

**EKSPLORASI EFEK ETANOL TERHADAP EKSPRESI
GEN JAK-STAT *Drosophila melanogaster***

**EXPLORATION OF ETHANOL EFFECTS ON THE
EXPRESSION OF *Drosophila melanogaster* JAK-STAT
GENES**

**RESKI AMALIA ROSA
N111 16 051**



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

**EKSPLORASI EFEK ETANOL TERHADAP EKSPRESI GEN JAK-STAT
*Drosophila melanogaster***

**EXPLORATION OF ETHANOL EFFECTS ON THE EXPRESSION OF
Drosophila melanogaster JAK-STAT GENES**

SKRIPSI

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

**RESKI AMALIA ROSA
N111 16 051**

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

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**EKSPLORASI EFEK ETANOL TERHADAP EKSPRESI GEN JAK-STAT
*Drosophila melanogaster***

**EXPLORATION OF ETHANOL EFFECTS ON THE EXPRESSION OF
Drosophila melanogaster JAK-STAT GENES**

Disusun dan diajukan oleh:

**RESKI AMALIA ROSA
N111 16 051**

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian yang dibentuk dalam
rangka Penyelesaian Studi Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin
Pada tanggal 07 Januari 2021
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,



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

Pembimbing Pertama,



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

Ketua Program Studi



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

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Reski Amalia Rosa

NIM : N111 16 051

Program Studi : Farmasi

Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul:

“Eksplorasi Efek Etanol Terhadap Ekspresi Gen JAK-STAT

Drosophila melanogaster”

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis ini benar benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 07 Januari 2021

Yang menyatakan



Reski Amalia Rosa
N111 16 051

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah puji syukur kepada Allah *Subhanahu Wa Ta'ala* atas segala rahmat, karunia, hidayah, dan taufik-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul “Eksplorasi Efek Etanol Terhadap Ekspresi Gen JAK-STAT *Drosophila melanogaster*” sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan program studi S1 Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini ada banyak pihak yang terlibat memberikan doa, dukungan, bantuan dan nasehat yang tiada hentinya. Pada kesempatan ini, izinkan penulis mengucapkan dengan tulus rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

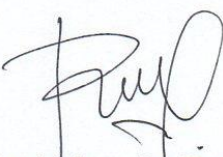
1. Dekan dan Wakil Dekan Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan kontribusi dalam pengembangan mutu dan kualitas dari Fakultas Farmasi sehingga kami dapat menikmati hasil dari apa yang telah dikerjakan.
2. Dosen Pembimbing penulis, Bapak Firzan Nainu, S.Si., M. Biomed., Sc.,Ph.D.,Apt. sebagai Pembimbing Utama sekaligus sebagai penasehat akademik yang penulis anggap sebagai orangtua di kampus yang senantiasa memberikan bimbingan dan nasehat dari awal perkuliahan hingga penyelesaian tugas akhir; dan Ibu Dr. Risfah Yulianty, S.Si., M.Si., Apt sebagai Pembimbing Pendamping yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran dan ilmunya kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

3. Tim Penguji, Bapak Usmar, S.Si., M.Si., Apt. dan ibu Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt. yang telah memberikan kritik dan saran dalam penyusunan skripsi ini.
4. Bapak/Ibu Dosen Fakultas Farmasi yang telah memberikan ilmu, nasehat, dan pengalaman selama penulis menjalani perkuliahan, juga kepada pegawai staf yang telah membantu penulis.
5. Teman-teman angkatan 2016 “NEOSTIGMINE” yang telah bersama-sama dengan penulis berjuang untuk meraih mimpi di Fakultas Farmasi.
6. Teman kelompok penelitian UFRG, Nadila Pratiwi Latada, Julia Citra Prastika, Sri Wahyuni M, Adila, Nur Annisah, Masita Rahmasari, Fadil Adam Dzaki, Cristian Pakadang, dan Putu Grista yang selalu menyediakan waktu, tenaga, dan pikirannya untuk sama-sama berjuang dalam proses penelitian. Serta Tri Puspita Roska yang senantiasa memberikan dukungan semangat dalam proses penyelesaian skripsi ini.
7. Teman-teman Korps Asisten Biofarmasi-Farmakologi dan Toksikologi yang telah membantu dalam menuntut ilmu sebagai asisten laboratorium dan teman berbagi pengalaman.
8. Teman-teman pengurus UKM LDK MPM Unhas dan LD Salsabil FF-UH yang telah memberikan motivasi dalam penyelesaian penelitian ini.

Kemudian, terkhusus kepada kedua orangtua penulis, Ayahanda Saharuddin dan Ibunda Ruslia yang senantiasa memberikan dukungan dan memotivasi, baik itu materi maupun doa yang tak henti-hentinya dihaturkan kepada penulis. Sehingga penulis dapat menyelesaikan tiap tahapan dengan mudah. Terima kasih juga karena telah hadir dalam setiap kondisi baik suka maupun duka. Terima kasih telah memberikan cinta dan kasih sayang yang tulus serta menjadi pendengar setia penulis dalam mencurahkan isi hati terkait masalah yang dihadapi selama menyusun skripsi ini.

Kepada pihak yang tidak sempat disebutkan namanya, semoga Allah *Subhanahu wa ta'ala* senantiasa memberikan Rahmat Nya kepada kita semua. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan sehingga perlu saran dan kritik dari semua pihak. Kiranya skripsi ini dapat memberi manfaat untuk kita semua.

Makassar, 07 Januari 2021



Reski Amalia Rosa

ABSTRAK

RESKI AMALIA ROSA. “Eksplorasi Efek Etanol Terhadap Ekspresi Gen JAK-STAT Pada *Drosophila melanogaster*” (dibimbing oleh Firzan Nainu dan Risfah Yulianty).

Etanol pada dosis tinggi bersifat toksik dan dapat menyebabkan kerusakan pada organ-organ tubuh termasuk otak, hati, dan ginjal. Di dalam tubuh, etanol akan memicu terbentuknya *reactive oxygen species* (ROS). Kadar ROS yang berlebih akan menyebabkan kematian sel melalui jalur apoptosis. Dalam hubungannya dengan apoptosis, jalur JAK-STAT memiliki peran penting dalam mengekspresikan *tot* sebagai respon terhadap kondisi stres pada sel dan juga mengatur proliferasi sel. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh paparan etanol terhadap ekspresi gen *upd3* dan *totA* pada JAK-STAT *pathway* menggunakan organisme model *Drosophila melanogaster*. Untuk mencapai tujuan tersebut, *D. melanogaster w¹¹¹⁸* dipaparkan etanol secara inhalasi dengan konsentrasi 85% dan 65%, kemudian dilanjutkan dengan isolasi RNA dan analisis ekspresi gen dilihat dari hasil RT-qPCR. Selanjutnya dilakukan pengujian tingkat kesintasan *D. melanogaster* yang dipaparkan etanol pada konsentrasi yang telah ditentukan. Pada pengujian ekspresi gen diperoleh hasil bahwa ekspresi *totA* mengalami peningkatan yang signifikan seiring dengan meningkatnya konsentrasi etanol. Namun, hal tersebut tidak disertai dengan peningkatan ekspresi gen *upd3*. Kondisi ini berujung pada penurunan tingkat kesintasan *D. melanogaster* yang mendapatkan paparan alkohol. Sebagai kesimpulan, peningkatan ekspresi *totA* mengindikasikan bahwa kondisi stres terjadi pada sel namun hal tersebut tidak diperantarai oleh jalur utama yang dimediasi oleh gen *upd3* dan hal ini berujung pada penurunan tingkat kesintasan organisme model yang digunakan dalam studi ini.

Kata Kunci: Lalat buah, etanol, JAK-STAT, *upd3*, *totA*

ABSTRACT

RESKI AMALIA ROSA. “Exploration of Ethanol Effects on the Expression of *Drosophila melanogaster* JAK-STAT genes” (supervised by Firzan Nainu and Risfah Yulianty).

High dose ethanol is toxic and can promote damage on certain organs such as brain, liver, and kidney. In human's body, ethanol can trigger the formation of reactive oxygen species (ROS). High concentration of ROS can cause cell death via apoptosis. In relation to apoptosis, JAK-STAT pathway plays an important role in the expression of *tot* as a response to cell stress and also to regulate cell proliferation. The purpose of this research is to investigate the effect of ethanol exposure on the expression of *upd3* and *totA* genes in JAK-STAT pathway by using model organism *Drosophila melanogaster*. To achieve this purpose, *D. melanogaster w¹¹¹⁸* was exposed to ethanol at concentration of 85% and 65% followed by RNA isolation and gene expression analysis based on the RT-qPCR results. Next, survival analysis was performed on *D. melanogaster* that have been exposed to ethanol at given concentrations. In gene expression analysis, it was found that the expression of *totA* was significantly enhanced in response to ethanol in a concentration-dependent manner. However, it was not accompanied by elevated expression of *upd3*. This condition was culminated in a decline of survival rate in the ethanol-exposed *D. melanogaster*. In conclusion, an increase in *totA* expression indicates that stress conditions occur in cells but this is not mediated by the *upd3* gene as canonical pathway and this leads to a decrease in the survival rate of the model organism used in this study.

Keyword: fruit fly, ethanol, JAK-STAT, *upd3*, *totA*

DAFTAR ISI

	halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	v
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	3
I.3 Tujuan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
BAB III METODE PENELITIAN	20
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	26
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	31
V.1 Kesimpulan	31
V.2 Saran	31
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN	35

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Efek etanol pada <i>neurochemical system</i>	5
2. Karakteristik lalat buah <i>Drosophila melanogaster</i> dibandingkan dengan beberapa organisme model	10
3. Komponen Utama JAK-STAT	13
4. Hasil pengukuran konsentrasi RNA menggunakan sampel lama (kontrol sehat, <i>D. melanogaster</i> yang dipaparkan etanol pada konsentrasi 86% dan 65)	40
5. Hasil pengukuran konsentrasi RNA menggunakan sampel baru (kontrol sehat, <i>D. melanogaster</i> yang dipaparkan etanol pada konsentrasi 86% dan 65%)	41

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Jalur proses kematian sel melalui apoptosis	6
2. Morfologi <i>D. melanogaster</i>	8
3. Perbedaan <i>D. melanogaster</i> jantan dan betina secara fenotip	9
4. Siklus Hidup <i>D. melanogaster</i>	11
5. Jalur JAK-STAT serta komponennya	13
6. Jalur Aktivasi JAK-STAT	14
7. Model Aktivasi <i>totA</i> dalam merespon <i>septic injury</i>	15
8. Induksi panas (suhu >40 °C) pada lalat dapat meningkatkan ekspresi <i>totA</i>	16
9. Proses aktivasi ekspresi <i>totA</i>	17
10. Skema dari tahap proses amplifikasi yang terdiri dari 1) denaturasi; 2) primer Annealing; 3) Elongasi	19
11. Data Ekspresi Gen <i>totA</i> <i>D. melanogaster</i> <i>w¹¹¹⁸</i> sehat, dan kelompok yang diberikan etanol 65% dan 85%.	26
12. Profil ekspresi gen <i>totA</i> pada <i>D. melanogaster</i>	27
13. Hasil uji survival <i>D. melanogaster</i> <i>w¹¹¹⁸</i> pada konsentrasi etanol 85%, 65%, dan kontrol sehat	28
14. Jalur utama dalam aktivasi jalur JAK-STAT dan Ekspresi gen <i>upd3</i> pada <i>D. melanogaster</i> sehat dan kelompok yang diberikan etanol 65% dan 85%.	29

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema Kerja	35
2. Komposisi Pakan	37
3. Dokumentasi Penelitian	38
4. Hasil pengukuran Konsentrasi RNA	40
5. Lokasi Primer	42

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Etanol merupakan salah satu senyawa kimia yang sangat dikenal oleh manusia. Etanol dapat menyebabkan berbagai efek pada tubuh, dimulai dari munculnya rasa senang atau euforia, dehidrasi, kehilangan fungsi motorik, dan sedasi pada penggunaan etanol dengan dosis rendah, hingga pada timbulnya sesak pada pernapasan. Kerusakan pada organ-organ tubuh termasuk otak, hati, dan ginjal, bahkan kematian akibat penggunaan alkohol yang berlebihan (Scholz *et al*, 2000; Roehrs and Roth, 2001).

Romeo *et al.* (2007) menyatakan bahwa secara langsung etanol memiliki hubungan dengan sistem imun. Etanol dapat menyebabkan supresi sistem imun, sehingga berbagai penyakit infeksi dapat timbul sebagai efek samping dari penggunaan alkohol. Selain itu, kadar alkohol yang berlebih dalam tubuh akan memicu terbentuknya *reactive oxygen species* (ROS). Inilah yang telah dibuktikan berkontribusi besar dalam proses transformasi sel normal menjadi sel tumor yang pada akhirnya mengaktifkan berbagai sistem imun yang ada dalam tubuh (Ratna and Mandrekar, 2017). Di sisi lain ROS yang berlebih akan menyebabkan kematian sel melalui jalur apoptosis (Dutordoir and Bates, 2016).

Secara umum, apoptosis merupakan proses kematian sel sebagai respon terhadap beberapa kondisi patologis yang berbahaya, seperti inflamasi kronik, aterosklerosis, kanker, permasalahan respirasi, dan neurodegeneratif. Sel-sel yang mengalami apoptosis akan direspon oleh makrofag dan sel-sel fagosit lainnya melalui proses fagositosis sel apoptosis yang pada akhirnya mengurangi sel-sel mati dengan meminimalkan kerusakan pada sel lainnya (Dutordoir and Bates, 2016). Sel-sel apoptosis yang gagal dibersihkan melalui proses fagositosis, kemudian berlanjut pada tahap nekrosis (Arandjelovic and Ravichandran, 2016). Selama proses nekrosis, sel melepaskan DAMPs (*Damage Associated Molecule Patterns*) yang merupakan molekul endogen pro-inflamasi dan mengaktifkan sistem imun (Martin, 2016).

Jessica *et al.* (2009) memperlihatkan bahwa paparan etanol pada hewan coba tikus menyebabkan stres oksidatif yang memicu apoptosis dan berkontribusi dalam menyebabkan kerusakan pada organ hati. Lebih lanjut, dengan menggunakan organisme model *Drosophila melanogaster*, Edwin (2018) mendemonstrasikan bahwa paparan etanol dapat menginduksi apoptosis pada *D. melanogaster* dan hal tersebut berujung pada penurunan tingkat kesintasan (*survival rate*). Penelitian lanjutan yang dilakukan kemudian memberikan indikasi bahwa apoptosis dan penurunan tingkat kesintasan berhubungan dengan status respon imun pada jalur sinyal Toll, namun tidak dengan jalur sinyal IMD, dari lalat buah (Latada 2020, komunikasi pribadi).

Drosophila melanogaster memiliki tiga jalur utama sistem imun yang homolog dengan manusia, yaitu jalur Toll, IMD (*Immune Deficiency*) dan JAK-STAT (*Janus Tyrosine Kinase-Signal Transducers and Activator of Transcription*). Jalur JAK-STAT merupakan salah satu jalur yang penting dari *D. melanogaster* karena memiliki berbagai peran, termasuk di antaranya sebagai indikator stres sel (melalui ekspresi Tot) dan juga dalam mengatur proliferasi sel pada kondisi apoptosis (Agaïsse and Perrimon, 2004; Caldow and Smith, 2012). Hingga saat ini belum tersedia informasi mengenai apakah jalur sinyal JAK-STAT teraktivasi akibat paparan etanol secara inhalasi pada *D. melanogaster*. Hal inilah yang kemudian menjadi latar belakang penelitian ini. Eksplorasi aktivasi jalur JAK-STAT *D. melanogaster* sebagai respon terhadap paparan etanol dapat dilakukan dengan cara memeriksa level ekspresi gen terkait JAK-STAT, yaitu *upd3* dan *totA*.

I.2. Rumusan Masalah

Apakah pengaruh paparan etanol terhadap ekspresi gen *upd3* dan *totA* pada JAK-STAT *pathway* pada *Drosophila melanogaster*.

I.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui pengaruh paparan etanol terhadap ekspresi gen *upd3* dan *totA* pada JAK-STAT *pathway* pada *Drosophila melanogaster*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Etanol

Berdasarkan Farmakope Indonesia Edisi 3 bahwa etanol merupakan campuran antara etil alkohol dan air. Etanol (C_2H_5OH) berbentuk cairan tidak berwarna, jernih, mudah menguap, serta memiliki bau khas. Secara farmakologi, etanol merupakan salah satu bahan obat yang sangat mudah menguap dan memiliki efek langsung pada neurotransmitter sistem saraf dengan rentang tertentu (Goodman and Gillman, 2011).

Etanol memiliki efek fisiologis pada sistem saraf pusat (*Central Neuron System*) dapat mengganggu keseimbangan antara neurotransmitter eksikatori dan inhibitori di otak, sehingga menghasilkan efek anxiolysis, ataxia, dan sedasi. Selain itu, etanol dapat memberikan efek melalui stimulasi terhadap fungsi protein, sebagaimana yang tertera di Tabel 1.

Tabel 1. Efek etanol pada neurotransmitter sistem saraf

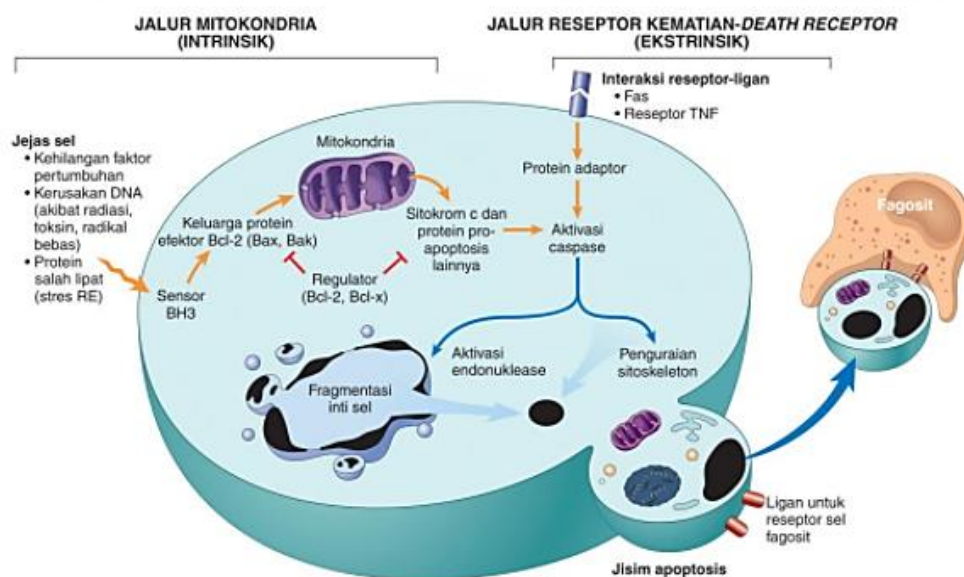
No.	Neurotransmitter	Efek
1	GABA _A	Melepaskan GABA, meningkatkan densitas reseptor.
2	NMDA	Menghambat postsinaps reseptor NMA
3	DA	Meningkatkan DA di sinaps
4	ACTH	Meningkatkan konsentrasi ACTH pada CNS dan darah
5	Opioid	Melepaskan β endorphin, mengaktivasi μ reseptor
6	5-HT	Meningkatkan 5-HT di celah sinaps.
7	Cannabinoid	Meningkatkan aktivitas CB1 -> perubahan DA, GABA, dan aktivitas glutamat.

Sumber: Goodman and Gillman. 2011. The Pharmacological Basis of Therapeutics. The Mc-Graw Hill. California. 629-634.

II.2 Apoptosis

Apoptosis atau kematian sel yang diprogramkan adalah suatu proses biologis yang berperan dalam proses pertumbuhan, seperti selama metamorfosis pada serangga dan amfibi, dan ogenesis pada seluruh organisme multiseluler. Proses ini memiliki peran yang penting dalam proses dinamik seperti remodeling jaringan dan respon terhadap stres serta dapat diinisiasi oleh berbagai hal, salah satunya yaitu induksi kerusakan DNA oleh radiasi dan bahan kimiawi, respon stres, faktor pertumbuhan, serta adanya pemicu pada reseptor tertentu. Dalam regulasi sistem imun, apoptosis disebut sebagai mekanisme perlindungan yang secara langsung melisis sel yang terinfeksi virus, serta sel asing (Abbas and Lichtman, 2007; Wu and Ding, 2001).

Terdapat dua jalur terjadinya apoptosis, yaitu instrinsik dan ekstrinsik apoptosis (Gambar 1). Jalur instrinsik atau mitokondria yaitu jalur yang melibatkan protein tertentu, sehingga menyebabkan kebocoran mitokondria dan protein-protein yang menginduksi kematian sel yang seharusnya berada di dalam mitokondria dilepaskan. Sedangkan, jalur ekstrinsik atau *death receptor* yaitu adanya pemicu yang menyebabkan aktivasi kematian sel (Abbas and Lichtman, 2007).



Gambar 1. Jalur proses kematian sel melalui apoptosis (Sumber: Kumar et al. 2019)

II.3 *Drosophila melanogaster* (Lalat Buah)

Drosophila melanogaster (lalat buah) merupakan salah satu jenis dari hewan coba yang digunakan dalam berbagai jenis penelitian. Lalat buah memiliki beberapa kelebihan, yaitu mudah dalam hal regenerasi (waktu generasi), mudah dalam mengkultur hewan coba ini dengan siklus hidup yang cepat hanya sekitar 12 hari pada suhu ruang untuk reproduksi

lalat dewasa. Kemudian, memiliki biaya pemeliharaan yang murah, dan hewan betina dapat memiliki keturunan hingga 100 lebih. Selain itu, organisme model ini memiliki kemiripan genetik yang cukup besar terhadap manusia, yaitu sekitar 75%. Secara umum, manusia dan *D. melanogaster* identik pada level nukleotida atau protein dengan persentase sekitar 40% homolog, bahkan pada domain fungsional dapat mencapai 80-90% atau lebih tinggi (Dahman, 2008; Jakson, 2008; Nainu, 2018; Rothenfluh, 2012).

Lalat buah atau *D. melanogaster* mengalami pertumbuhan mulai dari embrio, larva, pupa dan lalat dewasa. Pada lalat dewasa memiliki struktur dengan fungsi yang mirip dengan mamalia, yaitu pada fungsi jantung, paru-paru, ginjal, usus, dan reproduksi. Otak lalat dewasa memiliki lebih dari 1000 neuron dan neuropil yang memediasi kebiasaan kompleks dari organisme ini, termasuk tidur, makan, agresif, dan lainnya. Secara signifikan, respon dari organisme ini terhadap kebanyakan obat, khususnya kerja CNS mirip dengan respon pada mamalia (Pandey and Nichols, 2011).

II.3.1. Taksonomi *Drosophila melanogaster*

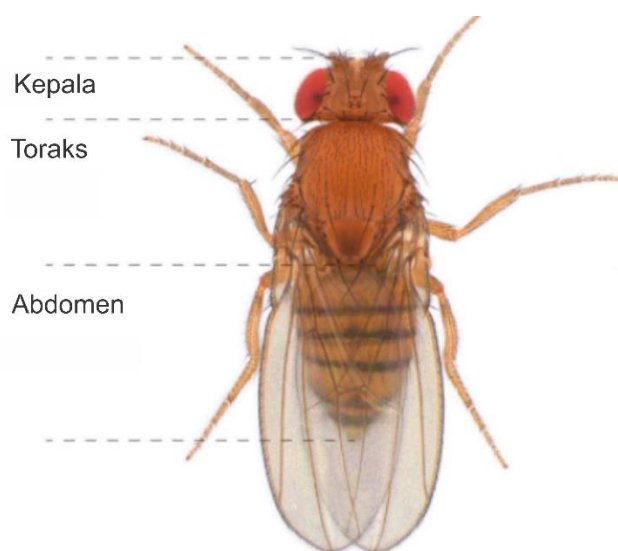
Drosophila melanogaster dapat diklasifikasikan sebagai berikut: (Perveen, 2018).

Kingdom : Animalia

Filum : Arthropoda

Kelas : Insecta
Ordo : Diptera
Family : Drosophilidae
Genus : *Drosophila*
Spesies : *Drosophila melanogaster*

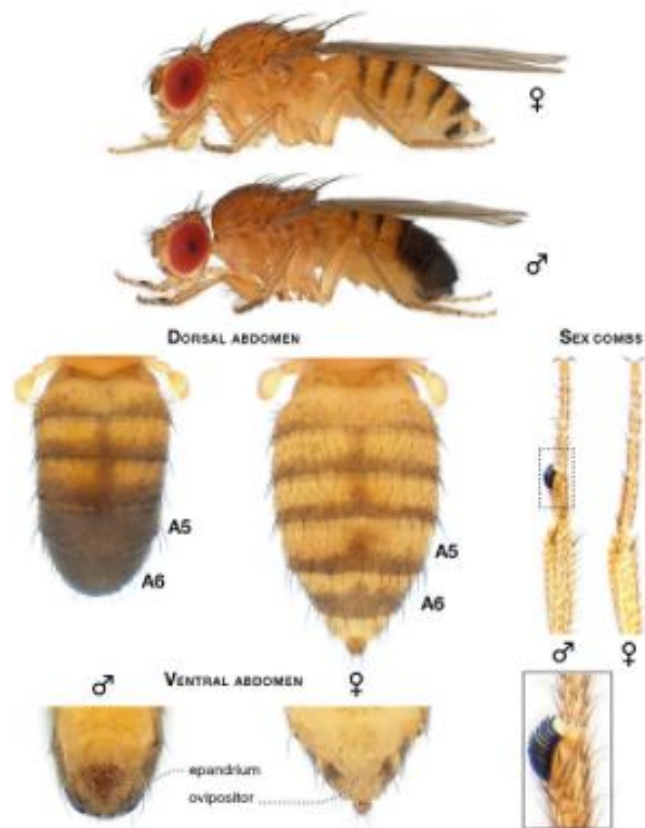
II.3.2. Morfologi dan Karakteristik *Drosophila melanogaster*



Gambar 2. Morfologi *Drosophila melanogaster* (Sumber: Chyb and Sylwester, 2013)

Tubuh lalat terdiri atas tiga bagian utama yaitu kepala, toraks, dan perut (abdomen) (Gambar 2). Lalat buah jenis betina memiliki berat 1,4 mg, sedangkan jantan memiliki berat sekitar 0,8 mg. Lalat jantan dan betina dapat dibedakan dengan melihat warna pada ujung posterior dan bentuk lingkaran pada abdomen. Selain itu, lalat jantan juga memiliki *sex combs* pada bagian kakinya (Gambar 3) (Dahman, 2008).

Secara umum, deskripsi mengenai morfologi dan karakteristik *D. melanogaster* dibandingkan dengan hewan model lainnya dapat dilihat pada Tabel 2.



Gambar 3. Perbedaan *D. melanogaster* jantan dan betina secara fenotip (Sumber: Chyb and Sylwester, 2013)

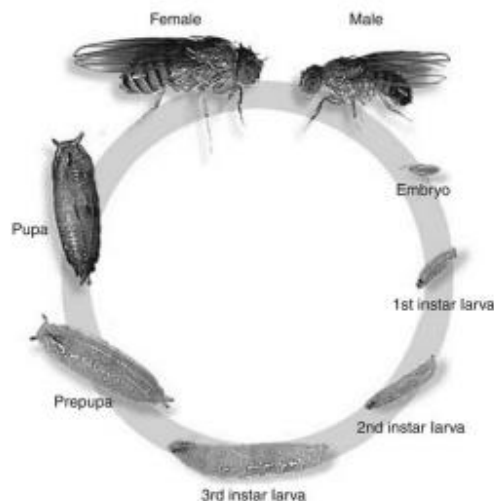
Tabel 2. Karakteristik *D. melanogaster* dibandingkan dengan beberapa organisme model

NO	Karakteristik	Lalat buah <i>Drosophila melanogaster</i>	Cacing gelang <i>Caenorhabditis elegans</i>	Zebrafish <i>Danio rerio</i>	Mencit <i>Mus musculus</i>
1	Ukuran tubuh	3 mm	1 mm	40 mm	10 cm
2	Ukuran genom	~180 MB	~100 MB	~1,4 GB	~2,6 GB
3	Jumlah kromosom	8	12	50	40
4	Jumlah gen	~13.600	~19.000	~25.000	~25.000
5	Siklus hidup	~10 hari (pada 25°C)	~3,5 hari (pada 20°C)	~3 bulan	~3-4 bulan
6	Masa hidup	90-120 hari	3-4 minggu	~3,5 tahun	~4 tahun
7	Pertumbuhan embrio	Diluar tubuh	Di dalam tubuh	Di luar tubuh	Di dalam tubuh
8	Kemampuan reproduksi	30-50 telur/hari	~300/tiga hari pada puncak reproduksi	~200/minggu	~5-6 ekor pada masa melahirkan
9	Homologi dengan manusia	~75%	~65%	~70%	~99%
10	Ketersediaan genotip mutan	++++	+++	+++	++
11	Ketersediaan jenis transgenic	++++	++++	+	+
12	Skrining <i>forward genetics</i>	++++	++++	+++	+
13	Skrining <i>reverse genetics</i>	++++	+++	++	+
14	Kode etik	Tidak membutuhkan	Tidak membutuhkan	Tidak membutuhkan	Membutuhkan

Sumber: Nainu, F. 2018. Penggunaan *Drosophila melanogaster* Sebagai Organisme Model Dalam Penemuan Obat. *Jurnal Farmasi Galenika*. 4(1):50-67.

II.3.3. Siklus Hidup *Drosophila melanogaster*

Siklus hidup *D. melanogaster* membutuhkan waktu sekitar 10 hari lamanya, yang dimulai dengan munculnya telur kemudian setelah kurang lebih 24 jam akan muncul instar pertama larva. Pertumbuhannya membutuhkan waktu selama 4 hari dan pada saat tersebut berat larva meningkat sekitar 200x dari instar larva pertama. Kemudian, pada hari ke-5 larva menjadi prepupa dan sekitar 4 hari waktu yang dibutuhkan untuk menjadi pupa. Pada lalat dewasa memiliki panjang tubuh sekitar 3 mm untuk jantan, sedangkan betina memiliki ukuran tubuh yang lebih panjang (Dahman, 2008).



Gambar 4. Siklus hidup *Drosophila melanogaster* (Dahman, 2008)

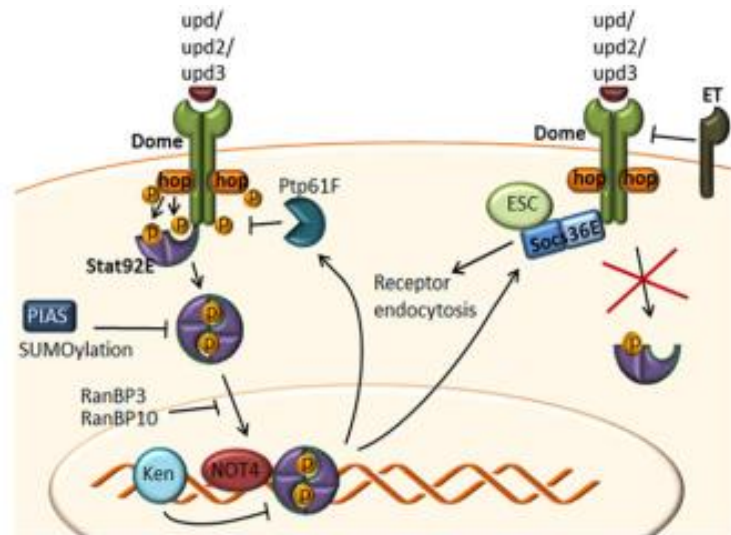
II.4 Sistem Imun *Drosophila melanogaster*

Sistem imun pada *D. melanogaster* terdapat tiga jalur dengan fungsinya masing-masing, yaitu: Toll, Imd (*Immune Deficiency*), dan JAK-STAT (*Janus Tyrosine Kinase-Signal Transducers and Activator of Transcription*). Jalur Toll berfungsi sebagai salah satu respon imun terhadap fungi serta bakteri gram positif. Jalur Toll pada *D. melanogaster* mirip dengan jalur *MYD88-dependent Toll Like Receptor* pada manusia. Kemudian, Imd berfungsi sebagai salah satu respon imun terhadap bakteri gram negatif. Pada manusia, Imd mirip dengan TNF (*Tumor Necrosis Factor*) (Buchon *et al.* 2014).

II.4.1 JAK/STAT

JAK-STAT merupakan jalur signal yang pertama diidentifikasi di mamalia karena memiliki peran dalam hal sitokin dan faktor pertumbuhan. Dalam hal regulasi sistem imun, salah satu contohnya yaitu JAK/STAT (Gambar 5) memiliki hubungan dengan beberapa aspek dari sistem imun termasuk dalam mengontrol respon inflamasi dan penyembuhan luka maupun pada aktivasi neutrofil dan makrofag. Jalur signal ini juga terdapat pada mamalia yang aktif jika diinduksi oleh sitokin. Selain itu, jalur ini teraktivasi sebagai respon kondisi stres yang dibuktikan dari suatu penelitian, menyatakan bahwa *TotA* terinduksi oleh adanya tekanan mekanik, dehidrasi, dan panas atau dalam kondisi stres (Agaisse and Perrimon, 2004; Ekengren *et al.* 2001; Ramet dan Myllymaki, 2014). Jalur

JAK/STAT pada *D. melanogaster* secara umum dapat diidentifikasi melalui perannya dalam segmetasi embrio.



Gambar 5. Jalur JAK-STAT serta komponennya (Sumber: Ramet dan Myllymaki, 2014)
Terdapat empat komponen utama dari jalur ini, yaitu ligan unpaired (Upd), reseptor domeless (Dome), JAK (Hopscotch/Hop) dan STAT (STAT92E/Marelle) (Agaisse and Perrimon, 2004)

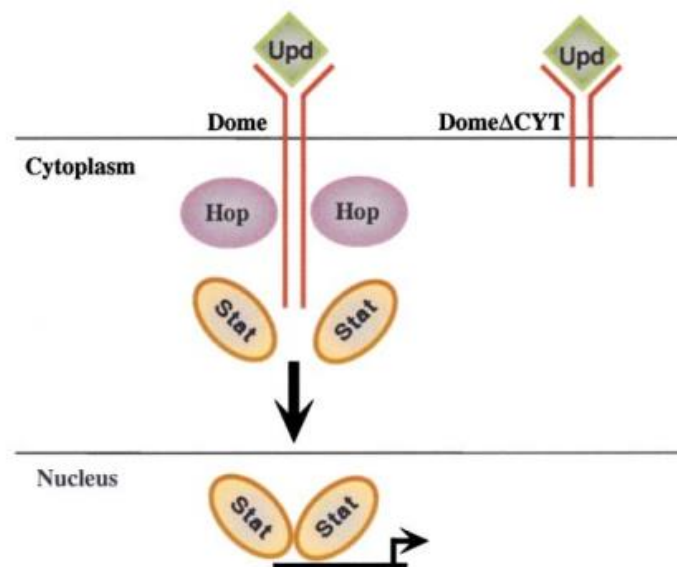
Tabel 3. Komponen Utama JAK-STAT

Komponen Utama JAK-STAT		
No.	Komponen pada <i>D. melanogaster</i>	Homolog pada Manusia
1.	Unpaired (Upd) 1,2,3	Sitokin dan interleukin
2.	Domeless (Dome)	Reseptor Interleukin-6
3.	Hopscotch (Hop)	Janus Kinase (Jak) 1, 2, 3, Tyk 2
4.	STAT92E	STAT1, 2, 3, 4, 5a, 5b, 6

Sumber: Trivedi, S. and Gaiano, M. 2018. *Drosophila* Jak/STAT Signaling: Regulation and Relevance in Human Cancer and Metastasis. *International Journal of Molecular Sciences*.

II.4.2 Unpaired 3 (Upd3)

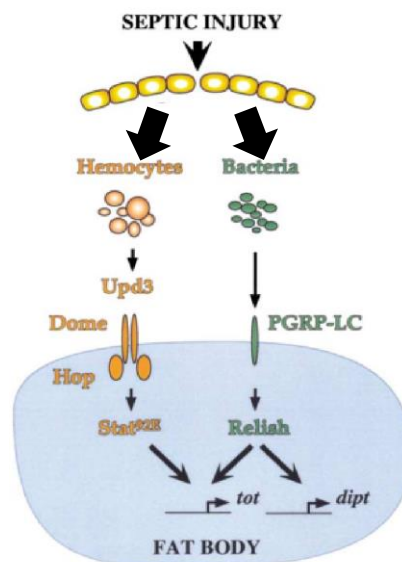
Unpaired (Upd) merupakan salah satu komponen dari jalur signal JAK-STAT, yang berfungsi untuk mengaktifkan jalur signal ini pada *D. melanogaster* (Agaisse and Perrimon, 2004). Upd terdiri dari beberapa jenis, yaitu *unpaired* (upd), upd2, dan upd3. Ketiga molekul upd tersebut dapat diinduksi secara lokal sebagai respon kerusakan jaringan atau pada kondisi stres. Selain itu, terdapat gen yang diinduksi karena kondisi stres yaitu tot (Turandot) yang ekspresinya bergantung pada jalur signal JAK-STAT dan Imd (Ramet and Myllymaki, 2014). Aktivasi JAK-STAT dimulai dari molekul Upd yang diaktivasi melalui ikatan dengan reseptor Domeless (Dome) yang fungsinya mirip dengan reseptor sitokin class I pada mamalia, seperti reseptor IL-6 (Ramet and Myllymaki, 2014).



Gambar 6. Jalur aktivasi JAK-STAT (Ramet and Myllymaki, 2014)

Unpaired (Upd) atau Upd1 merupakan aktivator dari jalur JAK-STAT melalui Hop tirosin fosforilasi yang diamati dengan adanya aksresi dari *upd*. Dari pengujian *ex vivo* dan *in vivo* diperoleh bahwa Upd2 dapat mengaktivasi JAK-STAT. Sedangkan, Upd3 juga memiliki peran dalam aktivasi jalur JAK-STAT, khususnya dalam *septic injury*, dan bertanggungjawab dalam menghasilkan ekspresi dari respon stres untuk Tot A (Wright *et al.* 2011).

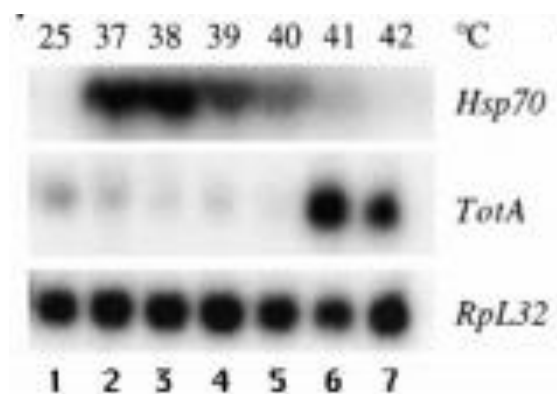
Penelitian yang dilakukan oleh Agaisse *et al.* (2003) terkait peran dari Upd3 dalam ekspresi *totA* memperoleh hasil bahwa aktivasi Upd3 di hemosit akan menyebabkan aktivasi dari *TotA* sebagaimana pada gambar 7.



Gambar 7. Model aktivasi *TotA* dalam merespon *septic injury* (Sumber: Agaisse *et al.* 2003)

II.4.3 Turandot A (*TotA*)

TotA adalah salah satu gen yang diregulasi oleh Jalur JAK-STAT. dimana, ekspresi dari *totA* digunakan sebagai *marker* aktivasi JAK-STAT dimana kelompok gen ini diinduksi oleh kondisi stres (Agaisse and Perrimon, 2004). Berdasarkan suatu penelitian terkait respon humoral terhadap stres pada *D. melanogaster* memperoleh hasil bahwa TotA diinduksi dengan kuat oleh adanya tekanan mekanik, dehidrasi, kondisi panas, kondisi stres, radiasi-UV, dan reagen oksidatif sebagaimana pada gambar 8.

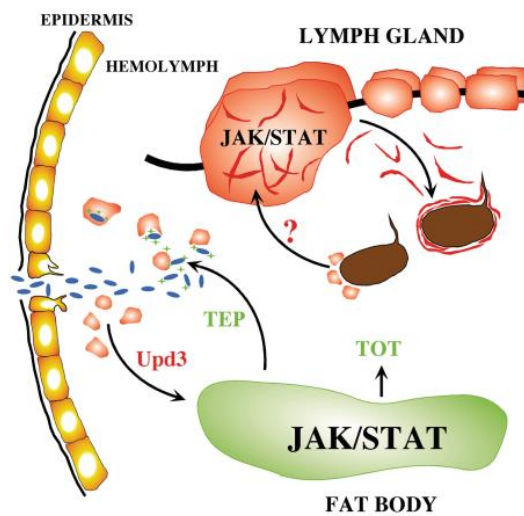


Gambar 8. Induksi panas (suhu >40 °C) pada lalat dapat meningkatkan ekspresi TotA

Berdasarkan gambar hasil PCR (Gambar 8) dapat dilihat pada bagian *TotA* menunjukkan tebalnya pita yang mengindikasikan bahwa ekspresi gen meningkat pada perlakuan suhu 41-42 °C (Ekengren *et al.* 2001).

Ekspresi *totA* dikontrol oleh Dome yang berfungsi untuk memprediksi *cytokine-like molecule* yang berperan dalam pengontrolan

ekspresi *totA*. Upd merupakan gen pengkode sitokin yang mengaktifasi jalur JAK-STAT. Dimana, sitokin Upd3 diproduksi pada hemosit dan mengaktifasi ekspresi *totA* sebagaimana pada (Gambar 9) (Agaisse and Perrimon, 2004).



Gambar 9. Proses aktivasi ekspresi *totA* (Sumber: Agaisse and Perrimon, 2004).

II.5 Ribose Nucleic Acid (RNA)

Pada inti sel terdapat materi genetik yang disebut dengan kromosom yang di dalamnya terdiri atas untai ganda DNA dan protein histon. RNA (Asam ribo-nukleat) merupakan materi genetik yang mengandung basa urasil yang berbeda dari timin sebagaimana di DNA dan mengandung gula ribosa. Adapun basa nitrogen pada RNA, yaitu sitosin (C), Guanin (G), dan Adenin (A), dan Urasil (U) dimana satu basa nitrogen dengan yang lainnya membentuk ikatan hidrogen. Asam ribo

nukleat-RNA merupakan polimer nukleotida yang beruntai tunggal (Kratz, 2009; Santoso dan Santri, 2016).

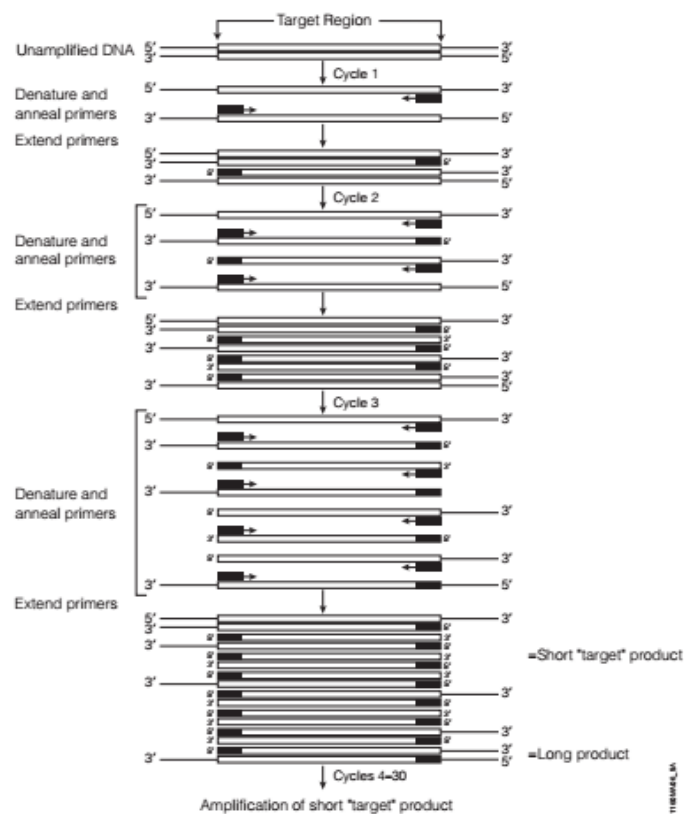
II.6 RT-qPCR (*Real Time Quantitative PCR*)

PCR (*Polymeration Chain Reaction*) merupakan suatu metode untuk memperbanyak DNA secara terkontrol dimana pada proses memperbanyak tersebut dibantu oleh enzim DNA polymerase (Viljoen *et al*, 2005). Salah satu jenis PCR yaitu RT-qPCR digunakan untuk analisis secara kuantitatif dari ekspresi gen target dimana pada proses amplifikasi peningkatan jumlah amplicon direkam melalui pendeteksian dari adanya molekul yang berpendar yang menginformasikan akumulasi dari siklus PCR (Smith and Osborn, 2008).

Dalam proses PCR adapun prinsipnya (Gambar 10), yaitu: Pada tahap denaturasi, target DNA didenaturasi melalui pemanasan dengan suhu 94°C selama 15 detik sampai 2 menit. Dalam proses denaturasi ini terjadi perpisahan *strain* DNA dari *double helix* menjadi *single helix* yang kemudian digunakan untuk proses replikasi dengan DNA polymerase. Pada tahap selanjutnya, temperatur kemudian diturunkan menjadi 40-60°C dimana pada temperatur ini oligonukleotida dapat membentuk anneal yang stabil dengan target DNA yang telah didenaturasi, tahap ini berlangsung hingga 15-60 detik.

Kemudian, pada tahap selanjutnya, dimana DNA polimerase memiliki peran yang begitu penting dalam proses amplifikasi dengan

temperatur yang digunakan 70-74°C selama 1-2 menit. Setelah itu, temperatur dikembalikan menjadi 94°C pada denaturasi (Promega, 2011).



Gambar 10 Skema dari tahap proses amplifikasi yang terdiri dari 1) denaturasi; 2) primer *Annealing*; 3) polimerasi (amplifikasi) atau primer *extension* (Promega, 2011)