

**UJI EFEK KURKUMIN TERHADAP EKSPRESI GEN *Srl*
DAN *Pepck* PADA *Drosophila melanogaster***

**EFFECT OF CURCUMIN ON THE EXPRESSION OF *Srl*
AND *Pepck* GENES IN *Drosophila melanogaster***

AHMAD SHAYFUL WIDIANTO

N011 18 1366



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**UJI EFEK KURKUMIN TERHADAP EKSPRESI GEN *Srl* DAN *Pepck* PADA
*Drosophila melanogaster***

**EFFECT OF CURCUMIN ON THE EXPRESSION OF *Srl* AND *Pepck*
GENES IN *Drosophila melanogaster***

SKRIPSI

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

AHMAD SHAYFUL WIDIANTO

N011 18 1366

PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

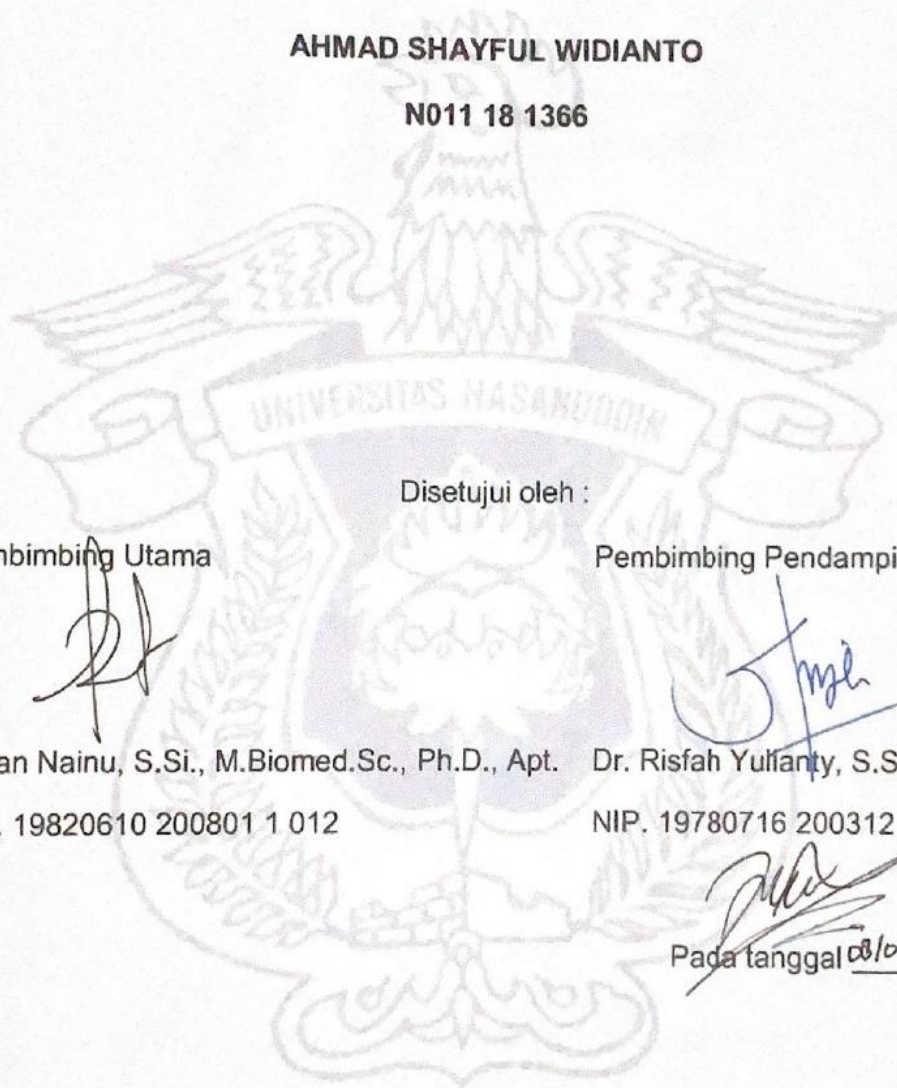
MAKASSAR

2022

UJI EFEK KURKUMIN TERHADAP EKSPRESI GEN *Srl* DAN *Pepck* PADA
Drosophila melanogaster

AHMAD SHAYFUL WIDIANTO

N011 18 1366



Disetujui oleh :

Pembimbing Utama

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'FN' or similar initials.

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

NIP. 19820610 200801 1 012

Pembimbing Pendamping

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'R. Yulfanty'.

Dr. Risfah Yulfanty, S.Si., M.Si., Apt..

NIP. 19780716 200312 2 001

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'A. Shayful Widiyanto'.

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

UJI EFEK KURKUMIN TERHADAP EKSPRESI GEN *Srl* DAN *Pepck*
PADA *Drosophila melanogaster*

Disusun dan diajukan oleh :

AHMAD SHAYFUL WIDIANTO
N011 18 1366

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
pada tanggal 2/2/2022
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

Dr. Risfah Yulianty, S.Si., M.Si., Apt.
NIP. 19780716 200312 2 001

Ketua Program Studi S1 Farmasi,
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin



Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.

NIP. 19860116 201012 2 009

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 jugatidak 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, 09/07/2022

Yang Menyatakan



Ahmad Shayful Widiyanto



UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, tidak ada kata yang lebih patut diucapkan oleh seorang hamba yang beriman selain ucapan puji syukur ke hadirat Allah SWT, 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 Dr. Risfah Yulianty, S.Si., M.Si., Apt. selaku pembimbing kedua yang telah bersedia memberikan bimbingan, ilmu, arahan, dukungan, serta bersedia meluangkan waktunya dalam penyusunan skripsi ini.
3. Ibu Yulia Yusrini Djabir, S.Si., MBM.Sc., M.Si., Ph.D., Apt dan Ibu Nur Inda Yanti, S.Si., M.Si., 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 A. Anggriani, S.Si., M. Clin.Pharm., Apt. selaku Dosen Penasehat Akademik atas segala arahan, saran dan nasehat yang telah diberikan kepada penulis selama perkuliahan.
6. Keluarga besar Bio-FarToks 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, Daff, Zaldy, Usri, mega, asfa, asbah dan kak oca yang selalu memberikan masukan dan semangat kepada penulis.
9. Teman-teman Mansion 21 yang selalu memberikan semangat kepada penulis dalam perkuliahan dan penyelesaian skripsi ini.
10. Saudara bukan sedarah Ladde penulis, Putra Irianto Sanjaya Dirga yang telah memberi semangat dan motivasi dalam mengerjakan skripsi ini.
11. Keluarga Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin (KEMAFAR-UH), terkhusus teman-teman angkatan 2018 (GEMF18R0ZIL) 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 Muh Amin Wong dan Ibunda Hasniati, dan saudari penulis Anita Fauziah Widianti, 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 20/07/2022



Ahmad Shayful Widiyanto

ABSTRAK

AHMAD SHAYFUL WIDIANTO. Uji Efek Kurkumin Terhadap Ekspresi Gen *Srl* dan *Pepck* pada *Drosophila melanogaster* (dibimbing oleh Firzan Nainu dan Risfah Yuliyanty).

Kurkumin merupakan salah satu senyawa yang dapat memberikan efek anti-penuaan. Penuaan merupakan faktor resiko utama penyebab penyakit degeneratif hingga berujung pada kematian. Gen yang berperan dalam terjadinya proses penuaan pada *Drosophila melanogaster*, diantaranya ialah gen *spargel* (*Srl*) dan *phosphoenolpyruvate carboxykinase* (*Pepck*), sehingga dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh dari pemberian kurkumin terhadap ekspresi kedua gen tersebut. Pada penelitian ini digunakan 5 kelompok uji, diantaranya kontrol sehat, kontrol pelarut, dan kurkumin dengan konsentrasi 10, 50 dan 250 μM . Pegujian yang dilakukan yaitu uji ekspresi gen dengan metode RT-qPCR. Hasil penelitian pada uji ekspresi gen *Pepck* menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada kelompok perlakuan kurkumin 250 μM dibandingkan kontrol ($p < 0.01$), sedangkan pada ekspresi gen *Srl* menunjukkan perbedaan yang paing signifikan pada semua kelompok perlakuan 50 μM ($p < 0.01$) lalu diikuti oleh kelompok perlakuan 250 μM ($p < 0.1$). Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa pemberian kurkumin dapat meningkatkan ekspresi gen *Pepck* dan *Srl* yang bergantung pada varian konsentrasi pemberian pada *D. melanogaster*.

Kata Kunci: Kurkumin, Penuaan, *Drosophila melanogaster*, *Pepck*, *Srl*.

ABSTRACT

AHMAD SHAYFUL WIDIANTO. Effect of Curcumin on The Expression of *Srl* and *Pepck* Genes in *Drosophila melanogaster* (supervised by Firzan Nainu and Risfah Yuliyanty).

Curcumin is one of the compounds that can provide anti-aging effects. Aging is a major risk factor for degenerative diseases that can lead to death. Genes that play a role in the aging process in *Drosophila melanogaster*, including the spargel (*Srl*) and phosphoenolpyruvate carboxykinase (*Pepck*) genes, so that a study was conducted to determine the effect of curcumin administration on the expression of these two genes. In this study, 5 test groups were used, including healthy control, solvent control, and curcumin with concentrations of 10, 50 and 250 M. The tests carried out were gene expression tests using the RT-qPCR method. The results of the *Pepck* gene expression test showed that there was a significant difference in the 250 M curcumin treatment group compared to the control group ($p < 0.01$), while the *Srl* gene expression showed the most significant difference in all 50 M treatment groups ($p < 0.01$) followed by treatment group 250 M ($p < 0.1$). Based on the results obtained, it can be concluded that the administration of curcumin can increase the expression of *Pepck* and *Srl* genes which depend on the concentration variant of *D. melanogaster*.

Keywords: Curcumin, Aging, *Drosophila melanogaster*, *Srl*, *Pepck*.

DAFTAR ISI

	halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	i
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	4
I.3 Tujuan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Deskripsi umum penuaan	5
II.1.1 Gen <i>Srl</i>	5
II.1.2 Gen <i>Pepck</i>	8
II.2 Lalat Buah (<i>Drosophila melanogaster</i>)	10
II.3 Kurkumin	14
II.4 <i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i>	16
BAB III. PELAKSANAAN PENELITIAN	18

III.1 Alat dan Bahan	18
III.2. Penyiapan Hewan Uji	18
III.3 Penyiapan Sampel	19
III.4 Penyiapan Pakan	19
III.5 Penyiapan Sampel RNA	20
III.6 Pengujian Dengan PCR	21
III.7 Pengolahan Data	22
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	23
IV.1 Hasil Pengujian Ekspresi Gen	23
IV.1.1 Uji Ekspresi Gen <i>Pepck</i>	23
IV.1.2 Uji Ekspresi Gen <i>Srl</i>	25
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	27
V.1 Kesimpulan	27
V.2 Saran	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN	32

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Sekuens primer gen	21
2. Data statistik gen <i>Srl</i>	36
3. Data statistik gen <i>Pepck</i>	36

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Siklus hidup <i>Drosophila melanogaster</i>	10
2. <i>Signaling pathway gen Srl</i> terkait penuaan	7
3. <i>Signaling pathway gen Pepck</i> terkait penuaan	9
4. Grafik ekspresi gen <i>Pepck</i> pada <i>D.melanogaster</i>	23
5. Grafik ekspresi gen <i>Srl</i> pada <i>D.melanogaster</i>	25
6. Pembuatan pakan	37
7. Pemisahan lalat jantan dan betina	37
8. Sampel isolasi RNA	37
9. Isolasi RNA	37
10. Running PCR	37

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema kerja penelitian	32
2. Penyiapan hewan uji	32
3. Penyiapan sampel	32
4. Penyiapan pakan	33
5. Penyiapan sampel RNA	34
6. Pengujian dengan PCR	34
7. Perhitungan pengenceran kurkumin	34
8. Tabel statistik uji genotip	36
9. Gambar penelitian	37

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Kurkumin merupakan salah satu jenis senyawa yang telah diteliti dan terbukti dapat memberikan efek anti penuaan. Penggunaan kurkumin juga telah dilaporkan dapat meningkatkan masa hidup manusia, utamanya pada lansia hal ini dikarenakan kurkumin merupakan salah satu senyawa yang memiliki antioksidan yang kuat. Sebagai antioksidan, kurkumin dapat menangkal radikal bebas, meningkatkan enzim antioksidan, dan menghambat peroksidasi lipid (Mutiana dan Sopyan., 2018). Sebuah studi mengungkapkan bahwa senyawa kurkumin dapat memperpanjang masa hidup *Drosophila melanogaster* dengan efek yang disertai dengan perlindungan terhadap stres oksidatif, meningkatkan lokomotor, dan memberikan efek kemopreventif. Perpanjangan rentang hidup yang diberikan kurkumin yaitu spesifik gender dan genotipe. Kurkumin juga telah diketahui dapat memodulasi ekspresi beberapa gen terkait penuaan, diantaranya adalah gen *mth*, *thor*, *InR*, dan *JNK* (Lee KS *et al.*, 2010).

Proses penuaan (*aging process*) merupakan suatu proses yang alami ditandai dengan adanya penurunan atau perubahan kondisi fisik, psikologis maupun sosial dalam berinteraksi dengan orang lain (Handayani dkk., 2013). Menurut perkiran WHO antara tahun 2015-2050, lansia di dunia yang berumur 60 tahun keatas mengalami peningkatan penuaan hampir dua kali

lipat dari sekitar 12% menjadi 22% (WHO, 2017). Menurut Badan Pusat Statistik Indonesia dalam waktu hampir lima dekade, persentase lansia Indonesia meningkat sekitar dua kali lipat (1971-2020), yakni menjadi 9,92% (26 jutaan) (Statistik B. P, 2020).

Proses penuaan yang terjadi saat ini masih menjadi faktor risiko utama penyebab terjadinya penyakit. Seiring bertambah usia seseorang, fungsi kerja fisiologis akan semakin menurun performanya sehingga akan lebih rentan untuk terkena penyakit, baik penyakit infeksi maupun penyakit degeneratif. Salah satu tanda terjadinya penuaan ialah adanya perubahan intraseluler, seperti deregulasi jalur pensinyalan nutrisi hingga perubahan profil komunikasi antarsel (McIntyre *et al.*, 2020).

Secara umum, penelitian tentang penuaan dilakukan menggunakan organisme model seperti tikus, primata, kelinci, dan kucing (Mitchell *et al.*, 2015). Selain hewan-hewan tersebut, penelitian mengenai mekanisme penuaan secara genetik dan implikasinya terhadap makhluk hidup juga aktif dilakukan menggunakan *D. melanogaster* sebagai organisme model *in vivo* (Sun *et al.*, 2013). Keuntungan penggunaan *D. melanogaster* sebagai organisme model pada penelitian yang berkaitan dengan penuaan antara lain, umur *D. melanogaster* yang relatif pendek sehingga memudahkan dalam pelaksanaan penelitian, perawatan yang mudah, dan mudah digunakan dalam eksperimen yang membutuhkan manipulasi genetik. Selain itu, lebih dari 50% gen *D. melanogaster* memiliki homolog pada manusia,

dan lebih dari 75% gen penyakit *D. melanogaster* memiliki homolog pada manusia (Sun *et al.*, 2013).

Terdapat beberapa gen yang berperan dalam terjadinya proses penuaan pada *D. melanogaster*, dua diantaranya ialah gen yang mengkode spargel (*srl*) dan phosphoenolpyruvate carboxykinase (*pepck*). Gen *srl* pada *D. melanogaster* merupakan homolog dengan PPAR- γ coactivator 1- α (PGC-1 α) pada manusia (Wagner *et al.*, 2015). PGC-1 α dan homolognya telah diketahui sebagai pengatur utama biogenesis mitokondria pada hewan (George and Jacobs, 2019).

Pada *D. melanogaster*, peningkatan ekspresi gen *srl* akan meningkatkan aktivitas mitokondria baik selama perkembangan maupun pada tahap dewasa (Rera *et al.*, 2011). Selain itu, peningkatan regulasi gen *srl* akan menghambat aktivasi proliferasi *intestinal stem cells* (ISCs) dan mengurangi akumulasi sel yang misdiferensiasi di epitel usus (Rera *et al.*, 2011). Peningkatan ekspresi gen *Srl* secara khusus memediasi perpanjangan umur jaringan di saluran pencernaan. Perubahan ekspresi *srl* di jantung telah terbukti meningkatkan kapasitas jantung, serta penurunan *srl* di otot jantung akan menurunkan kemampuan pergerakan lokomotor dan daya tahan *Drosophila melanogaster* (Merzetti and Staveley, 2015). *Pepck* merupakan gen yang mengkode enzim *Phosphoenolpyruvate carboxykinase* (*pepck*) yang berperan dalam proses glukoneogenesis sehingga menjadi faktor utama dalam regulasi homeostasis glukosa. (Onken *et al.*, 2020). Berdasarkan penelitian sebelumnya, ekspresi berlebih *pepck* pada mamalia

menyebabkan peningkatan keluaran glukosa dan menyebabkan gejala diabetes tipe 2, hal tersebut dikarenakan peningkatan laju glukoneogenesis pada hati dan ginjal. Ekspresi *pepck* yang berlebih pada jaringan adiposa menyebabkan akumulasi trigliserida, sehingga dapat menyebabkan obesitas (Croniger *et al.*, 2002).

Regulasi gen *srl* (homolog pada manusia, PGC-1 α) dan *pepck* memiliki peranan penting terkait dengan perpanjangan umur, baik pada *D. melanogaster* maupun pada manusia. Hingga saat ini, belum ada penelitian yang menunjukkan hasil yang jelas terkait efek *anti aging* kurkumin pada PGRP-LB^A *D. melanogaster* melalui mekanisme kerja gen *srl* maupun *pepck*. Sehingga penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui efek kurkumin terhadap ekspresi kedua gen tersebut.

I.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh pemberian kurkumin terhadap ekspresi gen *srl* dan *pepck* pada *Drosophila melanogaster*?

I.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh dari pemberian kurkumin terhadap ekspresi gen *srl* dan *pepck* pada *Drosophila melanogaster*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Deskripsi Umum Penuaan

Studi terkait penuaan telah banyak mengalami perkembangan. Terdapat beberapa alasan yang mempengaruhi hal tersebut, yaitu usia harapan hidup rata-rata manusia di seluruh dunia terus mengalami peningkatan, persentase lansia semakin meningkat signifikan di negara berkembang dan proporsi pengeluaran biaya untuk kesehatan bagi lansia terus meningkat (Winarno dkk., 2015). Penuaan dapat didefinisikan sebagai menurunnya fungsi biologis yang mencakup seluruh Interaksi antar molekul sel, fungsi seluler, struktur dan fungsi jaringan. Akibatnya dapat meningkatkan mortalitas serta terjadi peningkatan resiko penyakit degeneratif dan neurodegeneratif (He and Jasper, 2014). Penuaan yang terjadi dapat ditandai dengan adanya perubahan degeneratif secara progresif yang berujung pada gangguan fungsi organ tubuh serta dapat meningkatkan resiko kematian (Kumar and Lombard, 2016).

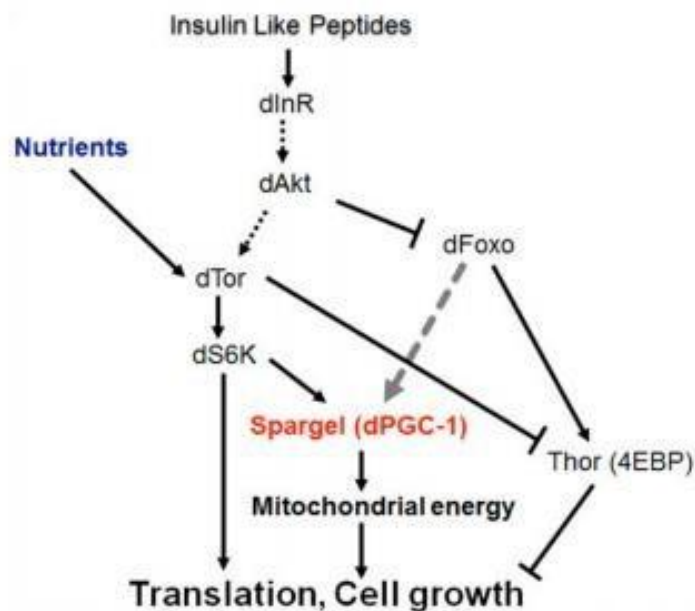
Gen merupakan bagian dari kromosom yang menjadi unit pewarisan sifat pada makhluk hidup. Terdapat beberapa gen yang telah diketahui berperan dalam proses terjadinya penuaan, antara lain sebagai berikut:

II.1.1 Gen *Srl*

Gen spargel (*Srl*) merupakan salah satu gen pada *Drosophila melanogaster* yang mengkodekan protein spargel atau *Drosophila* PPAR γ -

Coactivator-1 (dPGC-1). Gen *Srl* homolog pada gen manusia yaitu gen *PPARGC1A* yang juga mengkodekan protein dPGC-1. Ketika terjadi ekspresi secara berlebih pada gen *Srl* maka penggunaan oksigen akan meningkat pada mitokondria dan mengakibatkan peningkatan produksi ATP, serta meningkatkan aktifitas enzim dan produksi protein pada matriks mitokondria. (Mukherjee and Duttaroy, 2013).

Peningkatan ekspresi secara berlebih *Srl*/dPGC-1 dapat meningkatkan masa hidup baik pada *Drosophila* maupun pada manusia, hal tersebut dikarenakan meningkatnya biogenesis mitokondria serta mitokondria dapat menjaga kapasitas energi dengan baik. Fungsi *Srl*/dPGC-1 juga diketahui dapat mempromosikan biogenesis mitokondria melalui aktivasi berbagai faktor transkripsi utama, termasuk *nuclear respiratory factor* -1 dan -2 (NRF-1 dan NRF-2) yang dapat menginduksi ekspresi gen yang mengkode protein mitokondria (Rera dkk., 2011).



Gambar 1. Jalur pensinyalan spargel (Mukherjee : 2013)

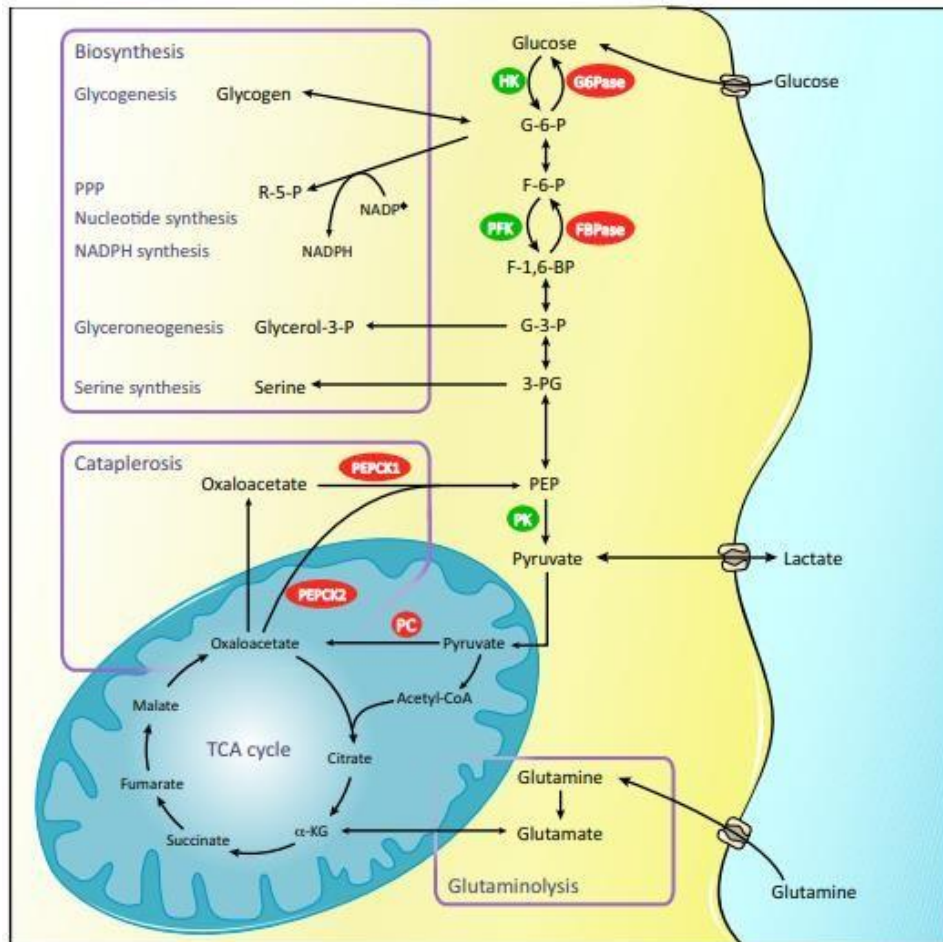
Spargel bekerja pada bagian hilir pensinyalan insulin dan *Target of Rapamycin* (TOR). Pada pensinyalan sintesis protein spargel/dPGC-1 diawali dengan aktivasi *insulin like receptor* (InR) oleh *insulin like peptide* (IIP). Aktivasi dari InR akan mengaktifkan Akt melalui fosforilasi *serine* dan *threonine*. Teraktivasinya Akt maka akan memfosforilasi beberapa substrat untuk mengaktifkan anabolisme seluler, diantaranya memfosforilasi protein pengaktif *GTPase activating protein* (GAP) Tsc2 untuk mengaktifkan pensinyalan TOR *Complex 1* (TORC1) dan sintesis protein (Das dkk., 2014). Setelah TOR aktif maka akan berikatan dengan protein ribosom S6 kinase (S6K) dan eIF4E (*eukaryotic initiation factor 4E*) *binding protein* (4EBP). Ikatan antara TOR dengan S6K secara bersamaan dapat memicu terjadinya proses translasi dan pertumbuhan sel. Selain itu, ikatan tersebut juga dapat mengaktifkan spargel/dPGC-1 yang akan meningkatkan biogenesis

mitokondria dan berujung pada aktifnya proses translasi dan pertumbuhan sel (Magnuson dkk 2012).

Selain mengaktifkan TOR, Akt juga menghambat faktor transkripsi *Forkhead Box O* (FoxO) sehingga mengurangi ekspresi gen katabolik. Serta meningkatkan level ekspresi spargel/dPGC-1 yang akan meningkatkan biogenesis mitokondria (Das dkk., 2014).

II.1.2 Gen *Pepck*

Pepck merupakan gen yang mengkode enzim *Phosphoenolpyruvate carboxykinase* (PEPCK) yang berperan dalam proses glukoneogenesis sehingga menjadi faktor utama dalam regulasi homeostasis glukosa. (Onken dkk., 2020). Kadar PEPCK akan meningkat ketika kadar enzim glukagon meningkat, penggunaan obat golongan glukokortikoid, peningkatan kadar hormon tiroid, dan asam retinoat. Sedangkan kadar enzim PEPCK ditekan oleh keberadaan insulin. Semua efek tersebut pada gen *Pepck* diatur pada tingkat transkripsi, dikarenakan waktu paruh PEPCK dan mRNA sangat pendek sehingga aktivitas enzimatik PEPCK mencerminkan aktivitas transkripsi (Asano dkk., 2020)



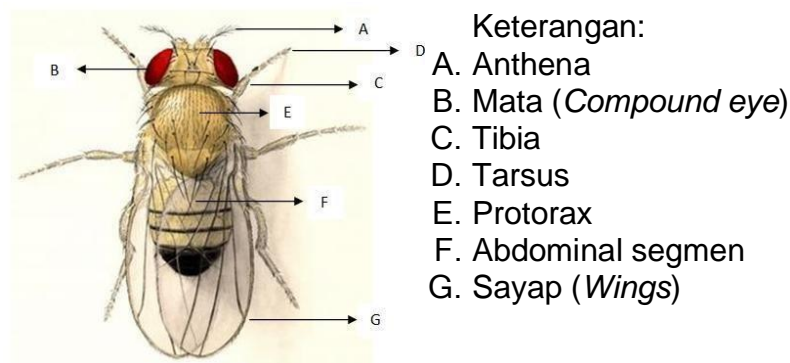
Gambar 2. Jalur Pensinyalan *pepck* (wang : 2018)

Phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) merupakan hasil dari karboksilasi piruvat yang dikatalis oleh *pyruvate carboxylase* (PC) kemudian dekarboksilat memfosforilasi oksaloasetat dan membentuk *Phosphoenolpyruvate* (PEP) pada langkah kedua tahap glukoneogenesis. Perubahan oksaloasetat menjadi PEP, PEPCK memungkinkan penggunaan non-karbohidrat sebagai sumber energi ketika terjadi kelaparan. PEPCK pada mamalia terbagi 2, yaitu PEPCK1 (PEPCK-C dikodekan oleh gen PCK1) yang terdistribusi dalam sitosol dan PEPCK2 (PEPCK-M

dikodekan oleh gen PCK2) yang terdistribusi dalam mitokondria (Wang and Dong, 2019).

II.2 Lalat Buah (*Drosophila melanogaster*)

Lalat buah (*Drosophila melanogaster*) merupakan salah satu jenis serangga yang dikelompokkan dalam filum arthropoda kelas insekta dan merupakan salah satu bangsa diptera. *Drosophila melanogaster* pertama kali diperkenalkan sebagai model hewan uji oleh Morgan & Costel pada tahun 1990 dan diketahui bahwa *D. melanogaster* dapat digunakan sebagai sumber pembelajaran genetika pada organisme diploid. Alasan penggunaan hewan ini sebagai objek penelitian genetika di laboratorium yaitu *D. melanogaster* mudah untuk dipelihara, cepat berkembang biak dan biaya yang relatif murah dari segi perawatannya jika dibandingkan dengan jenis organisme model lainnya contohnya mencit, tikus dan *zebrafish* serta sangat mudah dalam memanipulasi genetik (Pandey dan Nichols, 2011).



Gambar 3. Morfologi lalat buah

Terdapat perbedaan pada lalat buah betina dengan lalat buah jantan, ukuran lalat buah jantan lebih kecil dibandingkan dengan lalat buah betina selain itu tanda makroskopis dengan adanya warna gelap pada ujung

abdomen serta pada kaki depannya dilengkapi dengan sisir kelamin yang terdiri dari gigi hitam yang mengkilap (Wayan, 2005).

Berikut merupakan klasifikasi *Drosophila*:

Kingdom : Animalia

Phylum : Arthropoda

Kelas : Insecta

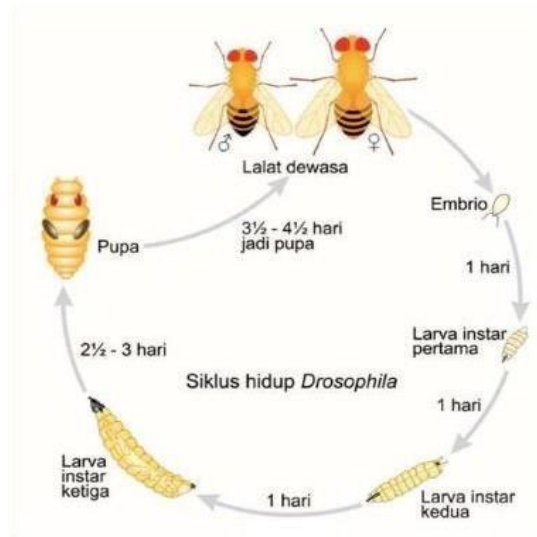
Ordo : Diptera

Famili : Drosophilidae

Genus : Droshopila

Spesies : *Drosophila melanogaster* (Hadi, 2009)

Drosophila melanogaster memiliki 4 tahap siklus yaitu telur, larva, pupa dan lalat dewasa. *D. melanogaster* memiliki masa hidup yang relatif pendek yaitu sekitar 12-14 hari. Lalat betina dapat memproduksi sekitar kurang lebh 100 butir telur dalam sekali bertelur dan separuh dari telur tersebut akan berubah menjadi lalat jantan dan separuhnya menjadi lalat betina. Umur *D. melanogaster* sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungannya, kondisi lingkungan yang tidak mendukung akan memperpendek umur dari *D. melanogaster* (Wahyuni, 2013).



Gambar 4. Siklus hidup lalat buah (Nainu, 2018)

Drosophila melanogaster mulai berkembang biak ketika setelah terjadi fertilisasi antara jantan dan betina, proses tersebut terdiri atas dua periode, yaitu periode embrionik dan post-embriionik. Periode embrionik berlangsung kurang dari 24 jam dan terjadi di dalam telur pada saat fertilisasi sampai pada saat larva muda menetas dari telur. Pada saat periode embrionik larva menjadi tidak berhenti untuk makan demi memenuhi asupan untuk berkembang ke tahap berikutnya. Pada periode post-embriionik dibagi menjadi 3 tahap, yaitu larva, pupa dan imago (fase seksual dengan perkembangan pada sayap). Perubahan bentuk lainnya terutama pada perkembangan secara seksual terjadi pada saat dewasa.

1. Telur

Telur *Drosophila melanogaster* berukuran sekitar 0,5 mm dan berbentuk lonjong. Telur *Drosophila melanogaster* dilapisi oleh dua lapisan, yang pertama selaput vitelin tipis yang mengelilingi sitoplasma dan yang

kedua selaput tipis yang disebut korion di bagian luar dan di anterior telur terdapat dua tangkai tipis. Pada permukaan korion tersusun atas lapisan kitin yang kaku, berwarna putih transparan. Pada salah satu ujungnya terdapat filamen-filamen yang berfungsi untuk mencegah agar telur tidak tenggelam ke dalam medium.

2. Larva

Telur menetas menjadi larva membutuhkan waktu sekitar 24 jam. Larva *D. melanogaster* berwarna putih, memiliki segmen, bentuknya menyerupai cacing, mulut berwarna hitam dengan bentuk kait sebagai pembuat lubang. Pada fase ini asupan nutrisi semakin besar sehingga aktivitas makan semakin meningkat hingga nantinya larva berubah menjadi pupa serta pergerakan relatif cepat. Larva mengalami dua kali molting, tahap antar molting disebut instar. Larva *D. melanogaster* memiliki 3 tahap instar yang disebut dengan larva instar-1, larva instar-2 dan larva instar-3. Perubahan tiap instar membutuhkan waktu 24 jam dan 48 jam diikuti dengan perubahan ukuran tubuh yang makin besar.

3. Pupa

Proses perkembangan pupa sampai menjadi lalat dewasa dibutuhkan waktu sekitar 4-4,5 hari. Tahap awal pupa berwarna kuning muda dan bagian kutikula mulai mengeras, tahap ini mulai terjadi perkembangan organ dan jaringan tubuh lalat. Dalam waktu yang singkat, tubuh menjadi bulat dan sayap lalat menjadi lebih panjang. Warna tubuh pada *D. melanogaster* dewasa yang baru muncul lebih mengkilap dibandingkan dengan *D.*

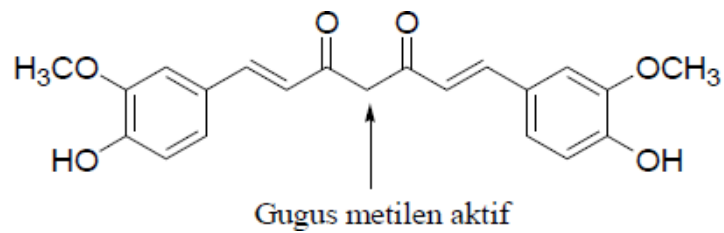
melanogaster yang sudah tua.

4. Dewasa

Terdapat beberapa perbedaan morfologi pada lalat dewasa jantan dan lalat dewasa betina, contohnya bagian posterior abdomen. Pada lalat betina dewasa terdapat garis-garis hitam melintang mulai dari permukaan dorsal sampai bagian tepi. Pada lalat dewasa terdapat juga garis hitam melintang hanya saja pada buntut lalat dewasa memiliki warna hitam pada segmen ujung abdomen. Ukuran tubuh lalat dewasa jantan umumnya lebih kecil dibandingkan lalat dewasa betina. Pada bagian tarsal pertama kaki depan lalat dewasa jantan terdapat bristel berwarna gelap yang disebut *sex comb* (Wahyuni, 2013).

II.3 Kurkumin

Kurkumin merupakan salah satu senyawa polifenol bioaktif utama yang terdapat pada rimpang tanaman *Curcuma longa* L (kunyit). Kunyit (*Curcuma longa* L.) merupakan tanaman dari famili *zingiberaceae* yang digunakan masyarakat sebagai rempah-rempah dan obat-obatan. Komposisi utama penyusun tanaman kunyit yaitu minyak atsiri, borneol, turmerol, zingiberin, sineol, karvon dan kurkumin. Kurkumin telah diketahui memiliki manfaat biologis seperti anti-inflamasi, anti-tumor, penghambat karsinogen-DNA dan anti-oksidan (Natalina dkk, 2009).



Gambar 5. Struktur Kimia Kurkumin (Saputri dan Nigrum, 2010)

Kurkumin (*1,7-bis (4' hidroksi-3 metoksifenil)-1,6 heptadien, 3,5-dion*) merupakan senyawa komponen yang paling penting untuk memberikan warna kuning pada tanaman *Curcuma longa Linn* (Saputri dan Nigrum, 2010). Kurkumin termasuk dalam golongan senyawa polifenol dengan struktur kimia yang mirip dengan senyawa asam ferulat yang banyak digunakan sebagai penguat rasa pada industri makanan (Saputri dan Nigrum, 2010). Serbuk kering rhizome (*turmeric*) mengandung 3-5% kurkumin dan dua senyawa derivatnya dalam jumlah yang kecil yaitu *desmetoksi kurkumin* dan *bisdesmetoksikurkumin*, yang ketiganya sering disebut sebagai *kurkuminoid* (Dandekar dan Gaikar, 2002). Kurkumin tidak larut dalam air tetapi larut dalam etanol atau dimetilsulfoksida (DMSO). Degradasi senyawa kurkumin tergantung pada pH tetapi lebih cepat pada kondisi netral-basa (Aggarwal *et al.*, 2003).

Adapun sifat kimia dan fisika kurkumin, yaitu (Saputri dan Nigrum, 2010):

a. Sifat Kimia

- 1) Melting Point : 183°C
- 2) Molar Mass : 368.38 g/mol
- 3) Tidak larut di dalam air dan eter tetapi larut di dalam alkohol

- 4) Suasana alkali warna akan berubah menjadi merah kecoklatan dan pada suasana asam akan berubah menjadi kuning terang.

b. Sifat Fisika

- 1) Bentuk : serbuk
- 2) Warna : kuning terang

II.4 Polymerase Chain Reaction (PCR)

Polymerase Chain reaction (PCR) adalah teknik untuk melipatgandakan atau amplifikasi untai DNA atau RNA secara selektif in vitro menggunakan sepasang primer oligonukleotida spesifik (Handoyo dan Rudiretna, 2001; Kadri, 2019). Proses mengamplifikasi RNA alat PCR didahului dengan cara *reverse transcriptase* terhadap molekul mRNA sehingga nantinya akan diperoleh molekul *complementary DNA* (cDNA), yang mana nantinya molekul tersebut akan digunakan sebagai cetakan didalam proses PCR.

Metode tersebut dikenal dengan *Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR). Metode RT-PCR sering digunakan karena memiliki keuntungan seperti pengamplifikasian yang cepat dan sensitif untuk menganalisis ekspresi gen lebih akurat. Reaksi amplifikasi ini dimulai dengan melakukan denaturasi DNA hingga menjadi rantai tunggal, kemudian suhu diturunkan sehingga primer akan menempel (*annealing*) pada DNA cetakan yang berantai tunggal. Setelah proses *annealing*, suhu dinaikkan kembali sehingga enzim polimerase melakukan proses polimerase membentuk rantai DNA yang baru. Rantai DNA yang baru digunakan sebagai cetakan bagi

reaksi polimerase berikutnya (Hewajuli dan Dharmayanti, 2014). RT-qPCR berbasis fluoresensi digunakan untuk mendeteksi dan mengukur sejumlah kecil asam nukleat dalam berbagai sampel dari berbagai sumber. Melalui metode ini dapat menghitung kuantifikasi jumlah gen secara langsung menggunakan instrumen PCR (Bustin *et al.*, 2009).

Komponen-komponen yang digunakan pada proses PCR adalah template DNA, sepasang primer (oligonukleotida pendek yang mempunyai urutan nukleotida yang komplementer dengan urutan nukleotida DNA template), *Deoxynucleotide triphosphates* (dNTPs), buffer PCR dan enzim polimerase DNA. Tahap-tahap proses PCR yaitu: (1) pra-denaturasi DNA template; (2) denaturasi DNA template; (3) penempelan primer pada template (annealing); (4) pemanjangan primer (extension) dan (5) pemantapan (postextension). Pada tahap 2-4 adalah tahapan berulang (siklus), di mana pada setiap siklus terjadi duplikasi jumlah DNA (Handoyo dan Rudiretna, 2001).