

**UJI EFEK KURKUMIN TERHADAP EKSPRESI GEN
pepck DAN *cat* PADA SMURF *Drosophila
melanogaster***

**EFFECT OF CURCUMIN ACTIVITIES ON THE
EXPRESSION OF *pepck* AND *cat* GENES IN
Drosophila melanogaster SMURF**

**RIZKYA CHAERATUNNISA
N011191074**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**UJI EFEK KURKUMIN TERHADAP EKSPRESI GEN
pepck DAN *cat* PADA SMURF *Drosophila
melanogaster***

**EFFECT OF CURCUMIN ACTIVITIES ON THE
EXPRESSION OF *pepck* AND *cat* GENES IN
Drosophila melanogaster SMURF**

**RIZKYA CHAERATUNNISA
N011191074**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**UJI EFEK KURKUMIN TERHADAP EKSPRESI GEN *pepck* DAN *cat*
PADA *SMURF Drosophila melanogaster***

**EFFECT OF CURCUMIN ACTIVITIES ON THE EXPRESSION OF *pepck*
AND *cat* GENES IN *Drosophila melanogaster* SMURF**

SKRIPSI

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

**RIZKYA CHAERATUNNISA
N011191074**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

UJI EFEK KURKUMIN TERHADAP EKSPRESI GEN *pepck* DAN *cat* PADA
SMURF Drosophila melanogaster

RIZKYA CHAERATUNNISA

N011191074

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,



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

Pembimbing Pertama,



Rangga Meidianto Asri, S.Si., M.Pharm.Sc., Apt.
NIP. 19890518 201404 1 001

Pada tanggal 16 Januari..... 2023

SKRIPSI
UJI EFEK KURKUMIN TERHADAP EKSPRESI GEN *pepck* DAN *cat*
PADA SMURF *Drosophila melanogaster*

EFFECT OF CURCUMIN ACTIVITIES ON THE EXPRESSION OF *pepck*
AND *cat* GENES IN *Drosophila melanogaster* SMURF

Disusun dan diajukan oleh :

RIZKYA CHAERATUNNISA
N011191074

telah dipertahankan dihadapan Panitia Ujian Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
Pada tanggal 16 01 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

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

Pembimbing Pertama,

Rangga Meidianto Asri, S.Si., M.Pharm.Sc., Apt.
NIP. 19890518 201404 1 001

Ketua Program Studi S1 Farmasi,
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin



Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 19860416 201012 2 009

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Rizkya Chaeratunnisa

NIM : N011191074

Program Studi : Farmasi

Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul "Uji Efek Kurkumin Terhadap Ekspresi Gen *pepck* dan *cat* Pada *Smurf Drosophila melanogaster*" adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila dikemudian hari Skripsi karya saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 16 Januari 2023

Yang Menyatakan



Rizkya Chaeratunnisa

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhanahu wa ta'ala atas berkat, rahmat, dan petunjuk-Nya, sehingga skripsi ini dapat diselesaikan. Dalam pembuatan skripsi penulis tidak terlepas bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Untuk itu, penulis akan menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

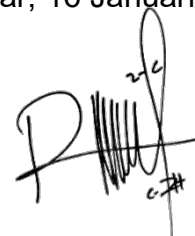
1. Bapak Firzan Nainu, S.Si., M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt. selaku pembimbing utama yang telah membimbing, memberikan arahan dan motivasi, serta telah meluangkan waktu kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Bapak Rangga Meidianto Asri, S.Si., M.Pharm.Sc., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah membimbing, memberikan masukan serta saran dan telah meluangkan waktu kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
3. Ibu Dr. Risfah Yulianty, S.Si., M.Si., Apt. dan Bapak Anshar, S.Si., M.Farm., Apt. selaku tim penguji yang telah meluangkan waktu untuk memberikan saran dan masukan yang membangun kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan 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, serta saudara penulis atas doa, perhatian, kasih sayang, dukungan baik secara moril maupun materil kepada penulis

dalam mencapai kesuksesannya.

6. Teman-teman UFRG, terutama Annisa, Mufliha, Tami, Ica, kak Asbah, Jonathan, Akram, dan kak Try yang selalu memberikan ilmu dan bantuan dalam menyelesaikan penelitian ini.
7. Teman-teman Quman, Venturini, Nona, Icha, Mufliha, Shabrina, Kania, Annisa, Muta, Tami, Fitriani dan Mutiara yang selalu memberikan dukungan dan bantuan kepada penulis dalam menyusun skripsi ini.
8. Teman-teman Korps Asisten Biofarmaks yang banyak memberikan masukan dan saran kepada penulis selama penyusunan skripsi ini.
9. Teman-teman DEX19EN dan semua pihak yang telah banyak membantu yang tidak sempat disebutkan namanya satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan masukan yang membangun dari berbagai pihak. Semoga karya ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya ilmu farmasi.

Makassar, 16 Januari 2023

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Rizky Chaeratunnisa', with a stylized flourish at the end.

Rizky Chaeratunnisa

ABSTRAK

RIZKYA CHAERATUNNISA. *Uji Aktivitas Kurkumin Terhadap Ekspresi Gen *pepck* dan *cat* pada *Smurf D. melanogaster* (dibimbing oleh Firzan Nainu dan Rangga Meidianto Asri)*

Saluran gastrointestinal memegang peranan penting bagi tubuh, salah satunya yaitu usus. Penurunan fungsi fisiologis usus terjadi seiring dengan proses penuaan, yang ditandai salah satunya dengan terjadinya *leaky gut* atau peningkatan permeabilitas usus. *Leaky gut* dapat menyebabkan infeksi pada usus, organisme rentan terhadap penyakit yang berujung pada kematian.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian kurkumin terhadap gen yang diduga memiliki hubungan dengan penuaan dan permeabilitas usus yaitu *pepck* dan *cat*.

Dalam penelitian ini digunakan *Drosophila melanogaster* yang diinduksi *leaky gut* menggunakan larutan *dextran sodium sulfate* 5% dan dikelompokkan menjadi 5 kelompok pengujian, yaitu kontrol tanpa perlakuan, kontrol pelarut dan kurkumin dengan konsentrasi 250 μ M, 50 μ M, dan 10 μ M yang dilanjutkan dengan uji survival. Kemudian dilakukan uji ekspresi gen menggunakan metode RT-qPCR.

Hasil uji survival menunjukkan adanya peningkatan masa hidup dengan pemberian kurkumin pada konsentrasi 250 μ M. Uji ekspresi gen *pepck* menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kelompok tanpa perlakuan dan kelompok perlakuan kurkumin 250 μ M. Uji ekspresi gen *cat* menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara kelompok perlakuan kurkumin 250 μ M dengan kelompok tanpa perlakuan dan kontrol pelarut. Berdasarkan hasil yang diperoleh, disimpulkan bahwa pemberian kurkumin mempengaruhi masa hidup dan level ekspresi gen *pepck* dan *cat* bergantung pada konsentrasi yang diberikan. Pemberian kurkumin juga dapat mengatasi *leaky gut* pada *smurf D. melanogaster*.

Kata kunci: *cat*, *Drosophila melanogaster*, kurkumin, *Leaky gut*, *pepck*.

ABSTRACT

RIZKYA CHAERATUNNISA. *Effect of Curcumin Activities on the Expression of pepck and cat Genes in Drosophila melanogaster Smurf* (supervised by Firzan Nainu and Rangga Meidianto Asri)

The gastrointestinal tract plays an important role in the body, one of which is the intestine. Decreased intestinal physiological function occurs along with the aging process, characterized by leaky gut or increased intestinal permeability. A leaky gut can cause infection in the intestine, the organism is susceptible to disease which can lead to death.

This study aims to determine the effect of curcumin administration on genes that are thought to have a relationship with aging and intestinal permeability, namely pepck and cat.

In this study, *Drosophila melanogaster* was induced by leaky gut using 5% dextran sodium sulfate solution and grouped into 5 test groups, namely untreated control, solvent control, and curcumin with concentrations of 250 μ M, 50 μ M, and 10 μ M followed by a survival test. Then a gene expression test was performed using the RT-qPCR method.

The results of the survival test showed an increase in survival time by administering curcumin at a concentration of 250 μ M. The pepck gene expression test showed significant differences between the untreated and 250 μ M curcumin-treated groups. The cat gene expression test showed a significant difference between the 250 μ M curcumin treatment group and the untreated and solvent control groups. Based on the results obtained, it was concluded that the administration of curcumin affected the life span and expression levels of the pepck and cat genes depending on the concentrations given. Giving curcumin can also overcome leaky gut in *D. melanogaster*.

Keywords: *cat*, *Drosophila melanogaster*, curcumin, leaky gut, *pepck*.

DAFTAR ISI

	halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	VII
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	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 <i>Leaky Gut</i>	5
II.2 <i>Smurf Fly</i>	7
II.3 Kurkumin	8
II.3.1 Deskripsi	8
II.3.2 Indikasi	9
II.4 <i>Drosophila melanogaster</i>	10
II.3.1 Deskripsi	10
II.3.2 Siklus Hidup	11

II.5	Ekspresi Gen	12
II.4.1	Gen <i>catalase</i>	12
II.4.2	Gen <i>pepck</i>	13
II.4.3	Ekspresi Gen pada <i>Drosophila melanogaster</i>	14
II.6	PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)	15
BAB III METODE KERJA		17
III.1	Alat dan Bahan	17
III.2	Metode Kerja	17
III.2.1	Penyiapan Hewan Uji (<i>Drosophila melanogaster</i>)	17
III.2.2	Pembuatan Pakan <i>Drosophila melanogaster</i>	18
III.2.3	Uji Dosis Dekstran	18
III.2.4	Pembuatan Pakan Biru <i>Drosophila melanogaster</i>	19
III.2.5	Preparasi Sampel Kurkumin	19
III.2.6	Pemberian Kurkumin dan Pengamatan survival <i>Drosophila melanogaster</i>	19
III.2.7	Penyiapan Sampel RNA	20
III.2.8	Analisis Ekspresi Gen	21
III.2.9	Analisis Data	22
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		23
IV.1	Hasil Uji Survival	23
IV.2	Pemeriksaan Analisis Gen	25
IV.1.1	Uji Ekspresi Gen <i>pepck</i>	25
IV.1.2	Uji Ekspresi Gen <i>cat</i>	26
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		28
V.1	Kesimpulan	28

V.2 Saran	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	36

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Sekuens primer masing-masing gen	22
2. Hasil <i>one-way anova</i> ekspresi gen <i>pepck</i>	40
3. Hasil uji lanjutan <i>Tukey's Multiple Comparison</i> ekspresi gen <i>pepck</i>	41
4. Hasil <i>one-way anova</i> ekspresi gen <i>cat</i>	41
5. Hasil uji lanjutan <i>Tukey's Multiple Comparison</i> ekspresi gen <i>cat</i>	41

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Mekanisme terjadinya peningkatan permeabilitas usus (<i>Leaky gut</i>)	6
2. Perbandingan <i>D. melanogaster non-smurf</i> dan <i>smurf</i>	7
3. Struktur kurkumin	8
4. Siklus hidup <i>D. melanogaster</i>	11
5. Mekanisme kerja katalase	12
6. Mekanisme kerja PEPCK	14
7. Level ekspresi Gen <i>pepck</i>	14
8. Level ekspresi gen <i>catalase</i>	15
9. Skema kerja RT-qPCR	16
10. Grafik survival <i>D. melanogaster</i> dengan pemberian kurkumin	23
11. Hasil ekspresi gen <i>pepck</i> setelah pemberian kurkumin	25
12. Hasil analisis ekspresi gen <i>cat</i> setelah pemberian kurkumin	26
13. Penyiapan hewan uji	42
14. Pengujian dosis dextran	39
15. Pembuatan pakan	42
16. Pembuatan pakan kurkumin	42
17. Isolasi RNA	42
18. Pengujian ekspresi gen	42

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Preparasi sampel	36
2. Penyiapan hewan uji	36
3. Pembuatan pakan	36
4. Pengujian dextran	37
5. Pengujian <i>smurf</i>	37
6. Penyiapan pakan pengujian	37
7. Penyiapan sampel RNA	38
8. Analisis ekspresi gen	38
9. Perhitungan pengenceran kurkumin	39
10. Data statistik	40
11. Dokumentasi penelitian	42

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Saluran gastrointestinal memegang peranan penting dalam tubuh manusia untuk memastikan pencernaan dan penyerapan nutrisi yang memadai bagi tubuh (An *et al.*, 2018). Barrier epitel usus memiliki peran penting dalam melindungi mukosa pada saluran gastrointestinal khususnya pada bagian usus dan dalam mempertahankan homeostasis. Barrier epitel usus ini tidak hanya melindungi lapisan dinding usus tetapi juga mengatur jalannya mikroorganisme, toksin, antigen dan molekul proinflamasi (Farré *et al.*, 2020).

Penurunan fungsi dari barrier epitel usus terjadi seiring dengan proses penuaan. Penuaan merupakan suatu proses yang pasti akan dialami oleh seluruh manusia. Proses penuaan ditandai dengan hilangnya integritas fisiologis secara progresif yang dapat menyebabkan gangguan fungsi, mudah terserang berbagai macam penyakit dan peningkatan kerentanan terhadap kematian (Dumic *et al.*, 2019). Penurunan fungsi dari barrier epitel usus dapat meningkatkan permeabilitas usus (*leaky gut*) dan menyebabkan infeksi pada usus serta gejala-gejala gastrointestinal (Wilms *et al.*, 2020). Peningkatan *reactive oxygen species* (ROS) selama proses penuaan menjadi salah satu penyebab peningkatan permeabilitas usus (Kuhn *et al.*, 2018). Jumlah ROS yang berlebihan menyebabkan terjadinya apoptosis pada sel epitel usus yang

mengakibatkan terjadinya peningkatan permeabilitas usus (Aviello & Knaus, 2016).

ROS yang berlebih dapat dinetralkan dengan antioksidan. Antioksidan dapat menekan peningkatan antioksidan yang selanjutnya dapat mengatasi *leaky gut* yang terjadi (Ballway & Song, 2021). Tubuh memiliki beberapa antioksidan endogen diantaranya *superoxide dismutase (sod)*, *catalase (cat)*, dan *glutathione peroxidase (gpx)*. *cat* merupakan antioksidan intraseluler yang melawan radikal bebas dengan mengubah hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi H_2O dan O_2 (Shin *et al.*, 2018). Penelitian yang dilakukan oleh Chen dan tim (2022), menyebutkan bahwa peningkatan level ekspresi gen *cat* dapat meningkatkan masa hidup dan kualitas hidup dari hewan uji (Chen *et al.*, 2020).

Berbeda dengan gen *pepck (phosphoenolpyruvate carboxykinase)* yang berperan dalam proses glukoneogenesis dan merupakan faktor utama dalam homeostasis. Gen *pepck* merupakan salah satu gen yang berkaitan dengan proses penuaan. Ekspresi berlebih gen *pepck* memiliki kemampuan untuk meningkatkan masa hidup dari hewan uji dan proses glukoneogenesis yang terjadi dapat meningkatkan kualitas hidup selama penuaan (Onken, Kalinava and Driscoll, 2020; Carlson *et al.*, 2015).

Peningkatan level ekspresi gen antioksidan endogen dapat diinduksi oleh senyawa bahan alam, salah satunya yaitu kurkumin. Kurkumin merupakan senyawa golongan polifenol alami. Kurkumin dapat bekerja

dengan meningkatkan antioksidan endogen dan juga sebagai antioksidan eksogen (Araujo *et al.*, 2022). Efek antioksidan kurkumin memiliki potensi besar untuk mengurangi kerusakan sel terkait usia yang disebabkan oleh *reactive oxygen species* (ROS) yang juga dapat digunakan dalam mengatasi *leaky gut* atau peningkatan permeabilitas usus (Huang *et al.*, 2021; Zia *et al.*, 2021; Bielak-Zmijewska *et al.*, 2019).

Sebuah metode yang telah dikembangkan dalam pemeriksaan *leaky gut* adalah metode *smurf fly* dengan menggunakan hewan uji *Drosophila melanogaster* dengan pemberian pakan biru. *Smurf* ditandai dengan perubahan warna biru pada tubuh *D. melanogaster* yang menunjukkan adanya peningkatan permeabilitas usus pada *D. melanogaster* (Pereira *et al.*, 2018).

Terkait peranan *catalase* sebagai antioksidan yang mampu mengatasi ROS terkait penuaan dan *pepck* dalam proses glukoneogenesis yang juga berperan dalam proses penuaan serta dapat meningkatkan masa hidup, maka pada penelitian ini akan dilakukan pengujian efek senyawa kurkumin terhadap ekspresi gen *catalase* dan *pepck* pada model *smurf Drosophila melanogaster* akibat *leaky gut* sebagai salah satu tanda penuaan.

I.2 Rumusan Masalah

Bagaimana efek pemberian kurkumin terhadap ekspresi gen *cat* dan *pepck* serta hubungannya dengan *leaky gut* pada model hewan uji *Drosophila melanogaster*?

I.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui efek pemberian kurkumin terhadap ekspresi gen *cat* dan *pepck* serta hubungannya dengan *leaky gut* pada model hewan uji *Drosophila melanogaster*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

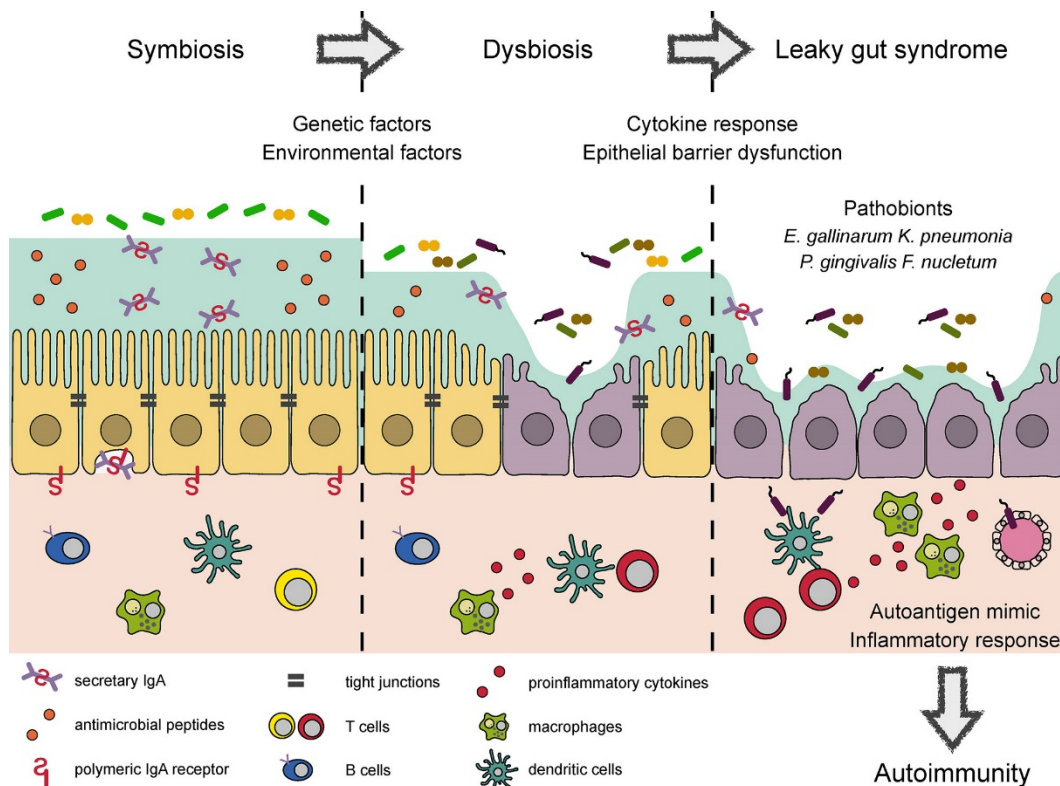
II.1 *Leaky Gut*

Usus memiliki peranan penting dalam proses absorpsi nutrisi, ion dan komponen lain yang penting bagi tubuh manusia serta sebagai penghalang dari zat-zat berbahaya (Stewart *et al.*, 2017). Barrier epitel usus berperan penting dalam mencegah masuknya mikroorganisme patogen dan zat beracun luminal sekaligus mengatur penyerapan nutrisi, elektrolit dan air dari lumen ke sirkulasi sistemik (Fukui, 2016).

Disfungsi barrier epitel usus menyebabkan terjadinya peningkatan permeabilitas usus (*leaky gut*) sehingga berbagai zat berbahaya dapat menembus usus dan menuju ke saluran sistemik yang dapat menyebabkan infeksi pada usus serta gangguan pada sistem gastrointestinal (Paray *et al.*, 2020; Fukui, 2016; Wilms *et al.*, 2020). Peningkatan permeabilitas usus juga disebabkan oleh faktor endogen (misalnya stres psikologis, peradangan usus) dan faktor eksogen (misalnya diet, asupan alkohol) (Vanuytsel *et al.*, 2021).

Peningkatan permeabilitas usus juga dapat terjadi seiring dengan bertambahnya usia (penuaan). Pada proses penuaan terjadi penurunan kognisi dan/atau fungsi fisik terkait usia, salah satunya yaitu terjadinya peningkatan inflamasi kronik. Peningkatan inflamasi dikaitkan dengan peningkatan permeabilitas usus yang tidak normal pada orang lanjut usia

(Ahmadi *et al.*, 2020). Peningkatan *reactive oxygen species* (ROS) yang terjadi pada proses penuaan, juga dapat memicu peningkatan permeabilitas usus. Stres oksidatif yang berlebihan akan mengakibatkan inflamasi pada usus dan apoptosis epitel mukosa usus, yang selanjutnya akan merusak barrier epitel usus sehingga permeabilitas usus juga akan meningkat (Wen *et al.*, 2019).



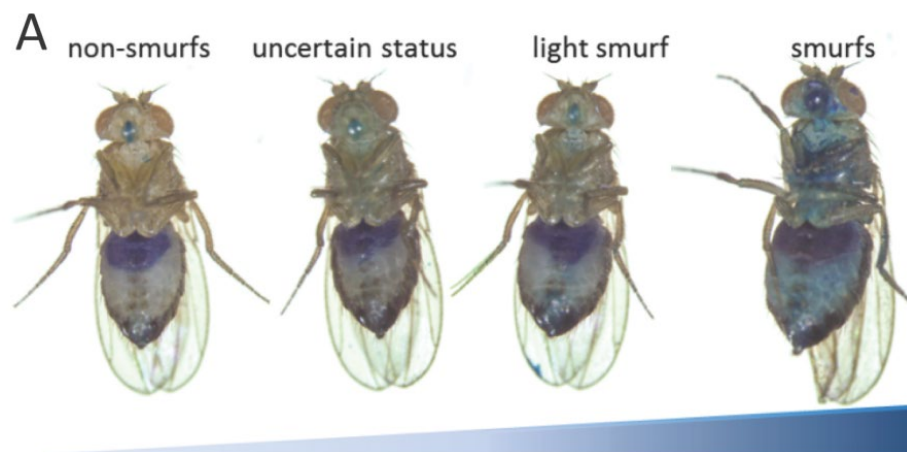
Gambar 1. Mekanisme terjadinya peningkatan permeabilitas usus (*Leaky gut*) (Kinashi & Hase, 2021)

Peningkatan permeabilitas usus juga dapat diinduksi menggunakan *Dextran sulfate sodium* (DSS). DSS dapat meningkatkan permeabilitas usus dengan mengurangi ekspresi protein pada *tight junction* (TJ) yang meniru patofisiologi inflamasi usus pada pasien (Eom *et al.*, 2022). Tight junction (TJ) adalah kompleks protein yang terdiri dari *Occludin*, *ZO*, *claudins* dan *junctional*

adhesion molecule (JAM) membentuk sawar aktif fisiologis yang dapat mengubah permeabilitas berdasarkan lingkungan seluler (Eichele & Kharbanda, 2017).

II.2 *Smurf Fly*

Smurf fly merupakan suatu metode yang dikembangkan untuk pemeriksaan *leaky gut* menggunakan hewan uji *D. melanogaster*. *Leaky gut* pada *D. melanogaster* dideteksi dengan adanya pewarna makanan biru yang tidak dapat diserap (FD&C *blue dye #1*) di luar saluran pencernaan setelah pemberian (Rera *et al.*, 2012). FD&C *blue dye #1* (*Brilliant blue*) merupakan pewarna yang bersifat non-toksik dan tidak mempengaruhi masa hidup dari hewan uji yang digunakan selama waktu pemberian (Martins *et al.*, 2018).



Gambar 2. Perbandingan *D. melanogaster non-smurf* dan *smurf* (Martins *et al.*, 2018)

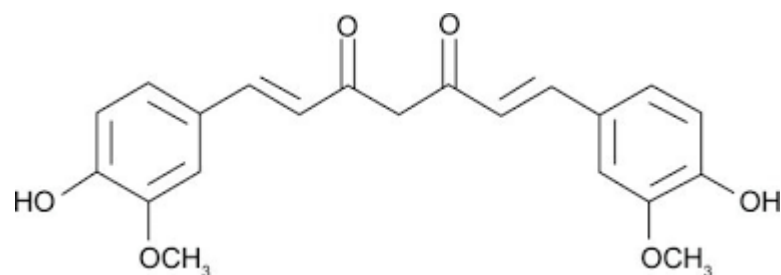
D. melanogaster yang mengalami *smurf* akan menunjukkan perubahan warna biru pada tubuhnya. Hal ini disebabkan oleh peningkatan permeabilitas usus pada *D. melanogaster* sehingga pewarna yang digunakan akan keluar

dari saluran intestinal menuju *hemolymph* dan mewarnai tubuh *D. melanogaster* (He & Jasper, 2014).

II.3 Kurkumin

II.3.1 Deskripsi

Kurkumin {diferuloilmetan-1,7-bis-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-hepta-1,6-diene-3,5- dione}, merupakan salah satu senyawa utama yang terkandung dalam *Curcuma longa* (L) dan *Curcuma* spp, berbentuk kristal kuning-oranye yang umum digunakan sebagai bahan tambahan makanan dan pewarna (Abd El-Hack *et al.*, 2021; Lestari & Indrayanto, 2014). Senyawa kurkumin termasuk dalam golongan senyawa fenolik yang larut dalam pelarut organik dan memiliki kelarutan yang kurang baik dalam air. Senyawa kurkumin memiliki kestabilan yang baik dalam suasana asam, tetapi tidak stabil terhadap cahaya dan suasana asam (Sharifi-Rad *et al.*, 2020). Tiga konstituen kimia utama kunyit yang semuanya termasuk dalam kurkuminoid adalah kurkumin (77%), demetoksikurkumin (17%), dan bisdemetoksikurkumin (3%) (Huang *et al.*, 2020).



Gambar 3. Struktur kurkumin (Zia *et al.*, 2021)

II.3.2 Indikasi

Dalam dunia kesehatan, kurkumin memiliki berbagai manfaat diantaranya sebagai antioksidan, efek antikarsinogenik, imunomodulator, antikanker, dan antiinflamasi (Abd El-Hack *et al.*, 2021; Huang *et al.*, 2020). Selain itu, penelitian menunjukkan bahwa kurkumin dapat mengatasi sindrom metabolik, hiperlipidemia, artritis (radang sendi), dan juga dapat membantu meredakan radang yang disebabkan oleh olahraga dan nyeri otot (Hewlings and Kalman, 2017).

Kurkumin memiliki gugus fenolik yang merupakan gugus donor elektron utama pada senyawa kurkumin yang berperan dalam aktivitas antioksidan. Kurkumin dapat secara langsung mengurangi radikal bebas yang berlebihan dan mencegah produksi *reactive oxygen species* (ROS) (Xu *et al.*, 2018). Aktivitas antioksidan dari kurkumin dipengaruhi oleh berbagai enzim seperti *catalase*, *superoxide dismutase*, dan *glutathione peroxide*. Beberapa penelitian melaporkan bahwa senyawa kurkuminoid memiliki kemampuan paling tinggi dalam aktivasi makrofag untuk mengurangi radikal bebas (H_2O_2 dan NO) (Abd El-Hack *et al.*, 2021).

Efek anti inflamasi dari senyawa kurkumin telah dibuktikan melalui berbagai eksperimen. Kurkumin dapat menurunkan regulasi berbagai mediator inflamasi termasuk menurunkan regulasi COX-2, pengaktifan mitogen dan janus kinase (JAK), serta menghambat TNF- α , IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12 dan 5'-protein kinase teraktivasi adenosin monofosfat (Boroumand *et*

al., 2018). Penelitian yang dilakukan oleh Rinkunaite *et al.*, (2021), menggunakan hewan uji tikus yang terkena artritis (radang sendi) melaporkan bahwa setelah pemberian kurkumin selama 10 hari dapat mengurangi radang sendi pada hewan uji. Selain itu juga, dapat menurunkan level sel imun (sel darah putih dan neutrofil) serta sitokin pro inflamasi, TNF- α , IL-1, dan IL-6 hampir mendekati kontrol sehat.

II.4 *Drosophila melanogaster*

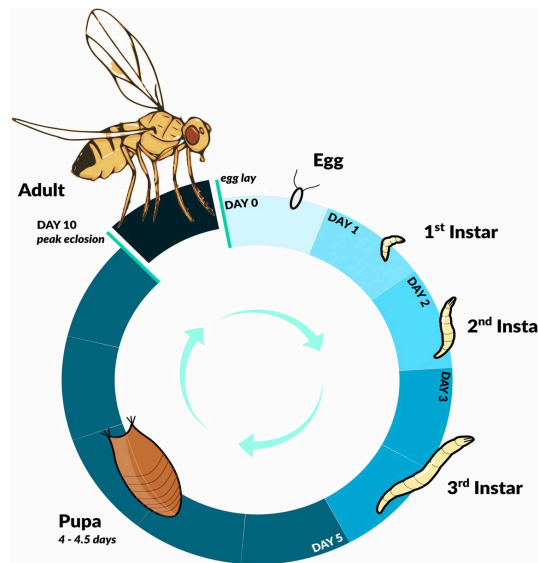
II.3.1 Deskripsi

Drosophila melanogaster atau yang dikenal sebagai lalat buah telah lama digunakan dalam penelitian terkait genetika, sekitar 110 tahun. Penggunaan *Drosophila* dalam penelitian biologi telah dimulai sejak awal abad ke-20 dan saat ini merupakan salah satu organisme model yang paling populer. *D. melanogaster* memiliki ukuran yang kecil (3 mm), hanya memiliki 4 pasang kromosom yang dapat memudahkan modifikasi genetika. *D. melanogaster* memiliki $\pm 13,600$ gen yang dikodekan dan memiliki kemiripan 75% secara genetika dengan manusia (Panchal and Tiwari, 2017).

D. melanogaster memiliki banyak keuntungan sebagai model hewan uji dalam penelitian yaitu, tidak memerlukan biaya yang cukup besar jika dibandingkan dengan hewan uji lain seperti mencit dan tikus, reproduksi tinggi dan dapat menghasilkan lalat dalam jumlah besar, memiliki masa hidup yang lebih singkat (2-3 bulan) yang cocok digunakan dalam mempelajari mekanisme penuaan, serta tidak membutuhkan kode etik (Nainu, 2018).

II.3.2 Siklus Hidup

D. melanogaster memiliki siklus hidup yang singkat, hanya sekitar 10 – 12 hari pada suhu 25°C. *D. melanogaster* betina dapat bertelur sebanyak 30 – 50 setiap hari. Perkembangan *D. melanogaster* dimulai dari tahap larva, pupa, hingga menjadi lalat dewasa (Panchal & Tiwari, 2017).



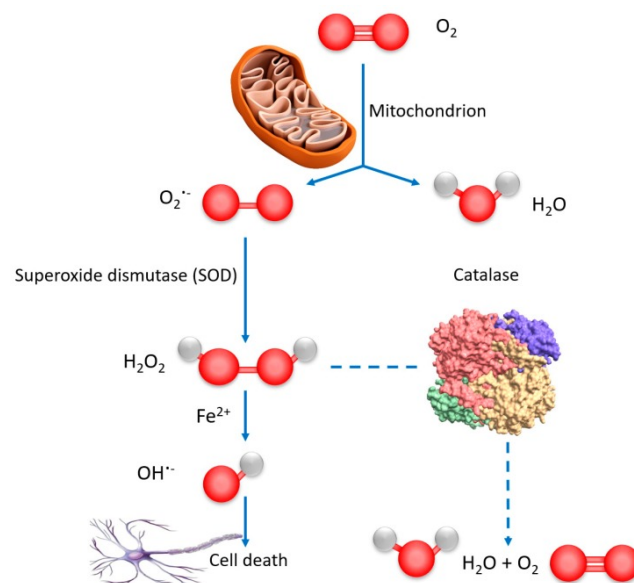
Gambar 4. Siklus hidup *D. melanogaster* (Flatt, 2020)

Larva *D. melanogaster* akan melewati 3 fase larva yaitu larva instar 1-3. Perkembangan telur *D. melanogaster* menjadi larva instar 1 membutuhkan waktu satu hari. Kemudian akan menjadi larva instar 2 dan instar 3 di hari berikutnya selama 1 dan 2 hari. Pada hari ke-5 (dimulai ketika menjadi larva) larva akan berubah menjadi pupa yang kemudian akan menjadi lalat setelah 4–4,5 hari. Pada tahap larva instar 1, larva akan makan di permukaan pakan, kemudian akan masuk menggali ke dalam pakan pada tahap larva instar 2 (Flatt, 2020).

II.5 Ekspresi Gen

II.4.1 Gen *catalase*

Tubuh memiliki antioksidan endogen yang dapat menangkap dan menetralkan radikal bebas diantaranya *superoxide dismutase*, *catalase*, dan *glutathione peroxidase*. *Catalase* merupakan salah satu antioksidan yang banyak terdapat pada peroksisom dan bekerja dengan cara mengubah hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi molekul air (H_2O) dan oksigen (O_2) (Ighodaro & Akinloye, 2018).



Gambar 5. Mekanisme kerja katalase (Rakotoarisoa et al., 2019)

Selain memiliki fungsi utama dalam penguraian H_2O_2 , katalase juga dapat menguraikan peroksinitrit ($ONOO^-$) dan mengoksidasi oksida nitrit (NO) menjadi nitrogen dioksida (NO_2). Penurunan ekspresi gen katalase berkaitan dengan tingginya produksi hidrogen peroksida. Penguraian hidrogen peroksida oleh katalase sangat tinggi, dengan jumlah pergantian substrat yang

melebihi reaksi enzimatik lainnya (Rakotoarisoa *et al.*, 2019; Heck *et al.*, 2010).

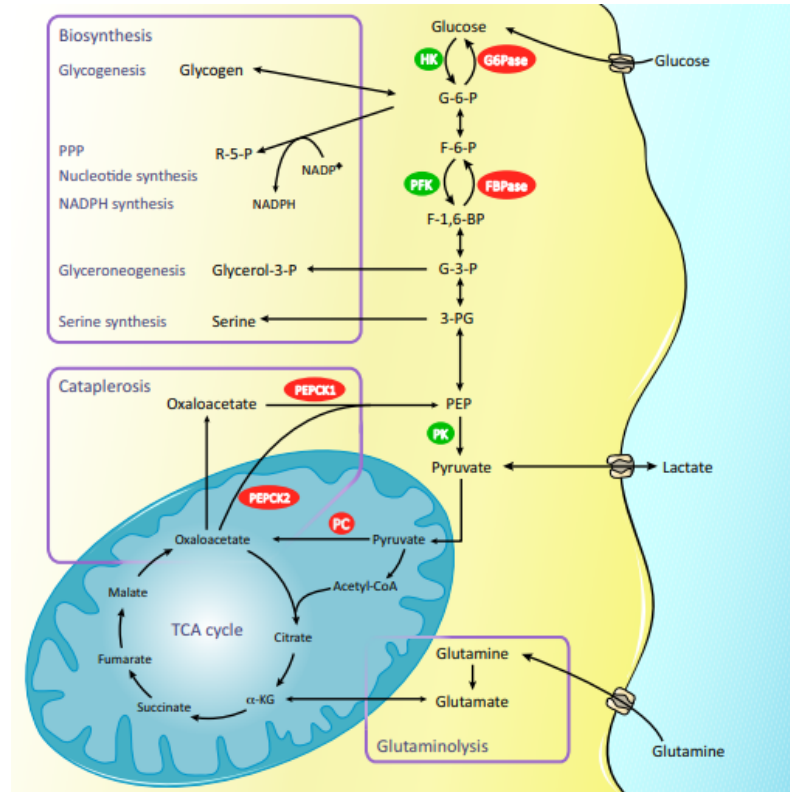
Katalase dapat menguraikan jutaan molekul hidrogen peroksida dalam satu detik. Dalam jumlah rendah hidrogen peroksida mengatur beberapa proses fisiologis seperti pensinyalan dalam proliferasi sel, kematian sel, metabolisme karbohidrat, fungsi mitokondria, dan aktivasi trombosit. Namun, ketika jumlahnya meningkat dapat merusak sel-sel tubuh. Oleh karena kemampuannya dalam membatasi konsentrasi H₂O₂ dalam sel, katalase memiliki peran penting dalam proses fisiologis serta menjadi enzim pertahanan antioksidan lini pertama (Ighodaro & Akinloye, 2018).

II.4.2 Gen *pepck*

Pepck merupakan gen yang mengkode enzim *Phosphoenolpyruvate carboxykinase* dan berperan dalam proses glukoneogenesis. Gen *pepck* banyak terekspresi di hati dan korteks ginjal. Pada mamalia gen *pepck* terbagi menjadi 2 yaitu PEPCK-C (dalam sitosol) dan PEPCK-M (dalam mitokondria). PEPCK-C memegang peranan paling besar dalam regulasi metabolik (Onken *et al.*, 2020; Rajas *et al.*, 2000).

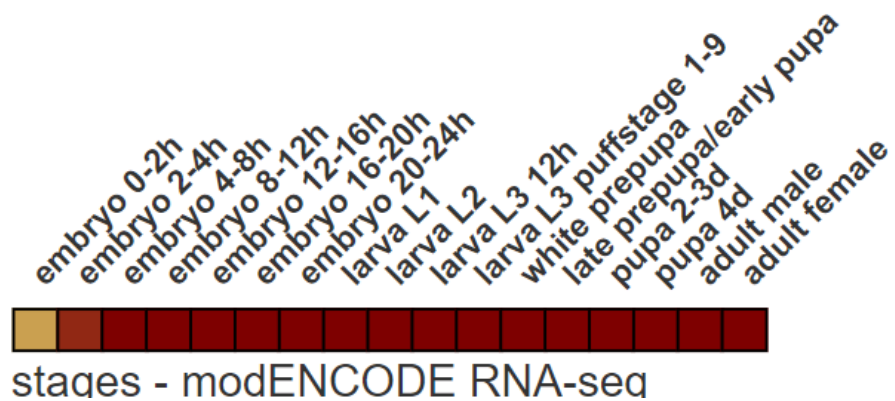
PEPCK memiliki mekanisme kerja dengan mendekarboksilasi dan memfosforilasi oksaloasetat untuk membentuk fosfoenolpiruvat pada tahap kedua proses glukoneogenesis. Secara normal, gen *pepck* akan terekspresi ketika diinduksi oleh glukagon, katekolamin dan glukokortikosteroid selama

periode puasa dan sebagai respon ketika stress (Wang & Dong, 2019; Quinn & Yeagley, 2005).

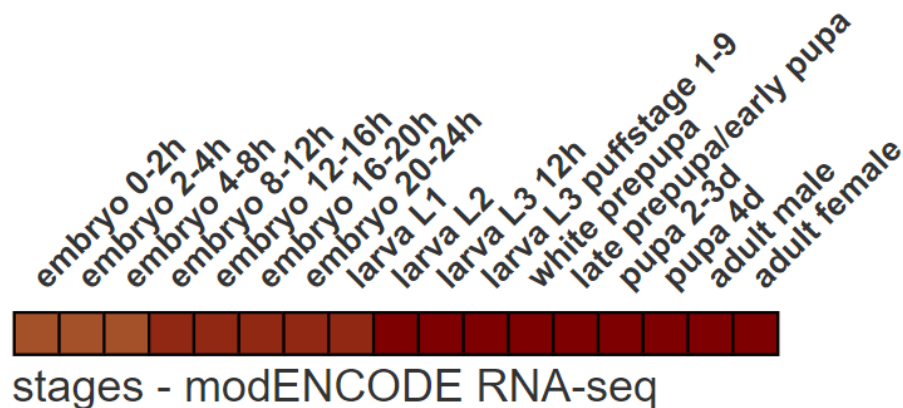


Gambar 6. Mekanisme kerja PEPCK (Wang and Dong, 2019)

II.4.3 Ekspresi Gen pada *Drosophila melanogaster*



Gambar 7. Level ekspresi Gen *pepck* (FlyBase)

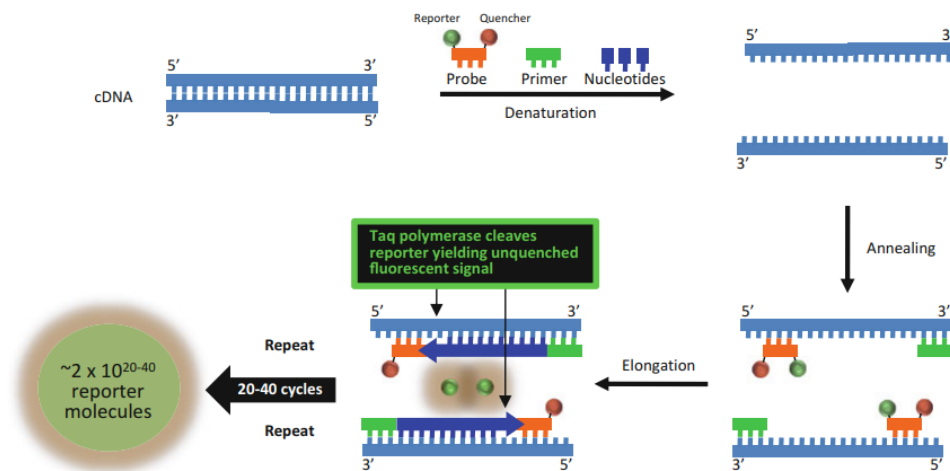


Gambar 8. Level ekspresi gen *catalase* (*FlyBase*)

II.6 PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Polymerase chain reaction (PCR) merupakan suatu metode yang digunakan dalam amplifikasi DNA, ditemukan pertama kali pada tahun 1985 oleh Kary Mullis. Pada metode PCR konvensional, templat DNA, primer, DNA polimerase, dNTPs (deoksiribonukleotida trifosfat) dan larutan buffer dicampur dalam sebuah series termal untuk menghasilkan jutaan salinan dari templat DNA (Sreejith *et al.*, 2018).

Reverse transcriptase quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) merupakan salah satu metode PCR yang kuat untuk kuantifikasi tingkat ekspresi gen secara *real time*. Prinsip kerja dari RT-qPCR adalah mengubah RNA templat menjadi cDNA menggunakan enzim *reverse transcriptase*. RT-qPCR adalah salah satu teknik yang paling efisien, andal, dan dapat diproduksi untuk mengukur ekspresi gen (Lü *et al.*, 2018).



Gambar 9. Skema kerja RT-qPCR (Hawkins & Guest, 2017)

Dalam PCR, terdapat tiga langkah utama yaitu *denaturation*, *annealing*, dan *extension* (Joshi and Deshpande, 2010):

- Denaturation*. Pada tahap ini rantai ganda DNA diubah menjadi DNA rantai tunggal. Proses ini terjadi pada suhu 90-97°C.
- Annealing*. Tahap ini merupakan proses penempelan primer pada untai cetakan DNA tunggal. Proses ini menghasilkan duplikasi DNA asli, dengan masing-masing molekul baru mengandung satu untai DNA lama dan satu untai baru. Kemudian masing-masing untai ini dapat digunakan untuk membuat dua salinan baru dan seterusnya. Proses ini terjadi pada suhu 50-60°C.
- Extension*. Pada tahap ini primer diperpanjang oleh DNA polymerase disepanjang untai rantai DNA.