih dari 50% gen *D. melanogaster* memiliki kemiripan struktur dan fungsi (homolog) dengan gen serupa yang terdapat pada manusia (Sun *et al.*, 2013). Organisme model ini telah banyak digunakan dalam mempelajari berbagai hal terkait fisiologi seluler, perkembangan tubuh, mekanisme kematian sel, hingga aging (Nainu, 2018).

Berdasarkan penelitian (Rahmah, 2021) diperoleh bahwa pemberian aspirin dapat meningkatkan masa hidup dari *D. melanogaster*, sehingga penelitian dilanjutkan dengan melihat beberapa *signaling pathway* dan ekspresi gen-gen terkait *aging*. Beberapa gen telah disinyalir memiliki pengaruh penting dalam mengontrol laju penuaan. Dua diantaranya adalah gen *cat* (Paaby & Schmidt, 2009) dan gen *atg8a* (Maruzs *et al.*, 2019). Katalase (yang dikode oleh gen *cat*) merupakan salah satu enzim antioksidan yang berperan penting dalam mengurangi stress oksidatif yang disebabkan oleh hydrogen peroksida (H_2O_2) dengan mengubah H_2O_2 menjadi molekul air dan oksigen (Coling *et al.*, 2009). Ketika ditargetkan ke mitokondria, ekspresi berlebih dari *catalase* dapat menurunkan pelepasan H_2O_2 sebesar 90% di jalur transgenik. Penelitian dengan menggunakan hewan coba tikus menunjukkan bahwa peningkatan ekspresi katalase dalam jaringan paru tikus dapat menghasilkan perlindungan dari hipoksia (Klichko *et al.*, 2004). Pada penelitian lain dengan hewan coba *D. melanogaster*

dibuktikan bahwa kelebihan ekspresi dari gen *cat* dapat memperpanjang masa hidup *D. melanogaster* (Paaby & Schmidt, 2009).

atg8a merupakan *family* dari protein *Atg8* yang berperan dalam proses autofagi (Maruzs *et al.*, 2019). Autofagi memiliki peran penting dalam menentukan rentang hidup banyak organisme model. Pengurangan autofagi dapat mengakibatkan terjadinya penuaan yang dipercepat, sedangkan stimulasi autofagi dapat memiliki efek anti-penuaan yang kuat (Rubinsztein *et al.*, 2011). Peningkatan ekspresi *atg8a* dilaporkan dapat memperpanjang masa hidup melalui peningkatan autofagi (Maruzs *et al.*, 2019).

Berdasarkan pada publikasi sebelumnya terkait efek anti-*aging* aspirin serta peran gen *cat* dan *atg8a* dalam proses penuaan (*aging*), maka penelitian terkait efek aspirin terhadap ekspresi gen *cat* dan *atg8a* menggunakan hewan coba *D. melanogaster* perlu kiranya untuk dilakukan. Hasil yang diperoleh dalam penelitian akan memberikan gambaran dasar mengenai partisipasi kedua gen tersebut terkait mekanisme kerja aspirin dalam menekan penuaan.

I.2 Rumusan Masalah

Bagaimana efek aspirin terhadap ekspresi gen *cat* dan *atg8a* pada hewan coba *Drosophila melanogaster* ?

I.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui efek aspirin terhadap ekspresi gen *cat* dan *atg8a* pada hewan coba *Drosophila melanogaster*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Penuaan (*Aging*)

II.1.1 Pengertian

Menurut (*World Health Organization*, 2015) penuaan merupakan akumulasi bertahap dari berbagai kerusakan molekuler dan sel yang terjadi seiring waktu dan dapat menyebabkan penurunan cadangan fisiologis secara bertahap, peningkatan resiko terkena penyakit, serta penurunan kapasitas individu hingga kematian.

Hilangnya fungsi tubuh terkait dengan penuaan dapat ditandai dengan beberapa penurunan fisiologis, diantaranya perubahan pada metabolisme (penurunan laju metabolisme), perilaku (pengurangan makan), penurunan ketahanan terhadap stress, penurunan kapasitas reproduksi, perubahan fungsi saraf (gangguan pembelajaran dan memori), perubahan aktivitas fisik (gangguan lokomotor), berkurangnya kapasitas kekebalan, dan terjadinta gangguan fungsi jantung (Piper & Partridge, 2018).

II.1.2 Ciri Penuaan

Menurut (Maruzs *et al.*, 2019) karakteristik proses penuaan dapat dikelompokkan dalam tiga kategori hirarki, diantaranya :

1. Ciri utama

Ciri utama memiliki efek negatif pada fungsi sel normal dan dianggap sebagai penyebab utama dari kerusakan sel. Yang termasuk dalam ciri utama yaitu ketidakstabilan genom, erosi telomere,

perubahan epigenetic, disfungsi mitokondria, dan hilangnya proteostasis.

2. Ciri antagonis

Ciri ini timbul akibat dari kerusakan yang terakumulasi melalui proses kompensasi pada ciri utama. Ciri antagonis penuaan yaitu penginderaan nutrisi yang berubah dan penuaan seluler. Pada awalnya mekanisme ini, akan mengurangi terjadinya kerusakan, namun setelah mencapai tingkat kronis mekanisme ini kemudian akan merusak mekanisme target dan menyebabkan terjadinya kerusakan oleh sel itu sendiri.

3. Ciri negatif

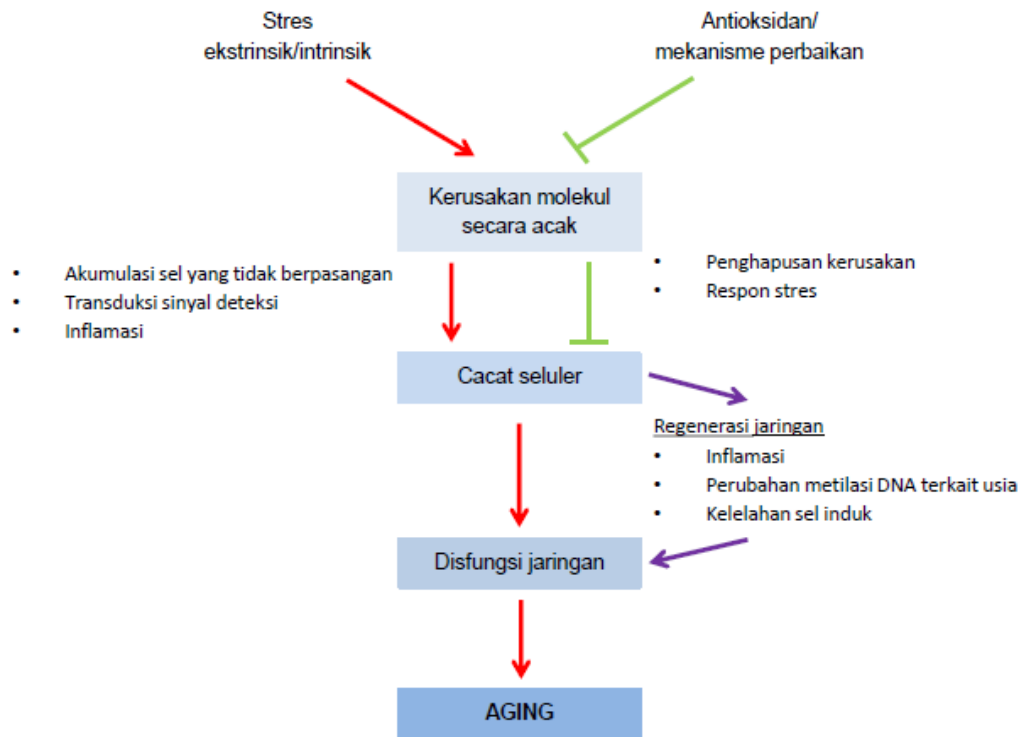
Ketika kerusakan diakumulasikan secara progresif oleh ciri utama dan ciri antagonis, hal tersebut akan membebani kapasitas kompensasi homeostasis seluler dan bermanifestasi pada ciri negatif penuaan yaitu kelelahan sel induk dan perubahan komunikasi antar sel yang akan bertanggung jawab atas penurunan fungsional selama penuaan.

II.1.3 Mekanisme Penuaan

II.1.3.1 Mekanisme dasar penuaan

Auley (2017) menyatakan bahwa, menurut Kirikwood (2005) penyebab utama dari proses penuaan adalah adanya akumulasi kerusakan molekuler acak yang tidak diperbaiki dari waktu ke waktu. Hal tersebut menyebabkan terjadinya cacat seluler dan disfungsi jaringan yang mengakibatkan

kelemahan dan penyakit terkait dengan usia. Mekanisme dari proses penuaan, ditunjukkan pada gambar 1.



Gambar 1. Mekanisme penuaan (McAuley et al., 2017)

Kerusakan molekul secara acak terjadi akibat stress bergantung pada kapasitas sistem antioksidan dan efisiensi dari sistem perbaikan dalam tubuh. Karena sistem ini tidak 100% efisien, hal tersebut menyebabkan sel selalu mengalami kerusakan yang belum diperbaiki dan mengarah pada aktivasi respon stress dan peningkatan regulasi mekanisme untuk menghilangkan kerusakan atau mencegah terjadinya pembelahan sel (McAuley et al., 2017).

Namun, seiring bertambahnya usia, respon terhadap stress menjadi kurang efisien. Sehingga komponen sel yang rusak akan menumpuk dan

dapat mengakibatkan terjadinya cacat seluler. Hal ini kemudian menimbulkan disfungsi jaringan dan penuaan (McAuley *et al.*, 2017).

II.1.3.2 Mekanisme penuaan secara molekuler

Secara molekuler mekanisme penuaan dapat dikategorikan menjadi beberapa model, diantaranya (McAuley *et al.*, 2017):

1. Kerusakan dan perbaikan DNA

Kerusakan DNA dapat disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya kesalahan replikasi, stress intrinsik akibat ROS dan stres intrinsik seperti sinar UV dan cahaya. Sebagian besar kerusakan DNA dapat dideteksi dan diperbaiki melalui DNA *Damage Response* (DDR) yang melibatkan pensinyalan ATM dan p53. Namun, kerusakan yang lebih kompleks tidak dapat diperbaiki dan menyebabkan terjadinya akumulasi sehingga terjadi apoptosis, penuaan seluler hingga kanker.

2. Pemendekan telomer

Telomer merupakan urutan DNA berulang yang berfungsi untuk melindungi ujung kromosom linier. Pada sel somatik manusia, telomer memendek pada setiap pembelahan sel. Telomer yang pendek akan memicu terjadinya penuaan replikatif. Beberapa pendekatan terkait mekanisme pemendekan telomer dengan penuaan telah dilaporkan diantaranya karena adanya pemendekan telomer bersama dengan terjadinya kerusakan mitokondria, dan individu dengan telomer pendek memiliki resiko aterosklerosis yang lebih tinggi. Laju pemendekan

telomere dapat dipengaruhi oleh adanya stres oksidatif dan spesies radikal bebas.

3. Kehilangan protein homeostasis

Protein homeostasis sangat penting untuk fungsi seluler karena berperan dalam sintesis protein, pelipatan dan pelapisan tulang. Kerusakan protein dapat terjadi karena adanya peningkatan protein teroksidasi seiring bertambahnya usia di otak. Hal ini akan menyebabkan kerusakan oksidatif terhadap protein. Kerusakan yang terjadi dapat berupa kerusakan kovalen (tidak dapat diubah) dan kerusakan konformasi (dapat diperbaiki dengan pengikat molekuler).

4. Jalur degradasi protein

Terdapat dua jalur utama degradasi protein, yaitu sistem autofagi dan sistem proteasome. Kedua sistem ini dapat menyebabkan hilangnya protein yang rusak oleh 20s proteasom atau ubiquitin/proteasome system (UPS). Namun, efisiensi UPS akan menurun seiring dengan bertambahnya usia yang menyebabkan terjadinya penumpukan protein yang rusak terutama pada sel pasca-mitosis.

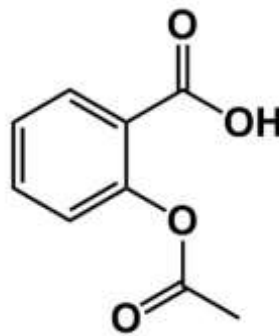
5. Kerusakan mitokondria dan ROS

Mekanisme hubungan antara peningkatan kadar ROS dan mitokondria disfungsional dengan usia dan penyakit terkait usia telah banyak dilaporkan. Salah satunya yaitu, mekanisme hubungan antara disfungsional penanganan kalsium dan peningkatan produksi ROS oleh

mitokondria karena adanya peningkatan kadar natrium sitosol yang terlihat pada kardiomiosit tua.

II.2 Aspirin

II.2.1 Indikasi



Gambar 2. Struktur aspirin (Ornelas, *et al.*, 2017)

Aspirin (asam asetilsalisilat) merupakan obat golongan Anti Inflamasi Non Steroid (AINS) yang dapat digunakan untuk mengurangi agregasi trombosit (dosis rendah : <300 mg/hari), antipiretik dan alagesik (dosis menengah : 300-2400 mg/hari), serta sebagai terapi anti-inflamsi (dosis tinggi : 2400-4000 mg/hari) yang berdasarkan pada dosis aspirin yang digunakan (Katzung, *et al.*, 2019).

II.2.2 Mekanisme kerja

Siklooksigenase (COX) merupakan enzim yang berperan mengubah asam arakidonat menjadi prekursor endoperoksida prostaglandin (mediator inflamasi). Siklooksigenase memiliki 2 isoform yaitu COX-1 dan COX-2. COX-1 diekspresikan dalam sel non-inflamasi, dan COX diekspresikan dalam limfosit aktif, sel polimorfonuklear, dan sel inflamasi lainnya (Katzung, *et al.*, 2019).

Aspirin bekerja dengan cara menghambat kedua isoform siklooksigenase sehingga menurunkan sintesis prostaglandin dan tromboksan di seluruh tubuh. Perbedaan mekanisme kerja aspirin dengan obat golongan AINS yang lainnya yaitu aspirin bekerja dengan menghambat siklooksigenase secara *ireversibel* (Katzung, *et al.*, 2019).

II.2.3 Farmakokinetik

Setelah pemberian oral, salisilat yang tidak terionisasi secara pasif diserap sebagian di perut dan sebagian besar di usus kecil bagian atas. Penyerapannya oada rektal lambat (Clark, *et al.*, 2012).

Pada dosis 650 mg/hari, aspirin dihidrolisis menjadi asam salisilat dan asam asetat oleh esterase dalam jaringan darah. Salisilat kemudian diubah oleh hati menjadi konjugat yang larut air kemudian dibersihkan oleh ginjal dengan cepat dan menghasilkan eliminasi dengan konetika orde pertama dan waktu paruh serum 3,5 jam (Clark, *et al.*, 2012).

Pada dosis lebih dari 4 g/hari, jalur metabolisme hati menjadi jenuh dan menghasilkan waktu paruh obat ≥ 15 jam. Sebagai asam organik, salisilat diekskresikan ke dalam urin dan dapat mempengaruhi asam urat. Pada dosis rendah aspirin, sekresi asam urat menurun. Sedangkan pada dosis tinggi, sekresi asam urat meningkat. Sehingga pemberian aspirin harus dihindari pada penderita gout. Selain itu, aspirin juga harus dihindari pada pasien yang mengalami ginjal kronis (Clark, *et al.*, 2012).

II.2.4 Efek pada masa hidup

Selain memiliki efek anti-inflamasi, bagian salisilat dalam aspirin juga berperan dalam mengurangi pembentukan spesies pro-oksidan. Terkait dengan mekanisme ini, aspirin telah dilaporkan dapat mengurangi disfungsi endotel terkait penuaan pada tikus, sedikit menurunkan tekanan darah pada tikus hipertensi (Ayyadevara *et al.*, 2013).

Pada dosis tinggi, aspirin dilaporkan dapat meningkatkan metabolisme glukosa dan mengurangi kadar asam lemak pada penderita diabetes tipe-2. Selain itu, aspirin juga dapat memperpanjang umur tikus jantan dan secara signifikan mengurangi semua penyebab pada penderita diabetes tipe-2 (Ayyadevara *et al.*, 2013).

II.3 *Drosophila melanogaster*

II.3.1 Klasifikasi

Kingdom	: Animalia
Filum	: Arthropoda
Kelas	: Insecta
Ordo	: Diptera
Family	: Drosophilidae
Genus	: <i>Drosophila</i>
Spesies	: <i>Drosophila melanogaster</i> (Verma and Singh, 2020)

II.3.2 Deskripsi

Tubuh *Drosophila* mirip dengan serangga lain, tersegmentasi. Beberapa segmen membentuk kepala, 3 segmen membentuk dada dan 8 segmen

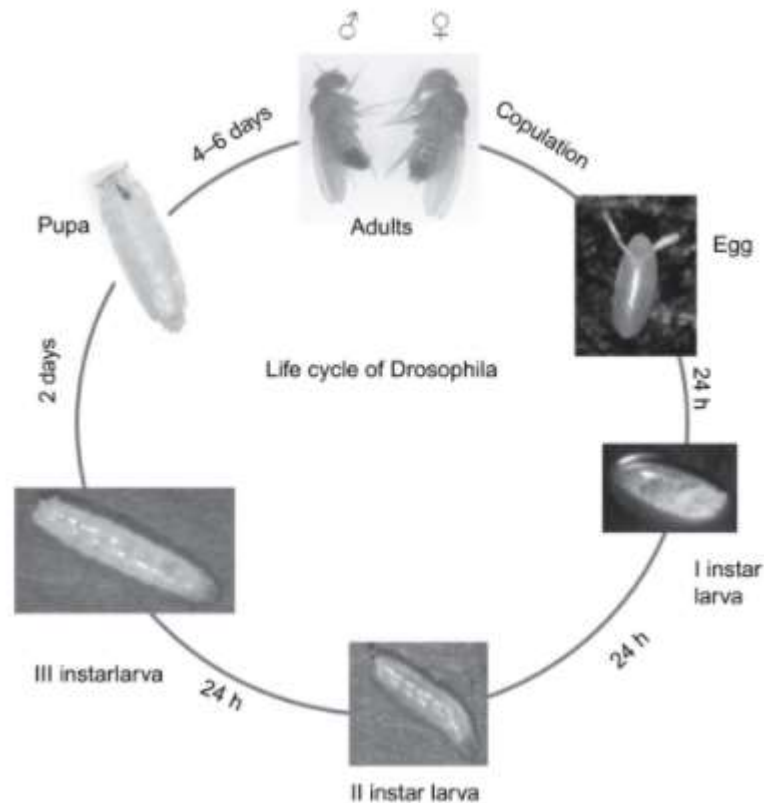
membentuk abdomen. Bagian kepala terdiri dari antena sedangkan kaki dan sayap muncul dari segmen toraks (Verma and Singh, 2020).

D. melanogaster memiliki cincin hitam melintang pada abdomen. Untuk membedakan jenis kelamin lalat, dapat dilihat adanya bercak hitam pada bagian abdomen lalat jantan yang tidak ada pada lalat betina. Lalat jantan juga memiliki *sex combs* (sisir kelamin), dan deretan bulu gelap di tarsus kaki pertama. Lalat jantan juga memiliki sekelompok rambut runcing yang disebut *claspers* yang mengelilingi anus dan alat kelamin. *Claspers* digunakan lalat jantan untuk menempel pada lalat betina saat kawin (Verma and Singh, 2020).

II.3.3 Siklus hidup

Siklus hidup dari *D. melanogaster* terdiri dari beberapa tahapan, diantaranya embryogenesis, tiga fase larva, fase pupa, dan fase dewasa. Waktu yang diperlukan untuk perkembangan lengkap yaitu 8-9 hari pada suhu 25°C. Lalat betina mampu bertelur hingga sekitar 400 telur. Telur dengan panjang sekitar 0,5 mm akan menetas setelah 20-22 jam pada suhu 25°C. Larva instar pertama (*first instar*) yang dihasilkan kemudian tumbuh sekitar 3 hari sambil berganti kulit menjadi larva instar kedua (*second instar*) dan ketiga (*third instar*), masing-masing sekitar 24 dan 48 jam setelah ekshlusi. Larva kemudian mengalami metamorphosis selama 4 hari pada suhu 25°C dengan membungkus puparium yang tidak bergerak. Setelah proses metamorphosis, lalat baru akan muncul (eklosi) (Verma and Singh,

2020). Siklus hidup *D. melanogaster* secara skematis ditunjukkan pada gambar 3.



Gambar 3. Tahapan siklus hidup *Drosophila melanogaster* (Verma and Singh, 2020)

II.3.4 *Drosophila melanogaster* dalam penelitian penuaan

Agar penelitian terkait penuaan relevan dengan manusia, sistem model yang digunakan harus mencakup gen yang menunjukkan konservasi tinggi dengan manusia, kemampuan untuk dimanipulasi secara genetik, masa hidup serta waktu generasi yang cukup singkat sehingga dapat dipantau secara efektif (Jafari, 2010).

Drosophila melanogaster merupakan organisme model yang banyak digunakan dalam penelitian karena memiliki banyak keunggulan, diantaranya masa hidup yang pendek (umur rata-rata, 2-3 bulan), persyaratan

pemeliharaan yang rendah, sumber daya genetik yang kaya dan kemudahan untuk melakukan manipulasi genetik (Sun *et al.*, 2013).

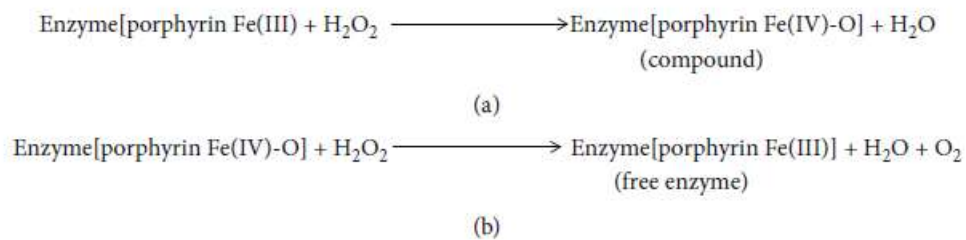
D. melanogaster telah terbukti dapat digunakan dalam penelitian terkait *aging* karena memiliki kemampuan reproduksi tinggi (10 telur per hari), serta pengetahuan tentang urutan genom yang lengkap (Rath, Pramod C., 2017). *D. melanogaster* juga memiliki kemiripan dengan manusia dalam berbagai jalur metabolisme utama, termasuk jalur modulasi penuaan potensial seperti stress oksidatif, perbaikan DNA, dan pensinyalan insulin (Jafari, 2010).

Dalam penelitian *aging* menggunakan *D. melanogaster*, parameter yang dapat diuji yaitu dengan pengamatan masa hidup yang dikaitkan dengan reproduksi dari *D. melanogaster* serta melalui pendekatan genetik. Pendekatan ini dipilih untuk mengidentifikasi mekanisme fisiologis dari penuaan dengan analisis terhadap fenotip yang memengaruhi masa hidup dan respon perilaku lalat. Metode ini dilakukan untuk mengonfirmasi hipotesis yang ada berdasarkan pendekatan gen (Rath, Pramod C., 2017).

II.4 Gen

II.4.1 *cat*

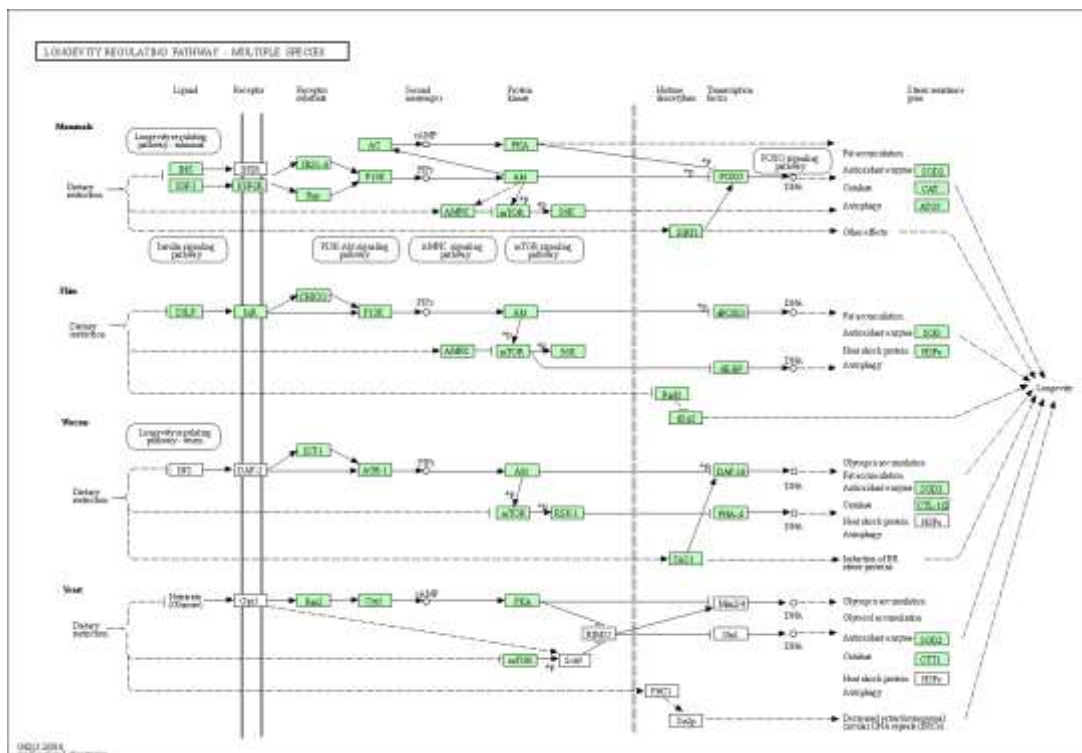
Katalase merupakan salah satu enzim antioksidan terpenting yang terdapat pada hampir semua organisme *aerobic*. Katalase berperan sebagai antioksidan dengan mekanisme pemecahan dua molekul hydrogen peroksida menjadi satu molekul oksigen dan dua molekul air melalui dua langkah reaksi seperti yang ditunjukkan pada gambar 4 (Nandi *et al.*, 2019).



Gambar 4. Mekanisme : (a) langkah pertama; (b) langkah kedua (Nandi et al., 2019)

Gen yang mengkode enzim katalase adalah gen *cat* yang ditempatkan pada kromosom 11 pada manusia (Nandi *et al.*, 2019), dan pada kromosom 3L pada *D. melanogaster* (Stocker, 2012). Gen *cat* telah dilaporkan memiliki efek positif pada umur, peningkatan ekspresi gen *cat* dapat menyebabkan peningkatan umur (Hall *et al.*, 2019).

Singnaling pathway dari gen *cat* terkait dengan pengaturan umur ditunjukkan pada gambar 5.



Gambar 5. *Signaling pathway* terkait dengan pengaturan umur (Flybase)

Dietary restriction dan penurunan regulasi genetik IIS (*Insulin/Insulin like growth factor signaling*) dan TOR (*Target of Rapamycin*) secara substansial dapat meningkatkan masa hidup sehat organisme model. Pada cacing, lalat, dan mamalia *dietary restriction* mengurangi pensinyalan IIS/TOR, menonaktifkan kaskade pensinyalan intraseluler PI3k/Akt/TOR, dan mengaktifkan faktor transkripsi antipenuaan *family* FOXO. Faktor transkripsi ini kemudian akan mentransaktivasi gen yang terlibat dalam resistensi terhadap stres oksidatif, metabolisme energi, perbaikan kerusakan DNA, metabolisme glukosa, autofagi, dan perlindungan protein pendamping (*Flybase*).

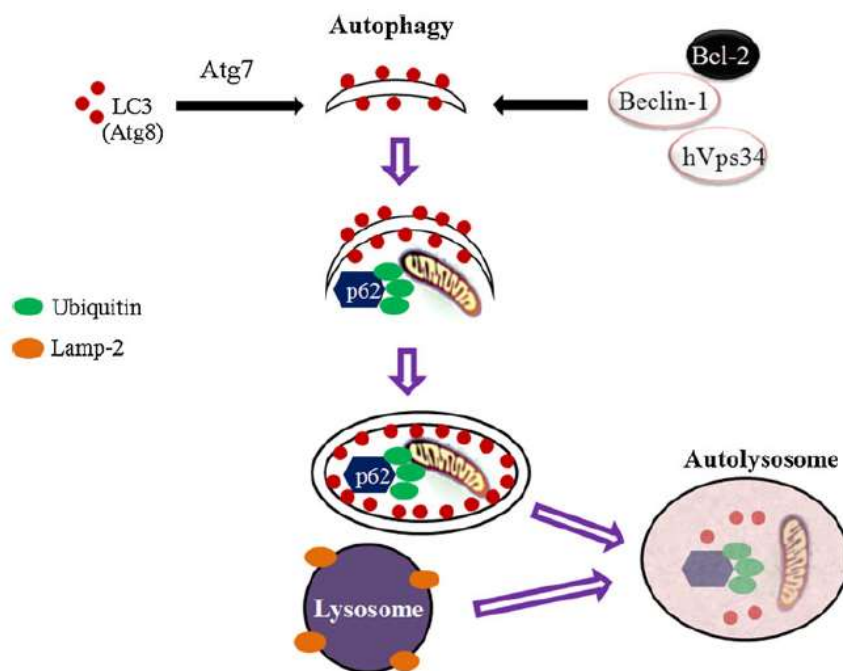
II.4.2 *atg8a*

Autofagi merupakan proses degradasi komponen sitoplasma melalui jalur lisosom yang merupakan respon seluler terhadap kekurangan nutrisi. Autofagi juga bertanggung jawab dalam kondisi basal untuk menghilangkan agregat protein dan organel sel yang rusak. Sehingga proses autofagi memegang peranan penting dalam pemeliharaan homeostasis seluler (Jacomín *et al.*, 2020).

Berdasarkan (Maruzs *et al.*, 2019) autofagi memainkan peran sentral dalam proses penuaan. Beberapa mekanisme perpanjangan masa hidup menunjukkan peran dari modulasi autofagi. Peningkatan autofagi dapat mengimbangi beberapa tanda seluler penuaan, sehingga autofagi memiliki peran dalam mengatasi akumulasi kerusakan sel.

Autophagy-related (Atg) protein merupakan faktor eukariotik yang berperan dalam berbagai tahap autofagi. Atg yang telah teridentifikasi sejauh ini dan merupakan protein kunci dalam autofagi yaitu *Atg8* (Shpilka *et al.*, 2011). *Atg8* merupakan penanda autofagi yang berikatan secara kovalen dengan fosfatidiletanolamina pada membrane autofagik selama pembentukan autofagosom (Matthias *et al.*, 2016). Efek sistemik terkait modulasi autofagi spesifik jaringan pada organisme penuaan yang pertama kali diamati pada lalat buah adalah ekspresi berlebih dari *atg8a* pada saraf yang terbukti dapat memperpanjang umur lalat (Maruzs *et al.*, 2019).

Peran *Atg8* dalam proses autofagi:

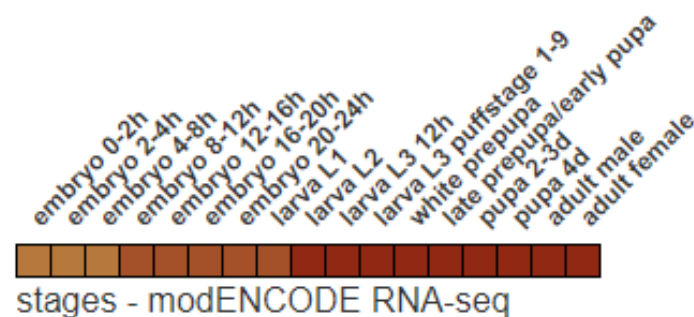


Gambar 6. Peran *Atg8* dalam proses autofagi

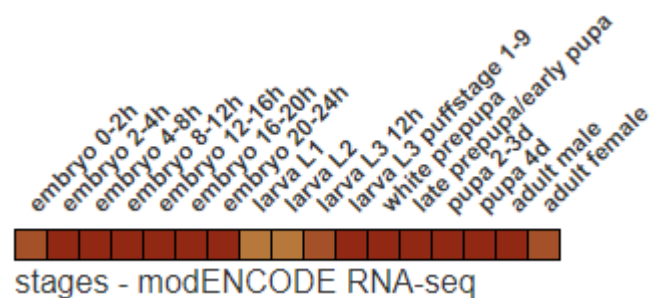
Dalam proses autofagi kompleks *Beclin-1-Vps34/PI3* kinase kelas 3 berperan dalam menginisiasi autofagi. Sedangkan *LC3/Atg8* dan *Atg7* berperan dalam memodulasi pembentukan autofagosom dengan ekspansi

membran dan mengontrol ukuran autofagosom dan amplitude autofagi. P62 kemudian memediasi pengenalan spesifik agregat polyubiquitin (agregat protein intraseluler) dengan mengikat LC3, dan kemudian akan menghilangkan autofagi. Lamp-2 (protein transmembran lisosom) diperlukan untuk fusi lisosom yang tepat dengan autofagosom pada tahap akhir dari proses autofagi. Fusi lisosom dengan autofagosom kemudian akan membentuk autolisosom, dan isi autofagosom kemudian didegradasi oleh enzim lisosom untuk meregenerasi nutrisi (Liu *et al.*, 2013).

II.4.3 Data ekspresi gen pada *Drosophila melanogaster*



Gambar 7. Data ekspresi gen *cat* (Flybase)



Gambar 8. Data ekspresi gen *atg8a* (Flybase)