

**UJI EFEK KURKUMIN TERHADAP EKSPRESI GEN
sod1 DAN *sod2* PADA MODEL AUTOINFLAMASI
*Drosophila melanogaster***

**EFFECT OF CURCUMIN ON THE EXPRESSION OF
sod1 AND *sod2* GENES IN THE
AUTOINFLAMMATORY MODEL *Drosophila
melanogaster***

AZATIL ISHMAH

N111 15 032



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

**UJI EFEK KURKUMIN TERHADAP EKSPRESI GEN *sod1* DAN *sod2*
PADA MODEL AUTOINFLAMASI *Drosophila melanogaster***

**EFFECT OF CURCUMIN ON THE EXPRESSION OF *sod1* AND *sod2*
GENES IN THE AUTOINFLAMMATORY MODEL *Drosophila*
*melanogaster***

SKRIPSI

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

AZATIL ISHMAH

N111 15 032

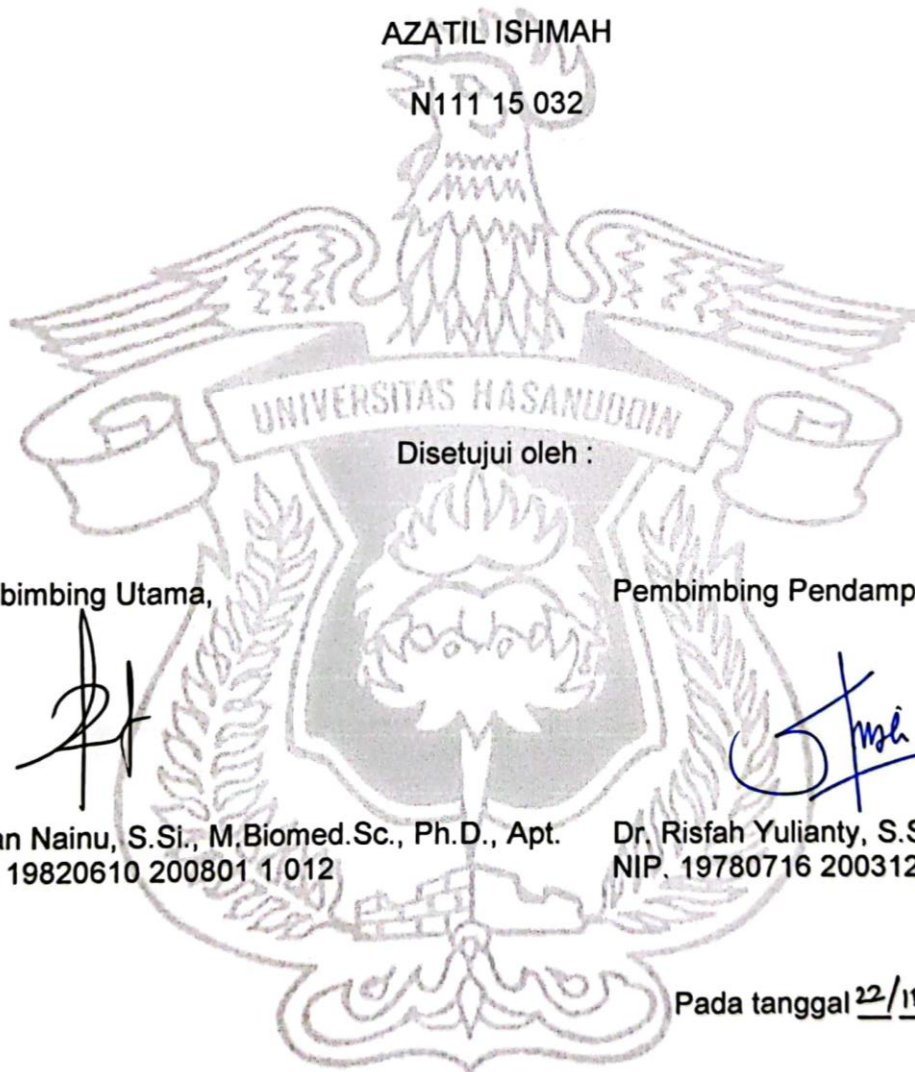
**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2022

UJI EFEK KURKUMIN TERHADAP EKSPRESI GEN *sod1* DAN *sod2* PADA
MODEL AUTOINFLAMASI *Drosophila melanogaster*

AZATIL ISHMAH

N111 15 032



Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

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

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

Pada tanggal 22/11/2022

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

UJI EFEK KURKUMIN TERHADAP EKSPRESI GEN *sod1* DAN *sod2* PADA MODEL AUTOINFLAMASI *Drosophila melanogaster*

Disusun dan diajukan oleh :

Azatil Ishmah
N111 15 032

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
pada tanggal 21/11/2022
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 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, Oktober 2022

Yang Menyatakan


Azatil Ishmah
N11115032

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah *Subhanahu wa ta'ala* atas limpahan rahmat, hidayah, dan karunia-Nya, sehingga skripsi ini dapat diselesaikan. Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini tidak akan berjalan lancar tanpa adanya dukungan dan bantuan dari berbagai pihak. Untuk itu, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-sebesarnya kepada:

1. Bapak Firzan Nainu, S.Si., M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt. selaku pembimbing utama dan dosen penasehat akademik yang bersedia memberikan bimbingan, arahan, motivasi, serta meluangkan waktu kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan masa studinya.
2. Ibu Dr. Risfah Yulianty, S.Si., M.Si., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah bersedia memberikan bimbingan, arahan, dukungan, serta meluangkan waktu kepada penulis dalam penyusunan skripsi ini.
3. Bapak Anshar Saud, S.Si., M.Farm., Apt. dan Ibu Nur Indayanti, S.Si., M.Si. selaku tim penguji yang telah bersedia meluangkan waktu serta memberikan saran dan masukan dalam penyusunan skripsi ini.
4. Dekan, Wakil Dekan, seluruh staf dosen dan pegawai Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas ilmu, bantuan, dan fasilitas yang diberikan kepada penulis selama menempuh studi hingga menyelesaikan skripsi ini.
5. Kedua orang tua penulis, Ayahanda Muhammad Haris Masdar dan Ibunda Jumiaty Bustan, serta saudari Fira dan Amy selaku adik penulis atas doa,

pengorbanan, kasih sayang, serta dukungan moril dan materil yang telah diberikan kepada penulis.

6. UFRG (Unhas *Fly Research Group*), khususnya Oca dan Asbah atas segala ilmu dan bantuan yang diberikan selama penulis melakukan penelitian.
7. Teman-teman angkatan 2015 (PO15ON), khususnya Rika, Beby, Risur, Grace, Vulky, Aldi, dan Yusniar atas dukungan dan pengalaman berharga selama menjadi bagian di dalamnya.
8. Diri sendiri. Terima kasih karena tidak berhenti berjuang. Semoga kedepannya bisa menjalani hidup dengan lebih baik dan tanpa penyesalan.

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

Makassar, Oktober 2022



Azatil Ishmah

ABSTRAK

AZATIL ISHMAH. *Uji Efek Kurkumin terhadap Ekspresi Gen sod1 dan sod2 pada Model Autoinflamasi Drosophila melanogaster (dibimbing oleh Firzan Nainu dan Risfah Yulianty).*

Autoinflamasi merupakan penyakit yang ditandai dengan meningkatnya aktivitas sistem imun alamiah secara berlebihan. Salah satu senyawa yang dapat mengatasi autoinflamasi adalah kurkumin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek kurkumin terhadap ekspresi gen *sod1* dan *sod2* pada model autoinflamasi *Drosophila melanogaster*. Pengujian dilakukan dengan melihat ekspresi gen *sod1* dan *sod2* pada *D. melanogaster* mutan PGRP-LB menggunakan metode RT-qPCR. Hasil uji ekspresi gen menunjukkan bahwa kurkumin dengan konsentrasi 10 μM , 50 μM , dan 250 μM dapat meningkatkan ekspresi gen *sod1* dan *sod2* dibandingkan kelompok kontrol, namun tidak signifikan ($p > 0,05$). Kesimpulan pada penelitian ini adalah tidak terjadi perubahan ekspresi gen *sod1* dan *sod2* dengan pemberian kurkumin pada berbagai konsentrasi yang diujikan di penelitian ini.

Kata kunci: Autoinflamasi, kurkumin, *Drosophila melanogaster*, *sod1*, *sod2*

ABSTRACT

AZATIL ISHMAH. *Effect of Curcumin on the Expression of sod1 and sod2 Genes in the Autoinflammatory Model Drosophila melanogaster* (supervised by Firzan Nainu dan Risfah Yulianty).

Autoinflammatory is a disease characterized by an excessive increase in the activity of the innate immune system. One of the compounds that can overcome autoinflammation is curcumin. This study aimed to determine the curcumin effect on the expression of sod1 and sod2 genes in the autoinflammatory model of *Drosophila melanogaster*. The study observed the expression of sod1 and sod2 genes in *D. melanogaster* PGRP-LB using the RT-qPCR method. The results of the gene expression test showed that curcumin with concentrations of 10 μ M, 50 μ M, and 250 μ M could increase the expression of sod1 and sod2 genes compared to the control group, but not significantly ($p > 0.05$). This study concludes that there was no change in the expression of *sod1* and *sod2* genes with the administration of curcumin at various concentration tested in this study.

Keywords: Autoinflammatory, curcumin, *Drosophila melanogaster*, *sod1*, *sod2*

DAFTAR ISI

	halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	3
I.3 Tujuan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Autoinflamasi	5
II.2 Stress Oksidatif dan Antioksidan Endogen	7
II.3 Kurkumin	10
II.4 <i>Drosophila melanogaster</i>	12
II.5 <i>Polymerase chain reaction</i> (PCR)	14
BAB III METODE PENELITIAN	17
III.1 Alat dan Bahan	17
III.2 Cara Kerja	17

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	22
IV.1 Analisis Ekspresi Gen <i>Sod1</i>	22
IV.2 Analisis Ekspresi Gen <i>Sod2</i>	23
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	25
V.1 Kesimpulan	25
V.2 Saran	25
DAFTAR PUSTAKA	26
LAMPIRAN	32

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Sekuens primer masing-masing gen	20
2. Hasil <i>one-way Anova</i> ekspresi gen <i>sod1</i>	36
3. Hasil uji lanjutan <i>Dunnett</i> ekspresi gen <i>sod1</i>	36
4. Hasil <i>one-way Anova</i> ekspresi gen <i>sod2</i>	36
5. Hasil uji lanjutan <i>Dunnett</i> ekspresi gen <i>sod2</i>	36

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Mekanisme aktivasi NF-kB oleh ROS	6
2. Stress oksidatif dan inflamasi	7
3. Peran dan letak enzim superoksida dismutase	8
4. Mekanisme SOD dan CAT	9
5. Struktur kimia kurkumin	10
6. Mekanisme kerja kurkumin pada beberapa reseptor	12
7. Mekanisme protein PGRP-LB dalam mendegradasi petidoglikan	13
8. Siklus hidup <i>D. melanogaster</i>	14
9. Level ekspresi gen <i>sod1</i> dan <i>sod2</i> pada <i>D. melanogaster</i>	14
10. Prinsip kerja PCR	15
11. Grafik ekspresi gen <i>sod1</i>	22
12. Grafik ekspresi gen <i>sod2</i>	23
13. Penyiapan hewan uji	37
14. Pembuatan pakan	37
15. Isolasi RNA	37
16. Running real time PCR	37

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Penyiapan hewan uji	32
2. Penyiapan sampel	32
3. Penyiapan pakan	33
4. Penyiapan sampel RNA	33
5. Pengujian dengan PCR	34
6. Pembuatan larutan kurkumin	34
7. Pembuatan pakan <i>Drosophila</i>	35
8. Data statistik	36
9. Gambar penelitian	37

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Penyakit autoinflamasi merupakan penyakit yang ditandai dengan meningkatnya sistem imun tubuh secara berlebihan karena adanya aktivitas abnormal dari fungsi sel, seperti monosit, makrofag, neutrofil, dan sel NK (Hashkes & Laxer, 2019). Autoinflamasi dapat disebabkan oleh beragam lesi genetik yang mempengaruhi berbagai jalur imun alamiah, termasuk aktivasi *nuclear factor kappa B* (NF- κ B) dan produksi interferon tipe I (Meier-Schiesser & French, 2021). Informasi mengenai prevalensi autoinflamasi masih sedikit. Pada tahun 2013, sebuah penelitian memperkirakan bahwa kejadian penyakit autoinflamasi sebesar 2,83 pasien per juta orang di Swedia. Saat ini penyakit autoinflamasi diyakini kurang terdiagnosis, sehingga diperlukan perhatian terhadap kasus ini (Kenealy & Creagh, 2018). Data prevalensi autoinflamasi di Indonesia masih belum didokumentasikan.

Penyakit autoinflamasi dapat diamati pada lalat buah (*Drosophila melanogaster*) dengan menggunakan mutan PGRP-LB karena memiliki keidentikan dengan model autoinflamasi pada manusia (Asfa, 2022; Asri *et al.*, 2019; Nainu *et al.*, 2022). Penelitian Asfa (2022) menunjukkan bahwa masa hidup *D. melanogaster* mutan PGRP-LB dapat meningkat dan mencegah penyakit autoinflamasi melalui pemberian kurkumin yang dapat menurunkan ekspresi gen *indy* dan peningkatan ekspresi gen *tom40*. Namun, belum

banyak data yang memperlihatkan bahwa masa hidup *D. melanogaster* hanya dipengaruhi oleh ekspresi gen *indy* dan gen *tom40* atau ada pengaruh dari gen lain seperti *sod1* dan *sod2*.

Masa hidup *D. melanogaster* dapat dipengaruhi oleh beberapa ekspresi gen, termasuk gen *sod1* dan *sod2* (Asbah *et al.*, 2021; Liling *et al.*, 2021). *Superoxide dismutase* (SOD) adalah enzim detoksifikasi pertama dan antioksidan paling kuat di dalam sel. SOD adalah enzim antioksidan endogen penting yang bertindak sebagai komponen sistem pertahanan lini pertama melawan *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Ighodaro & Akinloye, 2018). *Sod1* dan *sod2* memiliki peran dalam metabolisme radikal superoksida menjadi oksigen molekuler dan hidrogen peroksida yang diproduksi oleh reaksi oksidasi-reduksi dan reaksi transpor elektron yang terjadi di mitokondria (Nojima *et al.*, 2015). Produksi ROS yang berlebihan pada sel dapat mengoksidasi membran lipid, protein, mutasi DNA mitokondria, serta meningkatkan aktivasi mediator-mediator inflamasi, dimana hal ini mengarah pada respon imun (Dhanasekaran *et al.*, 2020; van der Burgh & Boes, 2015).

Ketika terjadi paparan radikal bebas, maka akan terjadi peningkatan produksi ROS yang akan menyebabkan gangguan keseimbangan (homeostasis) dalam sel. Selanjutnya, hal tersebut akan memicu timbulnya stres oksidatif yang menyebabkan kerusakan sel (Nakai & Tsuruta, 2021). Hilangnya aktivitas respirasi, akumulasi DNA yang rusak, serta produksi ROS yang berlebihan dapat menjadi indikasi adanya disfungsi mitokondria (Haas, 2019). Rantai transpor elektron pada mitokondria menjadi tempat utama

dihasilkannya ROS di dalam sel yang dapat menyebabkan terjadinya proses inflamasi (Megasari, 2020).

Kurkumin merupakan salah satu senyawa golongan kurkuminoid yang berasal dari tanaman *Curcuma longa* (kunyit). Kurkumin telah terbukti pada penelitian-penelitian *in vitro* dan *in vivo* menjadi suatu molekul yang sangat pleiotropik yang berinteraksi dengan banyak target molekuler inflamasi (He *et al.*, 2015). Manfaat klinis kurkumin dihubungkan dengan sifat antioksidannya yang kuat karena dapat mencegah stres oksidatif oleh ROS dan NO, suatu senyawa radikal bebas yang bertanggung jawab atas nekrosis sel (Asfa, 2022; Chongtham & Agrawal, 2016). Kurkumin dengan konsentrasi 0,01% b/b dapat memperpanjang masa hidup lalat (Evangelakou *et al.*, 2019).

Oleh karena itu, pada penelitian ini digunakan senyawa kurkumin untuk mengetahui efek senyawa tersebut terhadap ekspresi gen *sod1* dan *sod2*. Adapun hasil yang diperoleh dalam penelitian ini akan memberikan gambaran dasar mengenai peran gen *sod1* dan *sod2* terkait mekanisme kerja kurkumin dalam autoinflamasi, serta dapat menjawab pertanyaan apakah kedua gen tersebut memiliki peran dalam meningkatnya masa hidup mutan PGRP-LB pada penelitian sebelumnya.

I.2 Rumusan Masalah

Bagaimana efek kurkumin terhadap ekspresi gen *sod1* dan *sod2* pada model autoinflamasi *D. melanogaster*?

I.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui efek kurkumin terhadap ekspresi gen *sod1* dan *sod2* pada model autoinflamasi *D. melanogaster*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Autoinflamasi

II.1.1 Definisi autoinflamasi

Autoinflamasi merupakan penyakit yang disebabkan oleh sistem pertahanan tubuh alami mengalami disfungsi, dimana sistem pertahanan tubuh merupakan pertahan pertama melawan mikroorganisme dan kerusakan sel (Tartey & Kanneganti, 2020). Penyakit autoinflamasi ditandai dengan peradangan sistemik yang terjadi secara berkala disertai gejala-gejala inflamasi seperti demam, ruam kulit, serositis, limfadenopati maupun radang sendi (Zeft & Spalding, 2012).

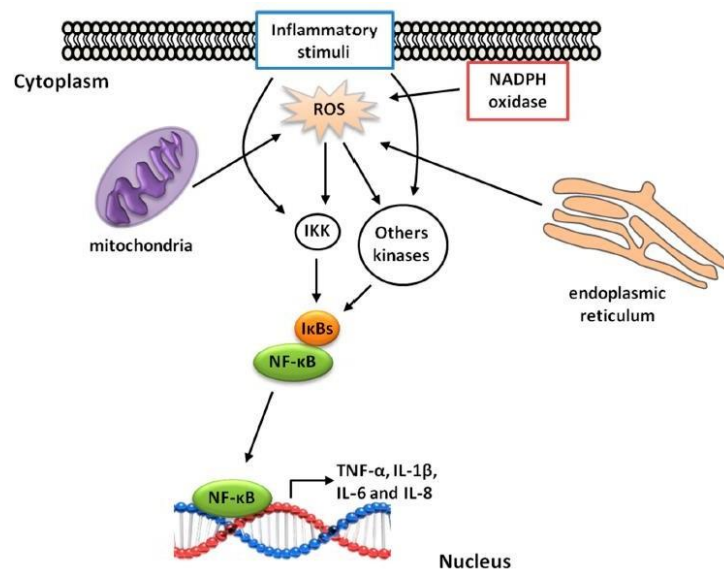
Autoinflamasi awalnya mengacu pada gangguan demam turunan termasuk *familial Mediterranean fever* (FMF), *TNF receptor– associated periodic syndrome* (TRAPS), dan *hyper-IgD syndrome*. Namun, seiring perkembangan ilmu pengetahuan, penyakit lain yang sebelumnya tidak dikategorikan sebagai gangguan demam akhirnya masuk dalam penggolongan penyakit autoinflamasi. Penyakit autoinflamasi dapat diklasifikasikan berdasarkan cara pewarisan yakni monogenik dan poligenik (Meier-Schiesser & French, 2021).

Penyakit autoinflamasi monogenik merupakan salah satu klasifikasi dari penyakit autoinflamasi klasik yang disebabkan karena adanya kelainan gen tunggal, berbeda dengan penyakit autoinflamasi poligenik yang pola

pewarisannya lebih elusif seperti penyakit Behçet, penyakit Crohn, asam urat, aterosklerosis, dan diabetes tipe 2 (Hashkes & Laxer, 2019; Scrambler, n.d.).

II.1.2 Mekanisme/patofisiologi

Salah satu faktor transkripsi yang berperan penting dalam mengatur respon imun, proliferasi sel, apoptosis, dan perkembangan sel yaitu NF- κ B yang diaktivasi oleh ROS yang dihasilkan di mitokondria, oksidasi NADPH, dan retikulum endoplasma yang selanjutnya melewati jalur I κ B kinase (IKK) lalu berpindah ke nukleus dan menstimulasi transkripsi gen target seperti TNF- α , IL-1 β , IL-6 dan IL-8 yang merupakan sitokin proinflamasi (Minatel *et al.*, 2016).

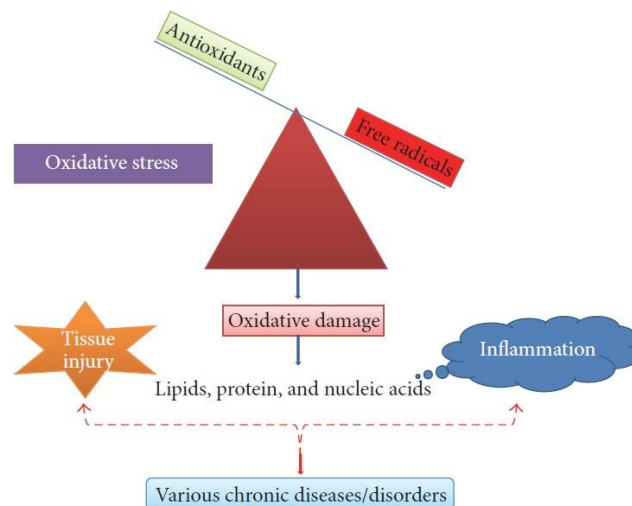


Gambar 1. Mekanisme aktivasi NF- κ B oleh ROS (Minatel *et al.*, 2016)

II.2 Stress Oksidatif dan Antioksidan Endogen

II.2.1 Stress oksidatif

Stress oksidatif terjadi ketika produksi dan eliminasi dari ROS tidak seimbang sehingga antioksidan tidak mampu menangkal kadar ROS yang berlebihan (Pisoschi *et al.*, 2021). Pada keadaan normal, pembentukan ROS dan mekanisme pertahanan antioksidan endogen seimbang. Namun, kondisi abnormal dapat memicu stress oksidatif yang dapat menyebabkan kerusakan pada biomolekul seperti DNA, protein, membran lipid hingga kematian sel dan inflamasi (Arulselvan *et al.*, 2016; Behl *et al.*, 2021).

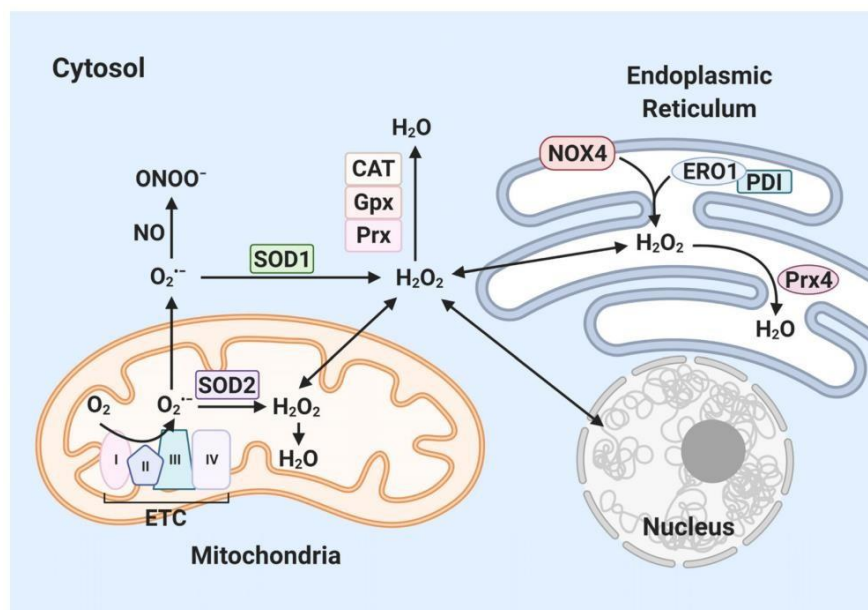


Gambar 2. Stress oksidatif dan inflamasi: ketidakseimbangan antioksidan dan radikal bebas (Arulselvan *et al.*, 2016)

Secara umum, jenis ROS terdiri dari superoksida (O_2^-) yang bersifat sangat reaktif dengan waktu paruh yang singkat dan hidrogen peroksida (H_2O_2) dengan tingkat reaktivitas lebih rendah yang memungkinkan molekul untuk masuk ke inti sel sehingga bersifat lebih merusak DNA dibandingkan jenis radikal lainnya (Behl *et al.*, 2021; Tsang *et al.*, 2014).

II.2.2 Antioksidan endogen

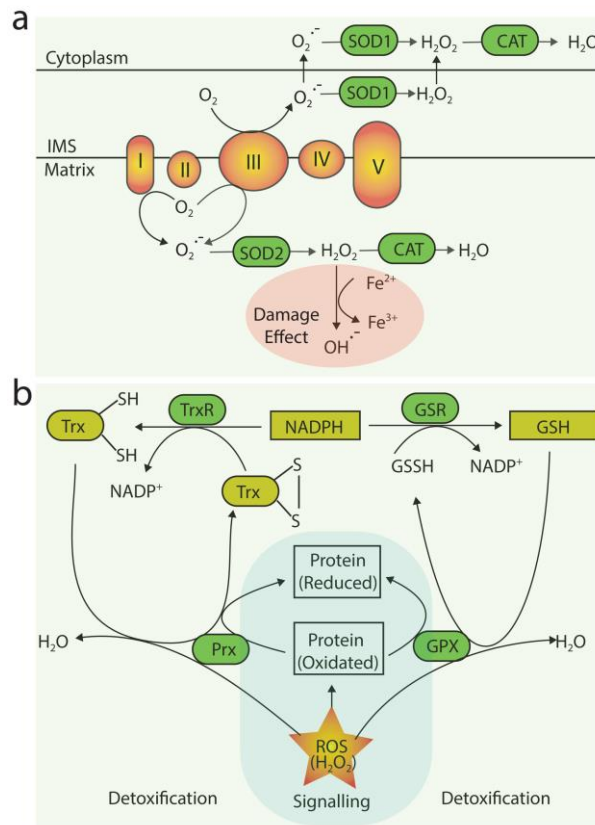
Antioksidan endogen merupakan antioksidan alami yang melawan radikal bebas dari dalam tubuh. Sehingga, jika terjadi ketidakseimbangan antara antioksidan endogen dengan radikal bebas maka diperlukan antioksidan eksogen yang diperoleh dari luar tubuh seperti makanan (Ighodaro & Akinloye, 2018).



Gambar 3. Peran dan letak enzim superoksida dismutase (Lee & Song, 2021)

Antioksidan berfungsi sebagai pelindung sel dari radikal bebas dan efek toksik serta berkontribusi dalam mencegah penyakit. Enzim utama yang berperan penting yaitu *superoxide dismutase* (SOD), *catalase* (CAT), *glutathione peroxidase* (GPx) dan *glutathione reductase* (GRx). SOD merupakan enzim pertahanan utama yang melawan radikal bebas dengan mengkatalisis reaksi dismutasi dari anion superoksida menjadi oksigen dan hidrogen peroksida (Parwata, 2015).

Dalam sel eukariotik, enzim SOD dibedakan menjadi 3, yaitu *sod1* atau CuZnSOD yang ditemukan di sitoplasma, *sod2* atau MnSOD yang terletak di mitokondria, dan *sod3* yang terdapat pada beberapa jaringan sehingga disebut juga enzim ekstraseluler (Tsang *et al.*, 2014).



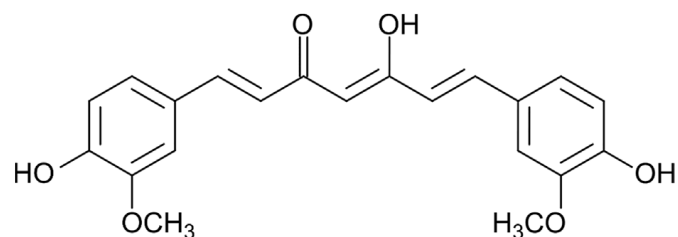
Gambar 4. Mekanisme SOD dan CAT (Che *et al.*, 2017)

Mitokondria memerlukan *sod2* untuk melindungi mtDNA terhadap kerusakan akibat ROS. Telah ditunjukkan bahwa *downregulation sod2* merusak fosforilasi oksidatif sedangkan ekspresi berlebih *sod2* menyebabkan peningkatan produksi ATP melalui respirasi mitokondria. Satu studi baru-baru ini menunjukkan bahwa peningkatan ekspresi *sod2* dalam sel kanker menopang aliran H_2O_2 yang berasal dari mitokondria, yang diperlukan untuk mempertahankan aktivitas *AMP-activated protein kinase* (AMPK),

menyebabkan peralihan metabolisme dari respirasi mitokondria ke glikolisis. Fungsi lain yang relevan adalah bahwa *sod2* mengaktifkan pensinyalan NF- κ B (Asbah *et al.*, 2021; Che *et al.*, 2017).

II.3 Kurkumin

Kurkumin (*curcumin*) adalah salah satu senyawa golongan flavonoid yang termasuk kurkuminoid dengan ciri khas adanya warna kuning dari pigmennya. Meskipun kurkumin umumnya mengacu pada 1,7-bis(4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,6-heptadiena-3,5-dion, senyawa ini juga dikenal sebagai "kurkumin I". Kurkumin juga dikenal sebagai *diferuloylmethane* dengan warna kristal kuning-oranye, berat molekul 368,39 gram/mol, titik leleh 183°C, dan dengan rumus kimia $C_{21}H_{20}O_6$ (Sharifi-Rad *et al.*, 2020).



Gambar 5. Struktur kimia kurkumin (Sharifi-Rad *et al.*, 2020)

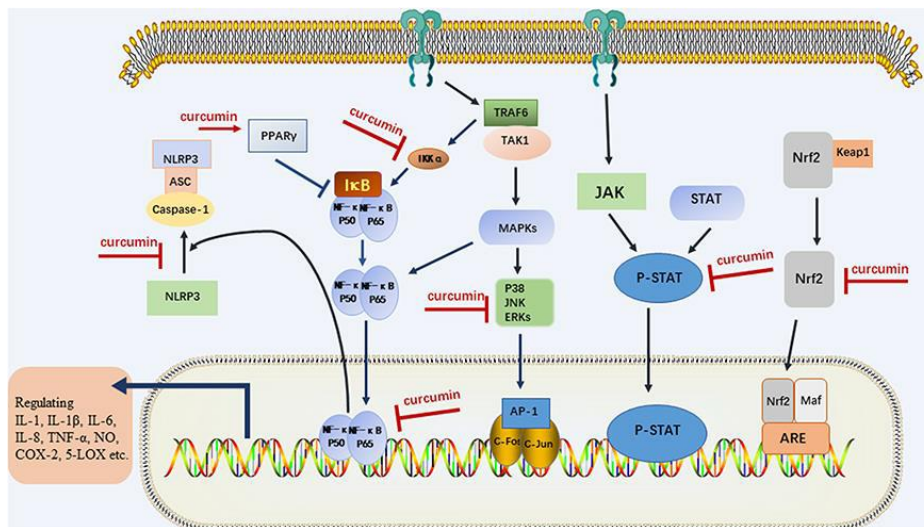
Ada dua senyawa tambahan yang dikenal sebagai kurkumin, yaitu kurkumin II [demetoksikurkumin, 1-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-7-(4-hidroksifenil)-1,6-heptadiena-3,5-dion] dan kurkumin III [bisdemetoksikurkumin, 1,7-bis(4-hidroksifenil)-1,6-heptadiena-3,5-dion] (Mayadevi *et al.*, 2012).

Senyawa kurkumin banyak terdapat pada tanaman kunyit (*C. longa*) dan temulawak (*C. xanthorrhiza*). Kurkumin dapat larut pada etanol dan asam

asetat glasial maupun pelarut organik lain. Kurkumin sukar larut di dalam air. Senyawa kurkumin dapat rusak karena suasana basa ataupun apabila terkena cahaya (Patel *et al.*, 2020; Sharifi-Rad *et al.*, 2020). Banyak sifat farmakologis yang bermanfaat telah diberikan kepada spesies *Curcuma*, termasuk antiproliferatif, anti-inflamasi, antikanker, antidiabetes, hipokolesterolemia, antitrombotik, antihepatotoksik, anti-diare, karminatif, diuretik, antirematik, hipotensi, antimikroba, antivirus, antioksidan, larvasida, efek insektisida, anti racun, antitirosinase, dan lain-lain (Sharifi-Rad *et al.*, 2020).

Kurkumin telah terbukti dapat menghambat beberapa radikal bebas, diantaranya, ROS XO (*Xanthine oksidase*), MAO, dan NaDPH Oksidase (NOX) (Asfa *et al.*, 2022). Kurkumin bekerja dengan mekanisme mendonorkan atom hidrogen sekaligus gugus hidroksil fenolik, -diketo, serta gugus metilen, sehingga dapat menetralkan radikal bebas (Sun *et al.*, 2022). Kurkumin juga memiliki mekanisme pencegahan apoptosis melalui jalur mitokondria (Hussain *et al.*, 2018).

Kurkumin dapat mengaktifkan reseptor koaktivator 1-alfa (PGC-1 α) melalui *AMP-activated protein kinase* (AMPK)-Sirt1. Adanya kurkumin juga menghasilkan peningkatan PGC-1 alfa melalui jalur mitokondria (Hussain *et al.*, 2018). Efek antiinflamasi kurkumin juga didapatkan dari mekanisme penghambatan jalur-jalur mediator inflamasi seperti jalur NF- κ B, JAK/STAT, MAPK, dan *Wnt/ β catenin* (Kahkhaie *et al.*, 2019).



Gambar 6. Mekanisme kerja kurkumin pada beberapa reseptor (Hussain *et al.*, 2018)

II.4 *Drosophila melanogaster*

II.4.1 Deskripsi *Drosophila melanogaster*

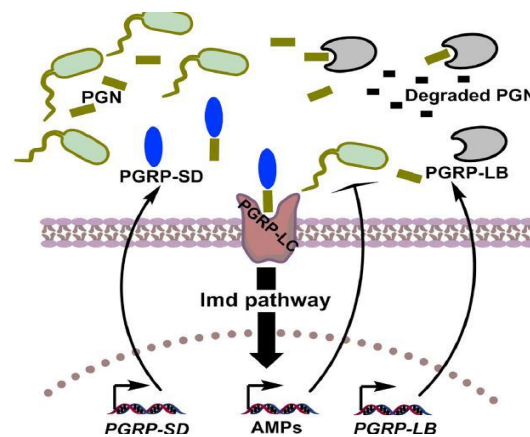
D. melanogaster merupakan hewan invertebrata berukuran kecil yaitu 3 mm yang telah banyak digunakan dalam bidang ilmu biologi modern. Hewan ini memiliki 4 kromosom, namun memiliki kemiripan genetik sebesar 75% dengan manusia (Pandey & Nichols, 2011).

D. melanogaster sering digunakan dalam proses penelitian karena biaya yang diperlukan sedikit dan pemeliharaannya yang sederhana. Selain itu, tingkat reproduksinya tinggi dan masa hidup lebih singkat sekitar 2-3 bulan, tidak memerlukan kode etik, dan dapat dibuat dalam bentuk mutan/transgenik (Nainu, 2018).

II.4.2 Mutan PGRP-LB *Drosophila melanogaster*

Mutan PGRP-LB merupakan salah satu spesies mutan *D. melanogaster* yang kekurangan protein PGRP-LB. Protein pengenal peptidoglikan memainkan peran penting dalam mengatur respon imun serangga (Parades

et.al., 2011). Penghambatan sistem imun melalui degradasi peptidoglikan merupakan fungsi protein PGRP-LB sebagai regulator negatif dari jalur pensinyalan Imd/NF- κ B (Latsenko *et.al.*, 2016).

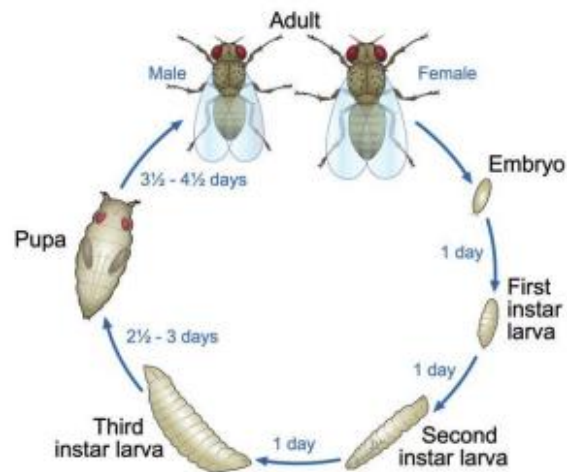


Gambar 7. Mekanisme protein PGRP-LB dalam mendegradasi peptidoglikan (latsenko *et al.*, 2016)

Peptidoglikan *D. melanogaster* dapat diperoleh dari flora normal usus yang mati. Hal ini memungkinkan flora normal yang mati untuk berpindah dari usus ke saluran sistemik sehingga menginduksi sistem kekebalan tubuh (Charroux *et al.*, 2018).

II.4.3 Siklus hidup *Drosophila melanogaster*

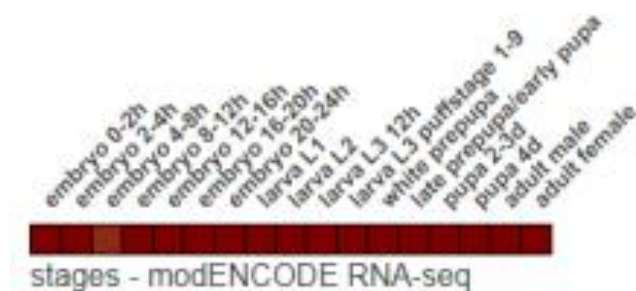
Siklus hidup *D. melanogaster* berkisar antara 10-12 hari pada suhu 25°C dan dibagi menjadi beberapa tahapan yaitu embrio, larva (larva instar pertama, larva instar kedua, larva instar ketiga), pupa, dan kemudian menjadi lalat dewasa (Alaraby *et al.*, 2016; Orlans *et al.*, 2021).



Gambar 8. Siklus hidup *D. melanogaster* (Ong et al., 2015)

Proses transformasi *D. melanogaster* berlangsung cepat. Dalam sehari, embrio berubah menjadi larva instar pertama. Kemudian bermetamorfosis menjadi larva instar 2 dan 3 masing-masing selama 1 dan 2 hari. Selain itu, dalam kasus larva instar 3, mereka berubah menjadi kepompong selama 2,5 hingga 3 hari dan menjadi dewasa setelah 3,5 hari hingga 4,5 hari (Ong., 2015).

II.4.4 Level ekspresi gen *sod1* dan *sod2* pada *Drosophila melanogaster*



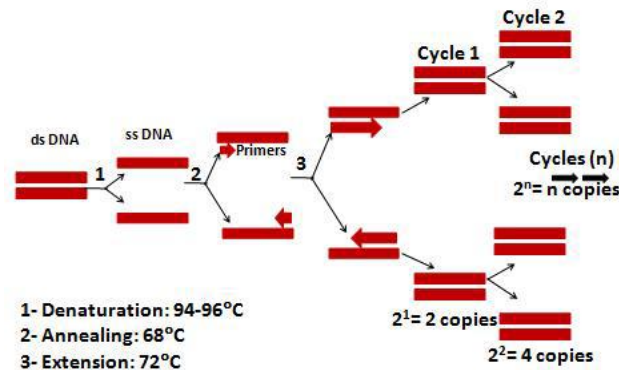
Gambar 9. Level ekspresi gen *sod1* dan *sod2* pada *D. melanogaster* (Ong et al., 2015)

II.5 Polymerase chain reaction (PCR)

Teknik ini dikembangkan pada tahun 1983 oleh Kary Mullis, PCR sekarang menjadi teknik umum dan penting yang digunakan di laboratorium

penelitian medis dan biologi untuk berbagai aplikasi. PCR bekerja dengan melakukan kloning DNA untuk pengurutan, filogeni berbasis DNA, atau analisis fungsional gen; diagnosis penyakit keturunan; identifikasi sidik jari genetik (digunakan dalam ilmu forensik dan pengujian paternitas) (Rahman *et al.*, 2013).

Ada beberapa macam metode PCR, diantaranya RT-PCR, qPCR, RT-PCR/qPCR *combined*. *Reverse transcription quantitative real-time PCR* (RT-qPCR) merupakan kombinasi RT-PCR dan qPCR. RT-qPCR mengubah RNA menjadi cDNA oleh enzim *reverse transcriptase*. Pengubahan cDNA untai ganda yang dihasilkan kemudian diamplifikasi oleh DNA polimerase sehingga dihasilkan cDNA untai ganda (Whaeeb *et al.*, 2021),



Gambar 10. Prinsip kerja PCR (Whaeeb *et al.*, 2021)

Proses PCR terdiri dari 3 tahap yaitu denaturasi, *annealing*, dan *extension* (Rahman *et al.*, 2013):

- a. Denaturasi merupakan proses untuk mengubah untai DNA ganda menjadi untai DNA tunggal dengan memecah ikatan hidrogen yang menghubungkan dua untai DNA. Proses ini terjadi pada suhu 94-96°C.

- b. *Annealing* merupakan proses penempelan primer ke untai DNA tunggal. Suhu pada tahap ini bergantung pada jenis primer yang digunakan berkisar antara 40-60°C.
- c. *Extension* atau tahap pemanjangan rantai dimana primer dapat diperpanjang oleh DNA polymerase sepanjang untai DNA sehingga mencapai seluruh panjang dari DNA sasaran. Suhu pada tahap ini bergantung pada DNA polymerase.