

**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 :

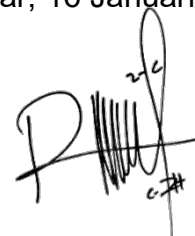
1. Bapak Firzan Nainu, S.Si., M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt. selaku pembimbing utama yang telah membimbing, memberikan arahan dan motivasi, serta telah meluangkan waktu kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Bapak Rangga Meidianto Asri, S.Si., M.Pharm.Sc., Apt. selaku pembimbing pendamping 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

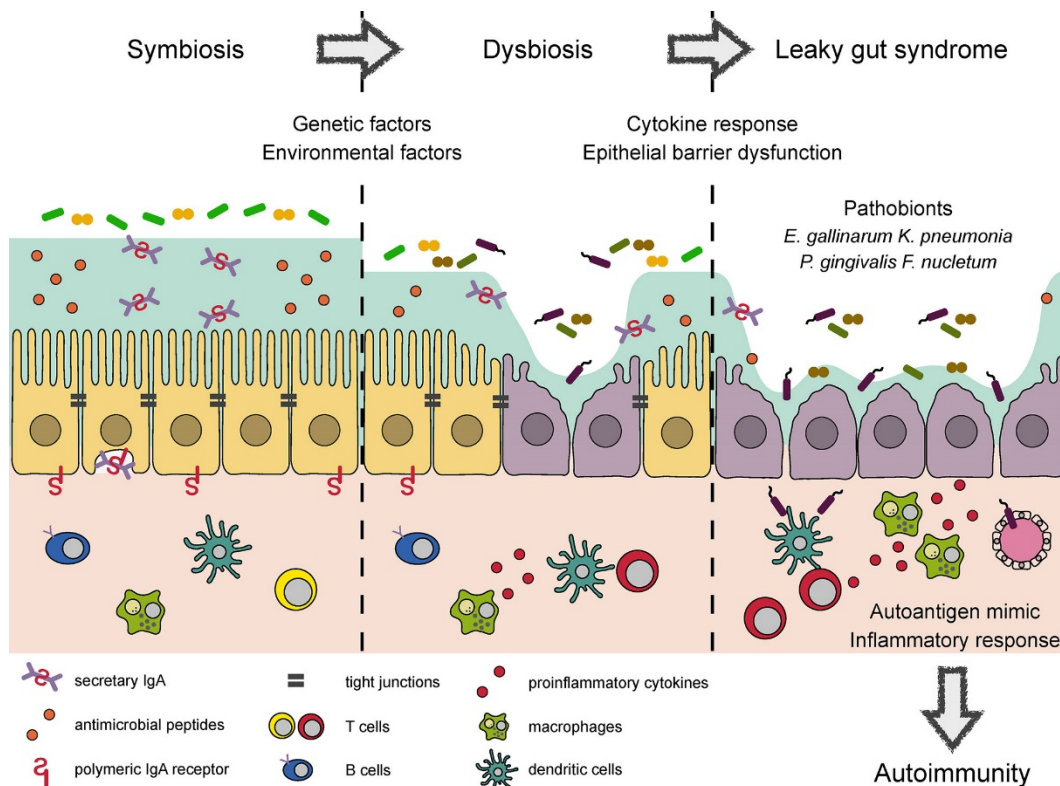
II.1 *Leaky Gut*

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).



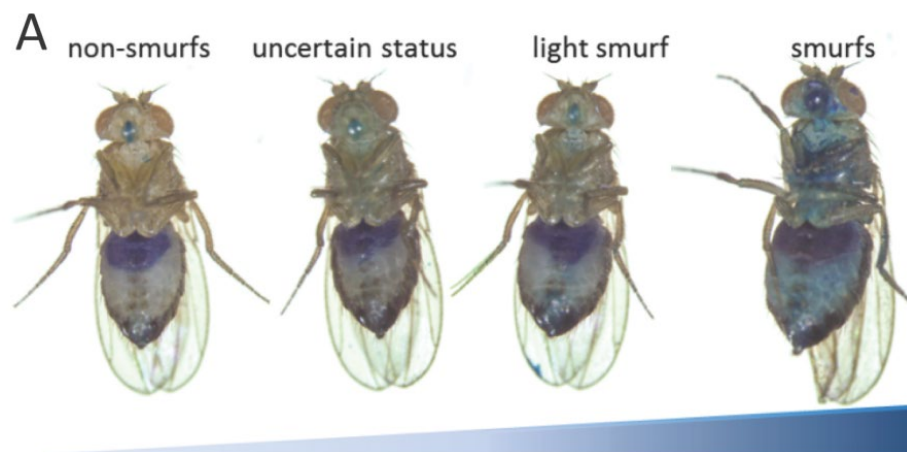
Gambar 1. Mekanisme terjadinya peningkatan permeabilitas usus (*Leaky gut*) (Kinashi & Hase, 2021)

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)

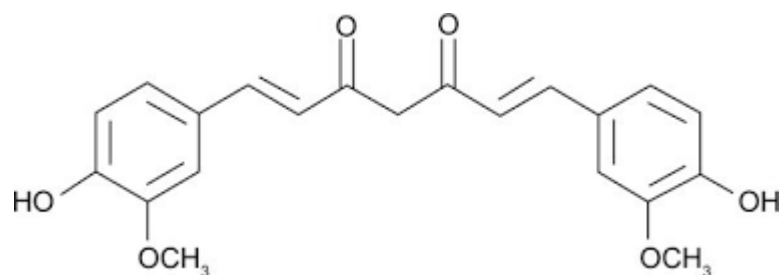
D. melanogaster yang mengalami *smurf* akan menunjukkan perubahan warna biru pada tubuhnya. Hal ini disebabkan oleh peningkatan permeabilitas usus pada *D. melanogaster* sehingga pewarna yang digunakan akan keluar

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*

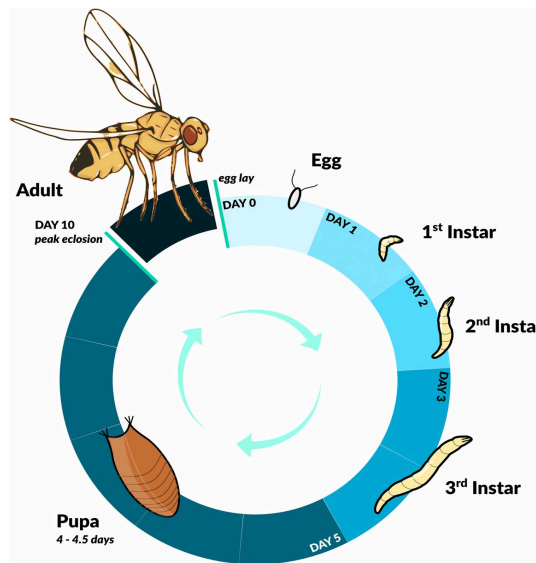
II.3.1 Deskripsi

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).



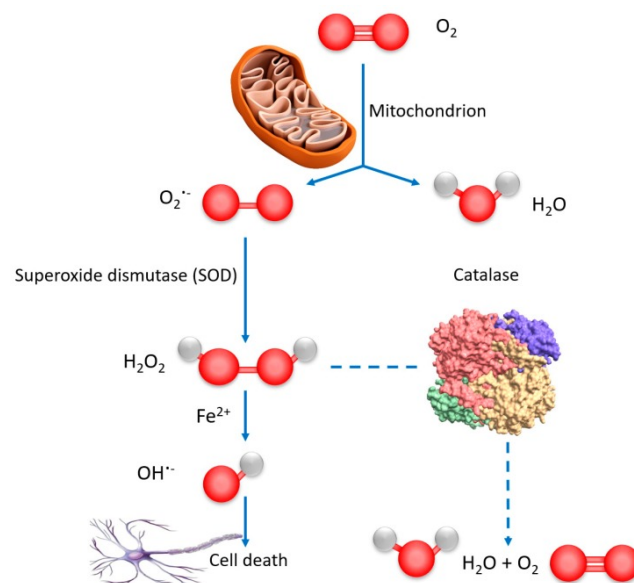
Gambar 4. Siklus hidup *D. melanogaster* (Flatt, 2020)

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).

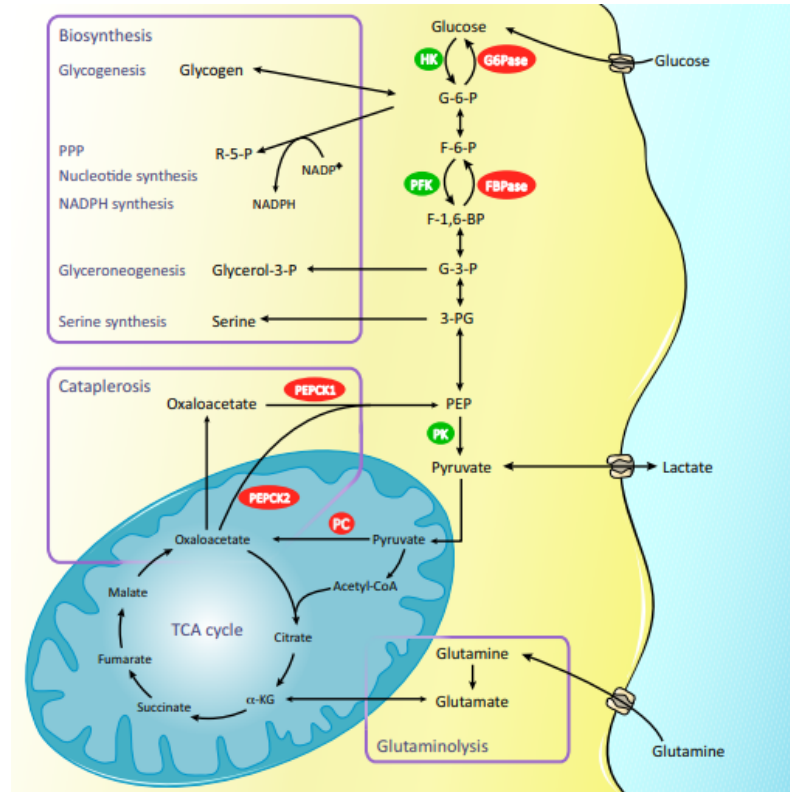
Katalase dapat menguraikan jutaan molekul hidrogen peroksida dalam satu detik. Dalam jumlah rendah hidrogen peroksida mengatur beberapa proses fisiologis seperti pensinyalan dalam proliferasi sel, kematian sel, metabolisme karbohidrat, fungsi mitokondria, dan aktivasi trombosit. Namun, ketika jumlahnya 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).

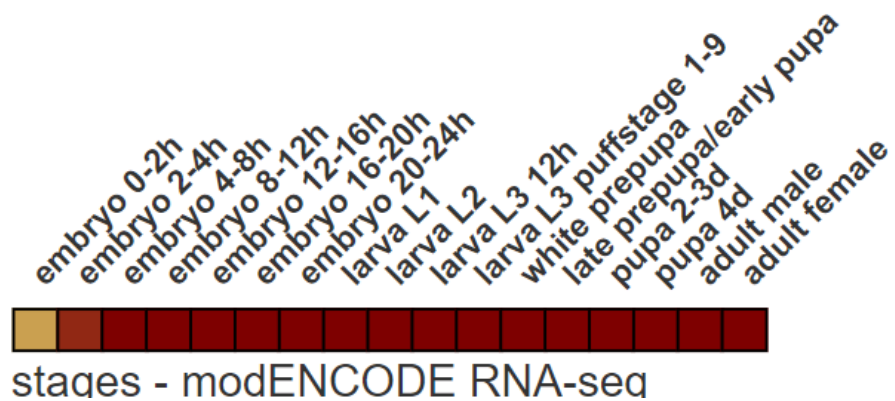
PEPCK memiliki mekanisme kerja dengan mendekarboksilasi dan memfosforilasi oksaloasetat untuk membentuk fosfoenolpiruvat pada tahap kedua proses glukoneogenesis. Secara normal, gen *pepck* akan terekspresi ketika diinduksi oleh glukagon, katekolamin dan glukokortikosteroid selama

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

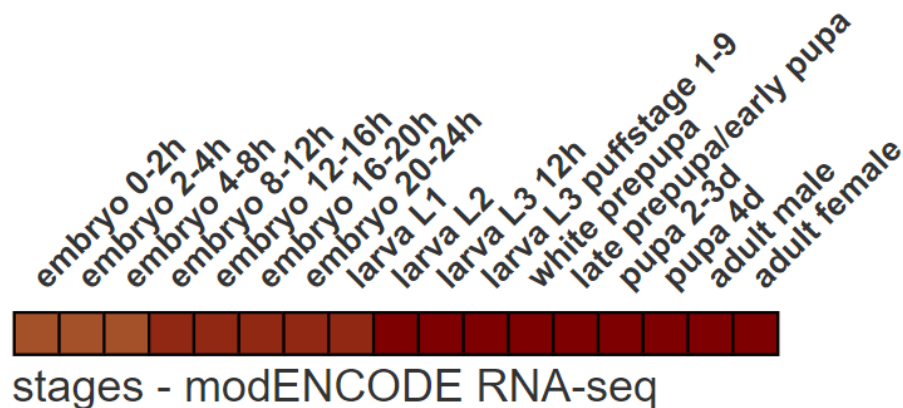


Gambar 6. Mekanisme kerja PEPCK (Wang and Dong, 2019)

II.4.3 Ekspresi Gen pada *Drosophila melanogaster*



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

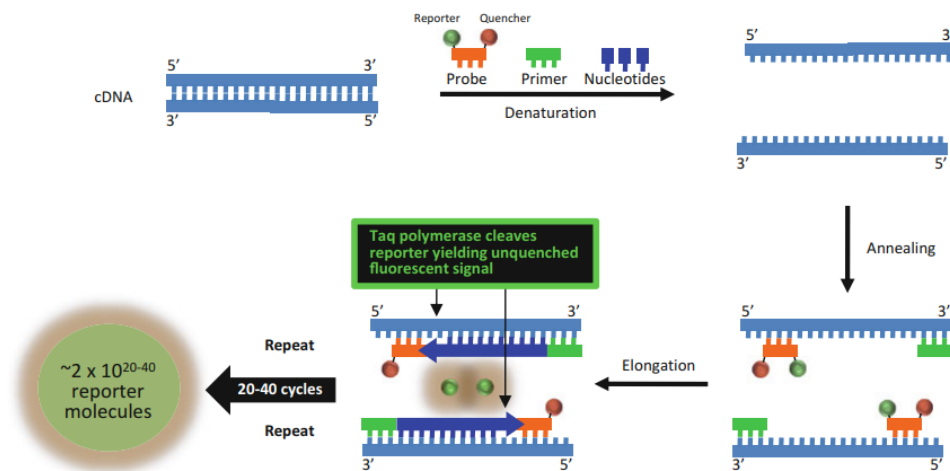


Gambar 8. Level ekspresi gen *catalase* (*FlyBase*)

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.

BAB III

METODE KERJA

III.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu alat-alat gelas, BSC II (Biosafety Cabinet Class II), *micropestle* (Geneaid®), papan CO₂ (CO₂ stage), *Thermal cycler* qPCR (RotorGene Q, Qiagen®), *zoom stereo microscope* (Motic®), vial dan *plugs Drosophila* (Biologix®).

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu aquadest, etanol 70% (Onemed®), Etanol 96% (Sigma-Aldrich), *Drosophila melanogaster* Oregon R (Laboratory Host Defense and Responses, Kanazawa University), Kertas saring (Whatman™), mikropipet (Dragonlab), *microtube* (Gene follower), pakan *Drosophila*, pewarna FD&C *blue dye #1* (Sigma-Aldrich), *RNAqueous™ Total RNA Isolation Kit* (Invitrogen™), Kurkumin (Sigma-Aldrich), (*Treff tube* (Treff lab), satu set primer *cat*, satu set primer *pepck*, satu set primer *rp49*, SensiFAST SYBR No-ROX One-step Kit (*Bioline™*).

III.2 Metode Kerja

III.2.1 Penyiapan Hewan Uji (*Drosophila melanogaster*)

Pada penelitian menggunakan hewan uji lalat buah atau *Drosophila melanogaster* Oregon-R yang diperoleh dari Laboratory Host Defense and Responses (Kanazawa University, Jepang). Lalat dipelihara dan

dikembangbiakkan di dalam vial kultur yang berisi pakan dan disimpan pada suhu sekitar 25°C. *D. melanogaster* yang digunakan dalam eksperimen berusia 3-5 hari.

III.2.2 Pembuatan Pakan *Drosophila melanogaster*

Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan pakan *D. melanogaster* terdiri dari tepung jagung, *yeast*, agar, gula pasir, air, metil paraben, dan asam propionat. Setiap pembuatan 200 ml pakan ditimbang tepung jagung 15 gram, *yeast* 5 gram, agar 1,8 gram, gula pasir 9 gram, metil paraben 900 µl, asam propionat 800 µl, dan air yang dicukupkan hingga 200ml. Semua bahan-bahan yang telah ditimbang serta air dicampurkan dalam gelas *beaker* dan dihomogenkan. Campuran dipanaskan pada suhu 100°C selama ±1 jam dengan disertai pengadukan hingga mengental. Selanjutnya ditambahkan asam propionat dan metil paraben menggunakan pipet mikro. Setelah itu campuran akhir yang terbentuk dimasukkan ke masing-masing vial dan dibiarkan hingga memadat selama 24 jam.

III.2.3 Uji Dosis Dekstran

Permeabilitas usus lalat ditingkatkan menggunakan penginduksi berupa *Dextran sulfate sodium* (DSS). Usus yang bocor ditandai dengan terjadi perubahan warna pada seluruh tubuh lalat. Untuk pengujian, lalat dewasa dipuasakan selama 2 jam di dalam vial kosong. Kemudian kertas saring direndam dalam larutan yang berisi 5% DSS dalam 5% larutan sukrosa. Setelah itu, lalat yang telah dipuasakan dipindahkan ke dalam vial yang berisi

kertas saring yang telah direndam dalam larutan *Dextran sulfate sodium* dan perlakuan diberikan selama 10 hari. Lalu alat dipindahkan ke dalam vial yang telah berisi pakan biru. Kemudian lalat diamati fenotip *smurf* setiap hari.

III.2.4 Pembuatan Pakan Biru *Drosophila melanogaster*

Pada pembuatan pakan biru dilakukan dengan pembuatan pakan biasa yang ditambahkan pewarna FD&C *blue dye #1* konsentrasi 2,5% ketika proses pengadukan.

III.2.5 Preparasi Sampel Kurkumin

Sampel kurkumin sebanyak 0,0184 gram dilarutkan menggunakan etanol sebanyak 1 ml hingga diperoleh konsentrasi 50 mM. Kemudian dilakukan pengenceran menggunakan etanol 96% untuk mendapatkan konsentrasi 10 mM dan 2 mM. Masing-masing larutan uji dimasukkan kedalam pakan untuk mendapatkan konsentrasi uji 10 μ M, 50 μ M, dan 250 μ M.

III.2.6 Pemberian Kurkumin dan Pengamatan survival *Drosophila melanogaster*

Pengujian *survival* dilakukan untuk melihat efek pemberian senyawa kurkumin terhadap *lifespan* dan juga terhadap *smurf* yang dialami *D. melanogaster*. Pengujian ini dengan memasukkan *D. melanogaster* yang mengalami smurf ke dalam vial berisi pakan yang dikelompokkan menjadi 5 kelompok. Kelompok I diberikan pakan kontrol (tanpa kurkumin), kelompok II diberikan pakan kontrol pelarut, kelompok III diberikan pakan yang mengandung kurkumin 10 μ M, kelompok IV diberikan pakan yang

mengandung kurkumin 50 μM dan kelompok V diberikan pakan yang mengandung kurkumin 250 μM .

III.2.7 Penyiapan Sampel RNA

Isolasi RNA menggunakan *RNAqueous™ Total RNA Isolation Kit* (Invitrogen™). Sebanyak lima ekor *D. melanogaster* yang masih hidup dimasukkan ke dalam *treff tube*. Siapkan reagen lysis buffer segar yang telah dicampur dengan *2-mercaptoethanol* dimana setiap 300 μL lysis buffer untuk setiap sampel dan ditambahkan *2-mercaptoethanol* sebanyak 1% dari total volume lysis buffer. Setelah itu, ditambahkan sebanyak 300 μL campuran tersebut ke dalam masing-masing tube sampel dan sampel lalat dihancurkan dengan menggunakan *micro pestle*. Kemudian, disentrifugasi selama 2 menit dengan kecepatan 14.000 rpm. Lisat ditransfer ke tube baru kemudian ditambahkan 300 μL etanol 70% dan divortex selama 10 detik. Selanjutnya, sampel ditransfer ke *spin cartridge* dan disentrifugasi selama 15 detik dengan kecepatan 14.000 rpm, proses diulangi sebanyak 2 kali.

Setelah itu, filtrat dibuang dan dimasukkan kembali *spin cartridge* pada tube yang sama. Sebanyak 700 μL *Wash Buffer I* ditambahkan kedalam *spin cartridge* kemudian 19 sentrifugasi dengan kecepatan 14.000 rpm selama 15 detik pada suhu ruang. Filtrat dibuang dan *spin cartridge* dipindahkan pada collection tube baru. sebanyak 500 μL Etanol 96% ditambahkan pada *spin cartridge*, kemudian disentrifugasi selama 15 detik pada kecepatan 14.000

rpm pada suhu ruang. Filtrat dibuang dan ditempatkan kembali pada *collection tube* yang sama. Proses tersebut diulangi sebanyak 2 kali.

Selanjutnya, *spin cartridge* kembali disentrifugasi dengan kecepatan 14.000 rpm selama 1 menit pada suhu ruang. Kemudian ditambahkan 40 μ L *RNAse free water* pada bagian tengah *spin cartridge* dan diulangi dengan menambahkan kembali *RNAse free water* dalam jumlah yang sama. Setelah itu diinkubasi pada temperatur ruang selama 1 menit. Kemudian ditambahkan kembali 40 μ L *RNAse free water* ke dalam *spin cartridge* dan disentrifugasi selama 2 menit pada kecepatan 14.000 rpm. *Spin cartridge* dibuang dan *collection tube* yang mengandung RNA disimpan pada suhu – 80°C.

III.2.8 Analisis Ekspresi Gen

Untuk mengukur level ekspresi gen *pepck* dan *cat*, dilakukan *real-time* PCR menggunakan SensiFAST SYBR No-ROX One-step Kit (*Bioline*TM). *Real-time* PCR dijalankan menggunakan satu set primer *pepck* (urutan dpt *forward* primer: 5'- CCG CCG AGA ACC TTA TTG TG – 3' dan urutan *pepck* *reverse* primer: 5'- AGA ATC AAC ATG TGC TCG GC – 3') dan *cat* primer (urutan *cat* *forward* primer: 5'- TTC CTG GAT GAG ATG TCG CAC T – 3' dan urutan *cat* *reverse* primer: 5'- TTC TGG GTG TGA ATG AAG CTG G – 3') dalam volume reaksi 20 μ l dengan rangkaian siklus sebagai berikut 1 siklus 95°C selama 10 detik, 63°C selama 30 detik dan 72°C selama 30 detik. Sebagai referensi tingkat ekspresi gen inang, digunakan satu pasang primer protein ribosomal rp49 (5' – GAC GCT TCA AGG GAC AGT ATC TG – 3' untuk

forward primer dan 5' – AAA CGC GGT TCT GCA TGA G – 3' untuk reverse primer) yang dijalankan sesuai prosedur RT-qPCR di atas.

Tabel 1. Sekuens primer masing-masing gen

Nama Gen	Sekuens Primer		Kondisi
	Forward	Reverse	
<i>pepck</i>	5'- CCG CCG AGA	5'- AGA ATC AAC	1. PCR cycle: 40 Siklus 2. Reverse transcription: 37°C, 15 menit 3. Hot start: 95°C, 10 menit 4. Denaturasi: 95°C, 10 detik 5. Annealing: 63°C, 30 detik 6. Extension: 72°C, 10 detik
	ACC TTA TTG TG – 3' (20 mer)	ATG T GC TCG GC – 3' (20 mer)	
<i>cat</i>	5'- TTC CTG GAT	5'- TTC TGG GTG	
	GAG ATG TCG CAC T – 3' (18 mer)	TGA ATG AAG CTG G – 3' (18 mer)	
<i>rp49</i>	5'- GAC GCT TCA	5' – AAA CGC	
	AGG GAC AGT ATC TG – 3' (23 mer)	GGT TCT GCA TGA G – 3' (19 mer)	

III.2.9 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil uji survival akan diolah menggunakan *software GraphPad Prism 5* dengan metode *log-rank*. Hasil data analisis ekspresi gen diolah menggunakan *software GraphPad Prism 5* dengan hasil berupa Ct Value. Kemudian setelah itu, diolah menggunakan *software Qgene* dan dianalisis secara statistik menggunakan *One Way Anova* menggunakan *software GraphPad Prism 5*

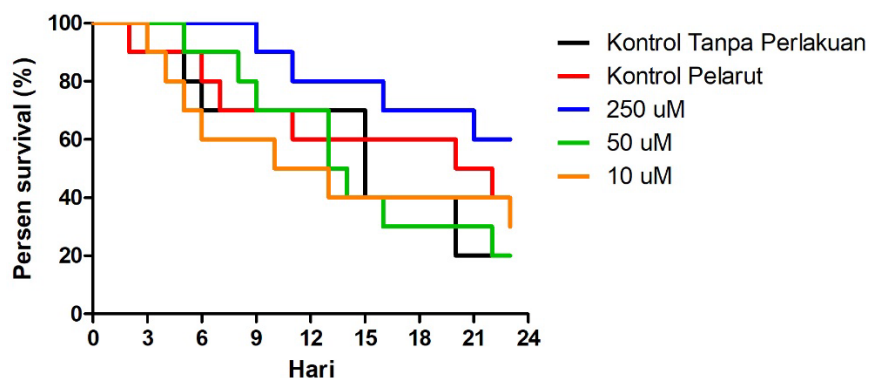
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil Uji Survival

Pada pengujian ini digunakan *D. melanogaster* yang telah mengalami *leaky gut* berdasarkan dari pengujian *smurf*, kemudian diberikan kurkumin sebagai *treatment*. Induksi *leaky gut* pada *D. melanogaster* dilakukan menggunakan *Dextran sulfate sodium* (DSS). Diketahui bahwa pemberian DSS dapat menginduksi kerusakan epitel usus yang kemudian menyebabkan terjadinya *leaky gut* (peningkatan permeabilitas usus). Pada *D. melanogaster*, *leaky gut* merupakan salah satu penanda akan terjadinya kematian (Fasano, 2020; Lee *et al.*, 2022).

Pengujian pengamatan masa hidup *D. melanogaster* ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian kurkumin terhadap masa hidup dari *D. melanogaster*. Hasil pengujian dapat dilihat pada grafik berikut.



Gambar 10. Grafik survival *D. melanogaster* dengan pemberian kurkumin

Grafik di atas menunjukkan bahwa pemberian kurkumin dapat mempengaruhi masa hidup dari *D. melanogaster*, bergantung pada konsentrasi yang diberikan. Pada pemberian kurkumin dengan konsentrasi 250 μ M memiliki masa hidup yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol tanpa perlakuan dan kontrol pelarut. Sedangkan *D. melanogaster* dengan pemberian kurkumin pada konsentrasi 10 μ M dan 50 μ M memiliki masa hidup yang tidak jauh berbeda dengan kontrol tanpa perlakuan dan kontrol pelarut.

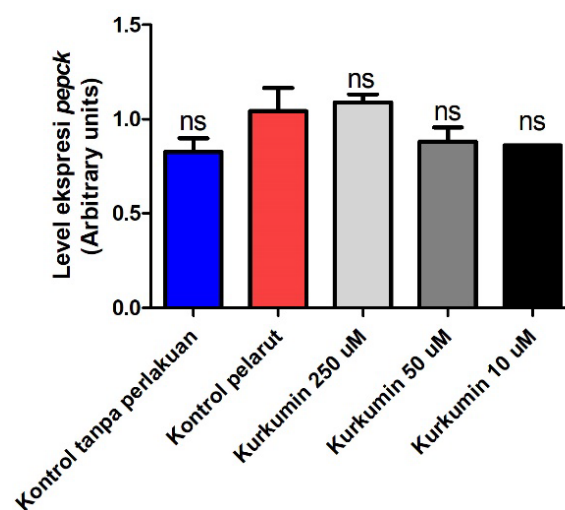
Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Suckow dan tim, 2006 menunjukkan bahwa pemberian kurkumin dapat meningkatkan masa hidup dari *D. melanogaster*, dengan mekanisme yang diperkirakan meningkatkan ekspresi gen antioksidan (Suckow & Suckow, 2006). Penelitian serupa dilakukan oleh Lee dan tim, 2010 menunjukkan peningkatan masa hidup pada *D. melanogaster* mutan lves pada konsentrasi 250 μ M (Lee *et al.*, 2010).

Selain meningkatkan masa hidup, pemberian kurkumin juga dapat mengatasi *leaky gut* dengan memperbaiki permeabilitas usus *D. melanogaster*. Hal ini ditandai dengan penurunan jumlah *D. melanogaster* yang mengalami *smurf* setelah pemberian kurkumin. Penelitian yang dilakukan sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian kurkumin dapat memperbaiki permeabilitas usus, dengan pengujian secara *in vitro* menggunakan sel usus manusia (Wang *et al.*, 2017; Martel *et al.*, 2022).

IV.2 Pemeriksaan Analisis Gen

IV.1.1 Uji Ekspresi Gen *pepck*

Pengujian ekspresi gen *pepck* dilakukan menggunakan *D. melanogaster* yang tidak mengalami *smurf* setelah pemberian kurkumin. Hasil pengujian ekspresi gen dengan RT-qPCR dapat dilihat pada gambar berikut.



Gambar 11. Hasil ekspresi gen *pepck* setelah pemberian kurkumin (Ket: ns = non signifikan)

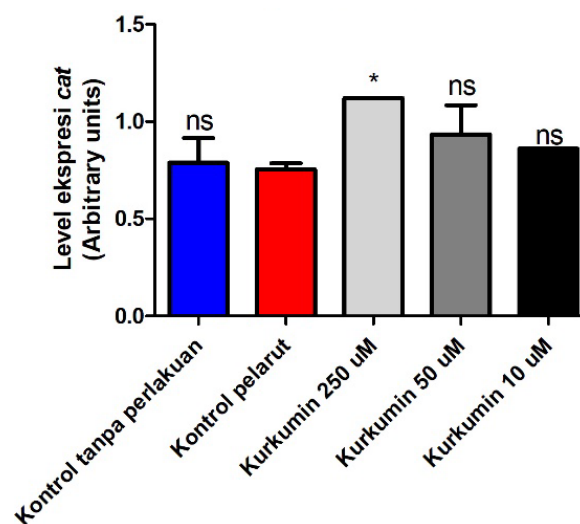
Grafik di atas menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan terhadap ekspresi gen *pepck* pada kelompok perlakuan kurkumin setiap konsentrasi dengan kontrol pelarut. Gen *pepck* merupakan gen yang mengkode enzim *Phosphoenolpyruvate carboxykinase* dan berperan dalam proses glukoneogenesis. Gen *pepck* pada *D. melanogaster* homolog dengan PCK2 pada manusia (Onken *et al.*, 2020). Gen *pepck* mengkatalisis oksaloasetat menjadi fosfoenolpiruvat, prekursor piruvat dan terlibat dalam pengaturan homeostasis piruvat. Peningkatan ekspresi gen *pepck* menyebabkan terjadinya peningkatan proses glukoneogenesis, yang

selanjutnya dapat meningkatkan autofagi dan berperan dalam peningkatan masa hidup (Wang *et al.*, 2018; Onken *et al.*, 2020).

Berdasarkan hasil yang diperoleh, diketahui bahwa pemberian kurkumin tidak mempengaruhi level ekspresi gen *pepck*. Selain itu, peningkatan masa hidup *D. melanogaster* tidak dipengaruhi oleh gen *pepck*.

IV.1.2 Uji Ekspresi Gen *cat*

Pemeriksaan analisis ekspresi gen dilakukan untuk melihat efek pemberian kurkumin terhadap ekspresi gen antioksidan endogen yakni *cat* pada *D. melanogaster*. Hasil analisis ekspresi gen *cat* dapat dilihat pada gambar berikut.



Gambar 12. Hasil analisis ekspresi gen *cat* setelah pemberian kurkumin (Ket: ns = non signifikan; * = $p < 0,05$)

Grafik di atas menunjukkan adanya peningkatan ekspresi gen *cat* setelah pemberian kurkumin dengan konsentrasi $250\mu\text{M}$ dibandingkan kontrol tanpa perlakuan dan kontrol pelarut secara signifikan ($p < 0,05$). Namun, pada

kelompok perlakuan kurkumin lainnya tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol tanpa perlakuan dan kontrol pelarut. Hal ini menunjukkan adanya pengaruh pemberian kurkumin terhadap peningkatan ekspresi gen *cat* bergantung pada konsentrasi yang diberikan.

cat merupakan salah satu antioksidan endogen pada *D. melanogaster* dan homolog dengan *catalase* pada manusia. Gen *cat* 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). Peningkatan ekspresi gen *cat* akan meningkatkan perubahan hidrogen peroksida (H_2O_2) yang selanjutnya akan menghambat peningkatan *reactive oxygen species* (ROS) (Galasso *et al.*, 2021).

Enzim antioksidan seperti CAT sangat penting untuk mengurangi tingkat molekul radikal bebas dan memperlambat penuaan yang akan berdampak pada peningkatan masa hidup. Beberapa penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa peningkatan antioksidan endogen berperan dalam peningkatan masa hidup (Zhang *et al.*, 2021; Deepashree *et al.*, 2022).

Berdasarkan penjelasan tersebut, peningkatan ekspresi gen *cat* pada pemberian kurkumin konsentrasi $250\mu M$ juga menunjukkan kesesuaian dengan hasil uji survival yang ditandai adanya peningkatan masa hidup *D. melanogaster* pada konsentrasi yang sama.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, diketahui bahwa kurkumin dapat meningkatkan masa hidup dari *D. melanogaster smurf* pada konsentrasi 250 μ M. Hasil analisis gen menunjukkan bahwa peningkatan masa hidup *D. melanogaster smurf* terjadi melalui peningkatan level ekspresi gen *cat*, tetapi tidak melalui ekspresi gen *pepck*. Efek yang diberikan setelah perlakuan kurkumin bergantung pada konsentrasi. Pemberian kurkumin juga dapat mengatasi *leaky gut* yang dialami oleh *D. melanogaster* yang ditunjukkan dengan tidak terjadi perubahan warna biru pada *D. melanogaster* yang diberikan pakan biru setelah perlakuan kurkumin.

V.2 Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya agar dapat melakukan penelitian lebih lanjut terkait *smurf fly* menggunakan mutan *Drosophila melanogaster* dan terkait mekanisme kurkumin dalam mengatasi *leaky gut* pada *D. melanogaster* serta mengenai profil usus *D. melanogaster* yang mengalami *leaky gut* sebelum dan setelah *treatment*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abd El-Hack, M.E., El-Saadony, M.T., Swelum, A.A., Arif, M., Abo Ghanima, M.M., Shukry, M., Noreldin, A., Taha, A.E. & El-Tarabily, K.A. 2021. Curcumin, the active substance of turmeric: its effects on health and ways to improve its bioavailability. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(14): 5747–5762.
- Ahmadi, S., Razazan, A., Nagpal, R., Jain, S., Wang, B., Mishra, S.P., Wang, S., Justice, J., Ding, J., McClain, D.A., Kritchevsky, S.B., Kitzman, D. & Yadav, H. 2020. Metformin reduces aging-related leaky gut and improves cognitive function by beneficially modulating gut microbiome/goblet cell/mucin axis. *Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences*, 75(7): E9–E21.
- An, R., Wilms, E., Masclee, A.A.M., Smidt, H., Zoetendal, E.G. & Jonkers, D. 2018. Age-dependent changes in GI physiology and microbiota: Time to reconsider? *Gut*, 67(12): 2213–2222.
- Araujo, F.O., Felício, M.B., Lima, C.F., Piccolo, M.S., Pizziolo, V.R., Diaz-Muñoz, G., Bastos, D.S.S., Oliveira, L.L., Peluzio, M.D.C.G. & Diaz, M.A.N. 2022. Antioxidant and anti-inflammatory activity of curcumin transdermal gel in an IL-10 knockout mouse model of inflammatory bowel disease. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 94(4): 1–13.
- Aviello, G. & Knaus, U.G. 2016. Themed Section: Redox Biology and Oxidative Stress in Health and Disease. *British Journal of Pharmacology*, 174: 1074–1718. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/bph.v174.12/>.
- Ballway, J.W. & Song, B.J. 2021. Translational approaches with antioxidant phytochemicals against alcohol-mediated oxidative stress, gut dysbiosis, intestinal barrier dysfunction, and fatty liver disease. *Antioxidants*, 10(3): 1–34.
- Bielak-Zmijewska, A., Grabowska, W., Ciolko, A., Bojko, A., Mosieniak, G., Bijoch, Ł. & Sikora, E. 2019. The role of curcumin in the modulation of ageing. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(5).
- Boroumand, N., Samarghandian, S. & Hashemy, S.I. 2018. Immunomodulatory, anti-inflammatory, and antioxidant effects of curcumin. *Journal of HerbMed Pharmacology*, 7(4): 211–219.

- Chen, S., Chen, L., Qi, Y., Xu, J., Ge, Q., Fan, Y., Chen, D., Zhang, Y., Wang, L., Hou, T., Yang, X., Xi, Y., Si, J. & Kang, L. 2020. *Bidobacterium adolescentis* improves lifespan and healthspan by regulating catalase activity and oxidative stress-associated metabolites. *Research Square*: 1–15. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-90247/v1>.
- Deepashree, S., Shivanandappa, T. & Ramesh, S.R. 2022. Genetic repression of the antioxidant enzymes reduces the lifespan in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, 192(1).
- Dumic, I., Nordin, T., Jecmenica, M., Stojkovic Lalosevic, M., Milosavljevic, T. & Milovanovic, T. 2019. Gastrointestinal tract disorders in older age. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2019.
- Eichele, D.D. & Kharbanda, K.K. 2017. Dextran sodium sulfate colitis murine model: An indispensable tool for advancing our understanding of inflammatory bowel diseases pathogenesis. *World Journal of Gastroenterology*, 23(33): 6016–6029.
- Eom, J.Y., Choi, S.H., Kim, H.J., Kim, D.H., Bae, J.H., Kwon, G.S., Lee, D.H., Hwang, J.H., Kim, D.K., Baek, M.C. & Cho, Y.E. 2022. Hemp-Derived Nanovesicles Protect Leaky Gut and Liver Injury in Dextran Sodium Sulfate-Induced Colitis. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(17).
- Farré, R., Fiorani, M., Rahiman, S.A. & Matteoli, G. 2020. Intestinal permeability, inflammation and the role of nutrients. *Nutrients*, 12(4).
- Fasano, A. 2020. Open Peer Review All disease begins in the (leaky) gut: role of zonulin-mediated gut permeability in the pathogenesis of some chronic inflammatory diseases [version 1; peer review: 3 approved]. <https://doi.org/10.12688/f1000research.20510.1>.
- Flatt, T. 2020. Life-history evolution and the genetics of fitness components in *drosophila melanogaster*. *Genetics*, 214(1): 3–48.
- Fukui, H. 2016. Increased Intestinal Permeability and Decreased Barrier Function: Does It Really Influence the Risk of Inflammation? *Inflammatory Intestinal Diseases*, 1(3): 135–145.

- Galasso, M., Gambino, S., Romanelli, M.G., Donadelli, M. & Scupoli, M.T. 2021. Browsing the oldest antioxidant enzyme: catalase and its multiple regulation in cancer. *Free Radical Biology and Medicine*, 172: 264–272.
- Hawkins, S.F.C. & Guest, P.C. 2017. Multiplex analyses using real-time quantitative PCR. In *Methods in Molecular Biology*. Humana Press Inc.: 125–133.
- He, Y. & Jasper, H. 2014. Studying aging in *Drosophila*. *Methods*, 68(1): 129–133.
- Heck, D.E., Shakarjian, M., Kim, H.D., Laskin, J.D. & Vetrano, A.M. 2010. Mechanisms of oxidant generation by catalase. In *Annals of the New York Academy of Sciences*. Blackwell Publishing Inc.: 120–125.
- Hewlings, S.J. & Kalman, D.S. 2017. Curcumin: A review of its effects on human health. *Foods*, 6(10).
- Huang, C., Lu, H.F., Chen, Y.H., Chen, J.C., Chou, W.H. & Huang, H.C. 2020. Curcumin, demethoxycurcumin, and bisdemethoxycurcumin induced caspase-dependent and -independent apoptosis via Smad or Akt signaling pathways in HOS cells. *BMC complementary medicine and therapies*, 20(1): 68.
- Huang, J., Guan, B., Lin, L. & Wang, Y. 2021. Improvement of intestinal barrier function, gut microbiota, and metabolic endotoxemia in type 2 diabetes rats by curcumin. *Bioengineered*, 12(2): 11947–11958.
- Ighodaro, O.M. & Akinloye, O.A. 2018. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4): 287–293.
- Joshi, M. & Deshpande, J.D. *POLYMERASE CHAIN REACTION: METHODS, PRINCIPLES AND APPLICATION*. www.ssjournals.com.
- Kinashi, Y. & Hase, K. 2021. Partners in Leaky Gut Syndrome: Intestinal Dysbiosis and Autoimmunity. *Frontiers in Immunology*, 12.
- Kuhn, P., Kalariya, H.M., Poulev, A., Ribnicky, D.M., Jaja-Chimedza, A. & Roopchand, D.E. 2018. Grape polyphenols reduce gut-localized reactive oxygen species associated with the development of metabolic syndrome in mice. *PLoS ONE*, 13(10).

- Lee, H.Y., Lee, S.H. & Min, K.J. 2022. The Increased Abundance of Commensal Microbes Decreases *Drosophila melanogaster* Lifespan through an Age-Related Intestinal Barrier Dysfunction. *Insects*, 13(2).
- Lee, K.S., Lee, B.S., Semnani, S., Avanesian, A., Um, C.Y., Jeon, H.J., Seong, K.M., Yu, K., Min, K.J. & Jafari, M. 2010. Curcumin extends life span, improves health span, and modulates the expression of age-associated aging genes in *drosophila melanogaster*. *Rejuvenation Research*, 13(5): 561–570.
- Lestari, M.L.A.D. & Indrayanto, G. 2014. Curcumin. In *Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology*. Academic Press Inc.: 113–204.
- Lü, J., Yang, C., Zhang, Y. & Pan, H. 2018. Selection of reference genes for the normalization of RT-qPCR data in gene expression studies in insects: A systematic review. *Frontiers in Physiology*, 9(NOV).
- Martel, J., Chang, S.H., Ko, Y.F., Hwang, T.L., Young, J.D. & Ojcius, D.M. 2022. Gut barrier disruption and chronic disease. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 33(4): 247–265.
- Martins, R., McCracken, A., Simons, M., Henriques, C. & Rera, M. 2018. How to Catch a Smurf? – Ageing and Beyond... In vivo Assessment of Intestinal Permeability in Multiple Model Organisms. *BIO-PROTOCOL*, 8(3).
- Nainu, F. 2018. Penggunaan *Drosophila melanogaster* Sebagai Organisme Model Dalam Penemuan Obat. *Jurnal Farmasi Galenika: Galenika Journal of Pharmacy*, 4(1): 50–67. <http://jurnal.untad.ac.id/jurnal/index.php/Galenika/index>.
- Onken, B., Kalinava, N. & Driscoll, M. 2020. Gluconeogenesis and PEPCK are critical components of healthy aging and dietary restriction life extension. *PLoS Genetics*, 16(8).
- Panchal, K. & Tiwari, A.K. 2017. *Drosophila melanogaster* “a potential model organism” for identification of pharmacological properties of plants/plant-derived components. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 89: 1331–1345.
- Paray, B.A., Albeshr, M.F., Jan, A.T. & Rather, I.A. 2020. Leaky gut and autoimmunity: An intricate balance in individuals health and the diseased state. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(24): 1–12.

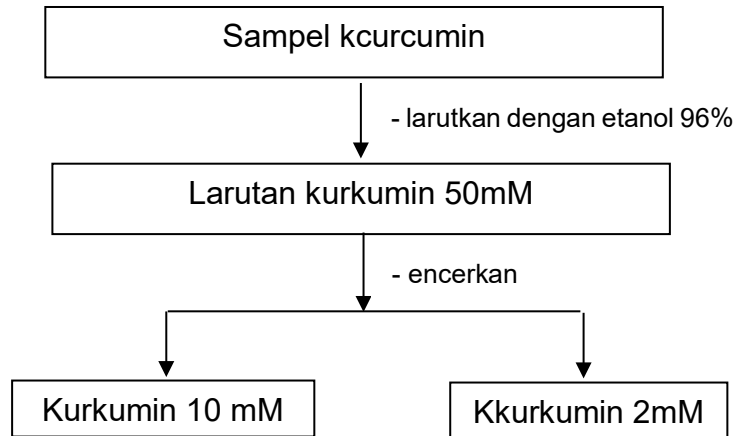
- Pereira, M.T., Malik, M., Nostro, J.A., Mahler, G.J. & Musselman, L.P. 2018. Effect of dietary additives on intestinal permeability in both *Drosophila* and a human cell co-culture. *DMM Disease Models and Mechanisms*, 11(12).
- Quinn, P.G. & Yeagley, D. 2005. *Insulin Regulation of PEPCK Gene Expression: A Model for Rapid and Reversible Modulation*.
- Rajas, F., Croset, M., Zitoun, C., Montano, S. & Mithieux, G. 2000. Induction of PEPCK gene expression in insulinopenia in rat small intestine. *Diabetes*, 49(7): 1165–1168.
- Rakotoarisoa, M., Angelov, B., Espinoza, S., Khakurel, K., Bizien, T. & Angelova, A. 2019. Cubic Liquid Crystalline Nanostructures Involving Catalase and Curcumin: BioSAXS Study and Catalase Peroxidatic Function after Cubosomal Nanoparticle Treatment of Differentiated SH-SY5Y Cells. *Molecules*, 24(17): 3058.
- Rera, M., Clark, R.I. & Walker, D.W. 2012. Intestinal barrier dysfunction links metabolic and inflammatory markers of aging to death in *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(52): 21528–21533.
- Rinkunaite, I., Simoliunas, E., Alksne, M., Dapkute, D. & Bukelskiene, V. 2021. Anti-inflammatory effect of different curcumin preparations on adjuvant-induced arthritis in rats. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 21(1).
- Sharifi-Rad, J., Rayess, Y. el, Rizk, A.A., Sadaka, C., Zgheib, R., Zam, W., Sestito, S., Rapposelli, S., Neffe-Skocińska, K., Zielińska, D., Salehi, B., Setzer, W.N., Dosoky, N.S., Taheri, Y., el Beyrouthy, M., Martorell, M., Ostrander, E.A., Suleria, H.A.R., Cho, W.C., Maroyi, A. & Martins, N. 2020. Turmeric and Its Major Compound Curcumin on Health: Bioactive Effects and Safety Profiles for Food, Pharmaceutical, Biotechnological and Medicinal Applications. *Frontiers in Pharmacology*, 11.
- Shin, S.K., Cho, H.W., Song, S.E. & Song, D.K. 2018. Catalase and nonalcoholic fatty liver disease. *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*, 470(12): 1721–1737.
- Sreejith, K.R., Ooi, C.H., Jin, J., Dao, D.V. & Nguyen, N.T. 2018. Digital polymerase chain reaction technology-recent advances and future perspectives. *Lab on a Chip*, 18(24): 3717–3732.

- Stewart, A.S., Pratt-Phillips, S. & Gonzalez, L.M. 2017. Alterations in Intestinal Permeability: The Role of the “Leaky Gut” in Health and Disease. *Journal of Equine Veterinary Science*, 52: 10–22.
- Suckow, B.K. & Suckow, M.A. 2006. *Lifespan Extension by the Antioxidant Curcumin in Drosophila Melanogaster*.
- Vanuytsel, T., Tack, J. & Farre, R. 2021. The Role of Intestinal Permeability in Gastrointestinal Disorders and Current Methods of Evaluation. *Frontiers in Nutrition*, 8.
- Wang, J., Ghosh, S.S. & Ghosh, S. 2017. Curcumin improves intestinal barrier function: modulation of intracellular signaling, and organization of tight junctions. *Am J Physiol Cell Physiol*, 312: 438–445. <http://www.ajpcell.orgC438>.
- Wang, T., Geng, S.-L., Guan, Y.-M. & Xu, W.-H. 2018. Deacetylation of metabolic enzymes by Sirt2 modulates pyruvate homeostasis to extend insect lifespan. *Aging*, 10(5): 1053–1072.
- Wang, Z. & Dong, C. 2019. Gluconeogenesis in Cancer: Function and Regulation of PEPCK, FBPase, and G6Pase. *Trends in Cancer*, 5(1): 30–45.
- Wen, Z., Liu, W., Li, X., Chen, W., Liu, Zhice, Wen, J. & Liu, Zhiping. 2019. A protective role of the Nrf2-Keap1 pathway in maintaining intestinal barrier function. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019.
- Wilms, E., Troost, F.J., Elizalde, M., Winkens, B., de Vos, P., Mujagic, Z., Jonkers, D.M.A.E. & Masclee, A.A.M. 2020. Intestinal barrier function is maintained with aging – a comprehensive study in healthy subjects and irritable bowel syndrome patients. *Scientific Reports*, 10(1).
- Xu, X.-Y., Meng, X., Li, S., Gan, R.-Y., Li, Y. & Li, H.-B. 2018. nutrients Bioactivity, Health Benefits, and Related Molecular Mechanisms of Curcumin: Current Progress, Challenges, and Perspectives. www.mdpi.com/journal/nutrients.
- Zhang, Y., Cai, H., Tao, Z., Yuan, C., Jiang, Z., Liu, J., Kurihara, H. & Xu, W. 2021. Ganoderma lucidum spore oil (GLSO), a novel antioxidant, extends the average life span in Drosophila melanogaster. *Food Science and Human Wellness*, 10(1): 38–44.

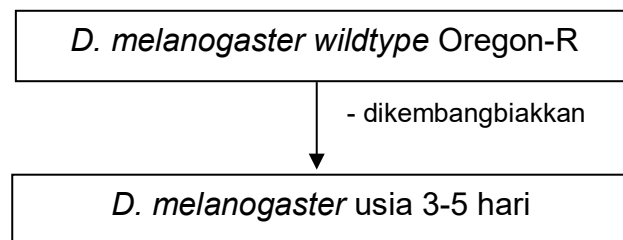
Zia, A., Farkhondeh, T., Pourbagher-Shahri, A.M. & Samarghandian, S. 2021.
The role of curcumin in aging and senescence: Molecular mechanisms.
Biomedicine and Pharmacotherapy, 134.

LAMPIRAN

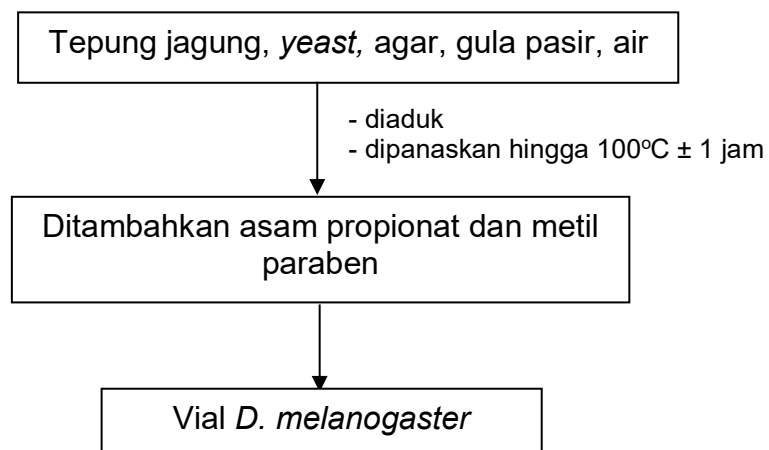
Lampiran 1. Preparasi sampel

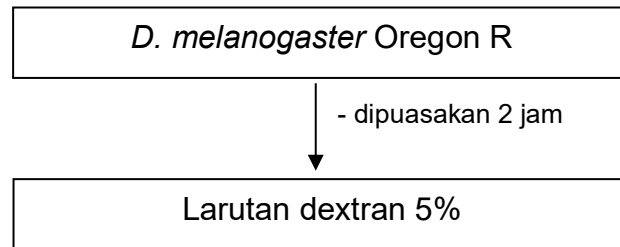
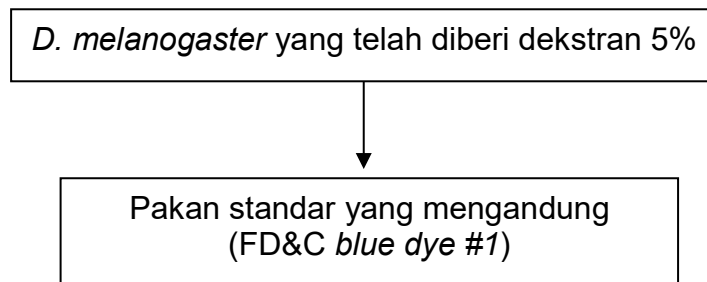
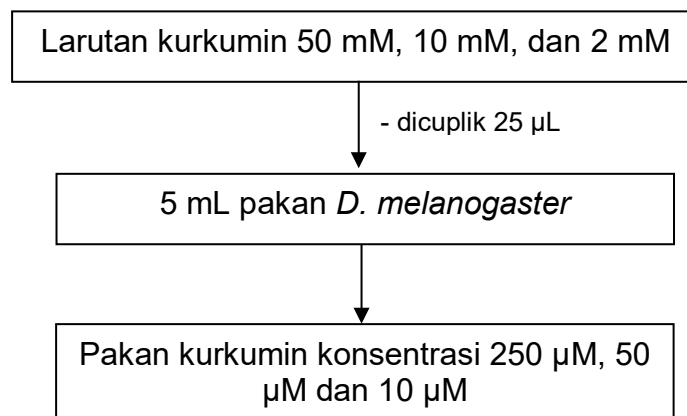


Lampiran 2. Penyiapan Hewan Uji

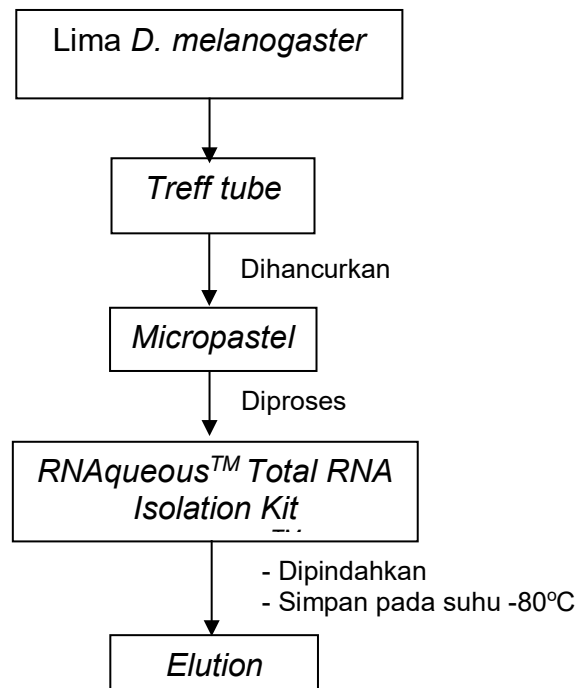


Lampiran 3. Pembuatan Pakan

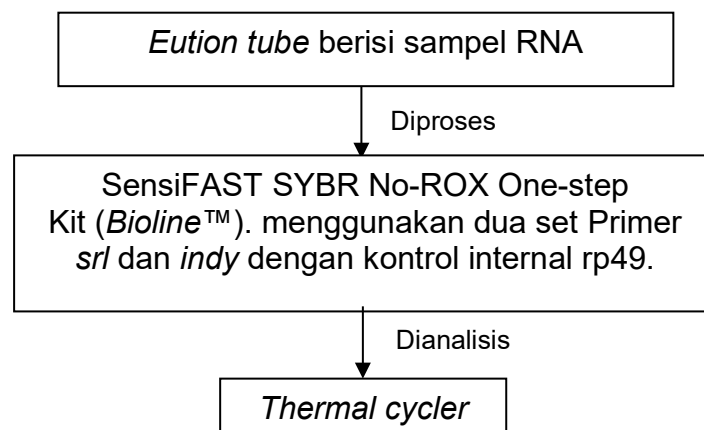


Lampiran 4. Pengujian Dekstran**Lampiran 5. Pengujian Smurf****Lampiran 6. Penyiapan Pakan Pengujian**

Lampiran 7. Penyiapan Sampel RNA



Lampiran 8. Analisis Ekspresi Gen



Lampiran 9. Perhitungan Pengenceran Kurkumin

Pembuatan Larutan kurkumin 50 mM (50×10^{-3} M)

$$M = \frac{m}{MR} \times \frac{1000}{ml}$$

$$50 \times 10^{-3} = \frac{m}{368,38} \times \frac{1000}{1}$$

$$m = 0,018419 \text{ gram (ad 1 ml EtOH 96\%)}$$

Dibuat pengenceran dengan konsentrasi 10 mM :

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$50 \times V_1 = 10 \times 1 \text{ ml}$$

$$V_1 = 0,2 \text{ ml}$$

$$V_1 = 200 \text{ } \mu\text{l (larutan kurkumin 10 mM, ad 1 ml etOH 96\%)}$$

Dibuat pengenceran dengan konsentrasi 2 mM :

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$50 \times V_1 = 2 \times 1 \text{ ml}$$

$$V_1 = 0.04 \text{ ml}$$

$$V_1 = 40 \text{ } \mu\text{l (Larutan kurkumin 2 mM, ad 1 ml EtOH 96\%)}$$

Pembuatan pakan Drosophila yang mengandung Kurkumin dengan

Konsentrasi 250 μ M

$$250 \text{ } \mu\text{M} = 250 \times 10^{-3} \text{ Mm}$$

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$50 \times V_1 = 250 \times 10^{-3} \times 5 \text{ ml}$$

$$V_1 = 25 \times 10^{-3} \text{ ml}$$

$$V_1 = 25 \mu\text{l (dari larutan kurkumin 50 mM, ad 5 ml pakan)}$$

Pembuatan pakan Drosophila yang mengandung kurkumin dengan konsentrasi 50 μM

$$50 \mu\text{M} = 50 \times 10^{-3} \text{ mM}$$

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$10 \times V_1 = 50 \times 10^{-3} \times 5 \text{ ml}$$

$$V_1 = 25 \times 10^{-3} \text{ ml}$$

$$V_1 = 25 \mu\text{l (dari larutan kurkumin 10 mM, ad 5 ml pakan)}$$

Pembuatan pakan Drosophila yang mengandung kurkumin dengan konsentrasi 10 μM

$$10 \mu\text{M} = 10 \times 10^{-3} \text{ mM}$$

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$2 \times V_1 = 10 \times 10^{-3} \times 5 \text{ ml}$$

$$V_1 = 25 \times 10^{-3} \text{ ml}$$

$$V_1 = 25 \mu\text{l (dari larutan kurkumin 2 mM, ad 5 ml pakan)}$$

Lampiran 10. Data Statistik

Tabel 2. Hasil one-way anova ekspresi gen *pepck*

ANOVA summary	Value
F	5,005
P Value	0,0536
P Value summary	ns
Significant diff among means (P<0,05)?	No
R square	0,8002

Tabel 3. Hasil uji lanjutan *Tukey's Multiple Comparison Test* ekspresi gen *pepck*

Tukey's Multiple Comparison Test	Mean Diff	Summary	Adjusted P Value
Kontrol tanpa perlakuan vs pelarut	-0,2155	ns	4,090
Kontrol tanpa perlakuan vs Kurkumin 250 μM	-0,2625	ns	4,982
Kontrol tanpa perlakuan vs Kurkumin 50 μM	-0,05400	ns	1,025
Kontrol tanpa perlakuan vs Kurkumin 10 μM	-0,03250	ns	0,6168
Kontrol Pelarut vs Kurkumin 250 μM	-0,04700	ns	0,8920
Kontrol Pelarut vs Kurkumin 50 μM	0,1615	ns	3,065
Kontrol Pelarut vs Kurkumin 10 μM	0,1830	ns	3,473
Kurkumin 250 μM vs Kurkumin 50 μM	0,2085	ns	3,957
Kurkumin 250 μM vs Kurkumin 10 μM	0,2300	ns	4,365
Kurkumin 50 μM vs Kurkumin 10 μM	0,02150	ns	0,4080

Tabel 4. Hasil *one-way anova* ekspresi gen *cat*

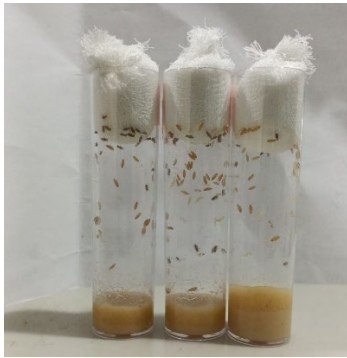
ANOVA summary	Value
F	5,338
P Value	0,0475
P Value summary	*
Significant diff among means ($P < 0,05$)?	Yes
R square	0,8103

Tabel 5. Hasil uji lanjutan *Tukey's Multiple Comparison* ekspresi gen *cat*

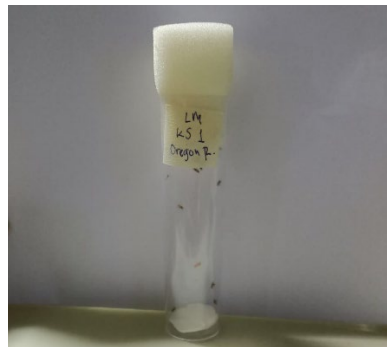
Tukey's Multiple Comparison Test	Mean Diff	Summary	Adjusted P Value
Kontrol Pelarut vs. Tanpa Perlakuan	0,03350	ns	0,3771
Kontrol tanpa perlakuan vs Kurkumin 250 μM	-0,3315	ns	5,277
Kontrol tanpa perlakuan vs Kurkumin 50 μM	-0,1455	ns	2,316
Kontrol tanpa perlakuan vs Kurkumin 10 μM	-0,0715	ns	1,138
Kontrol Pelarut vs. Kurkumin 250 μM	-0,3650	*	5,810
Kontrol Pelarut vs. Kurkumin 50 μM	-0,1790	ns	2,850
Kontrol Pelarut vs. Kurkumin 10 μM	-0,1050	ns	1,672

Kurkumin 250 μ M vs Kurkumin 50 μ M	0,1860	ns	2,961
Kurkumin 250 μ M vs Kurkumin 10 μ M	0,2600	ns	4,139
Kurkumin 50 μ M vs Kurkumin 10 μ M	0,0740	ns	1,178

Lampiran 11. Dokumentasi Penelitian



Gambar 13. Penyiapan hewan uji



Gambar 14. Pengujian dosis dextran



Gambar 15. Pembuatan pakan



Gambar 16. Pembuatan pakan kurkumin



Gambar 17. Isolasi RNA



Gambar 18. Pengujian ekspresi gen