

**STATUS EKSPRESI *sod1* DAN *sod2* PADA
Drosophila melanogaster YANG DIBERIKAN
KLORAMFENIKOL**

**EXPRESSION STATUS OF *sod1* AND *sod2* IN
Drosophila melanogaster TREATED WITH
CHLORAMPHENICOL**

**ADITYA SATYA PRATAMA
N011201110**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**STATUS EKSPRESI sod1 DAN sod2 PADA
Drosophila melanogaster YANG DIBERIKAN
KLORAMFENIKOL**

**EXPRESSION STATUS OF *sod1* AND *sod2* IN
Drosophila melanogaster TREATED WITH
CHLORAMPHENICOL**

**ADITYA SATYA PRATAMA
N011201110**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**STATUS EKSPRESI *sod1* DAN *sod2* PADA *Drosophila melanogaster*
YANG DIBERIKAN KLORAMFENIKOL**

**EXPRESSION STATUS OF *sod1* AND *sod2* IN *Drosophila*
melanogaster TREATED WITH CHLORAMPHENICOL**

SKRIPSI

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

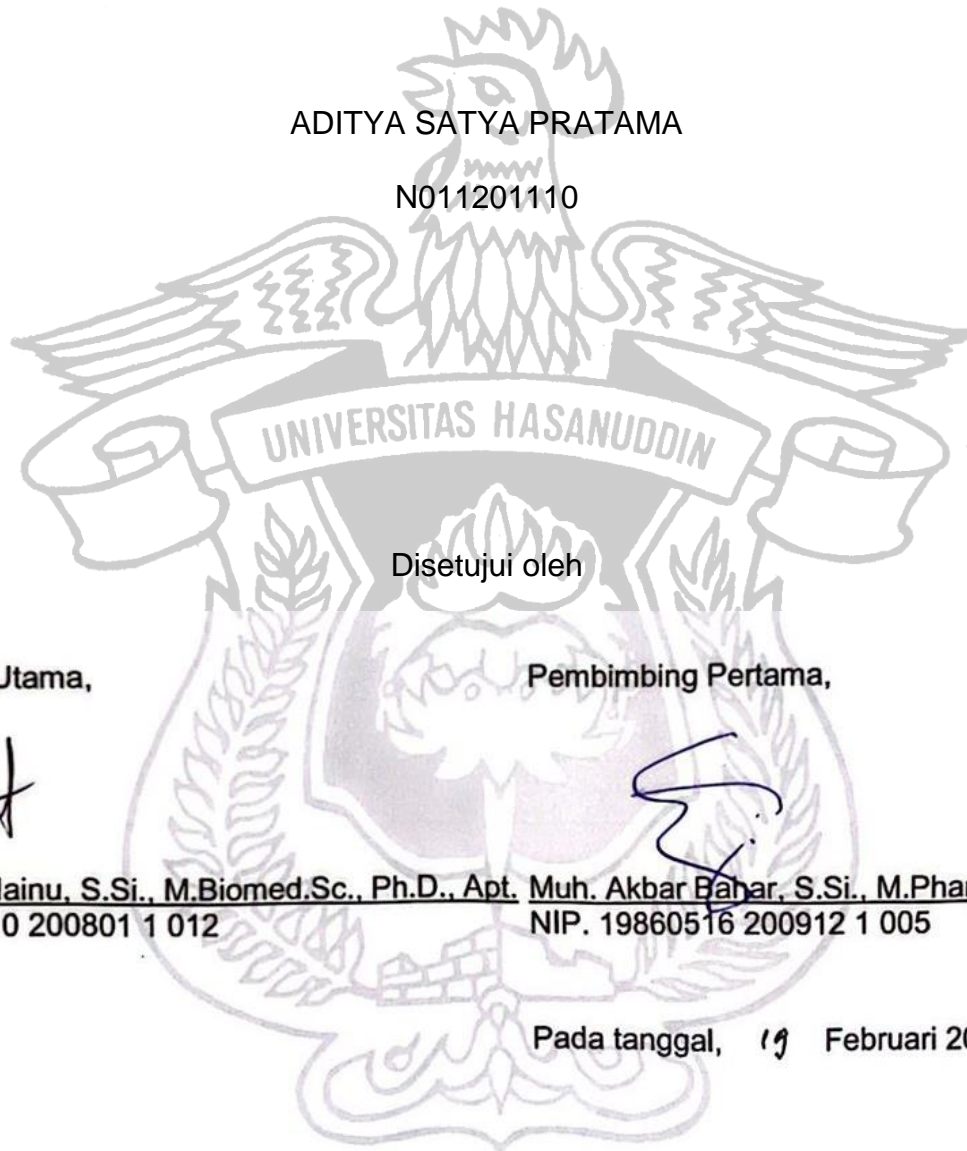
**ADITYA SATYA PRATAMA
N011201110**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

STATUS EKSPRESI *sod1* DAN *sod2* PADA *Drosophila melanogaster*
YANG DIBERIKAN KLORAMFENIKOL

ADITYA SATYA PRATAMA

N011201110



Disetujui oleh

Pembimbing Utama,

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'F. Nainu', written over the 'Pembimbing Utama' label.

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

Pembimbing Pertama,

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'M. Akbar Bahar', written over the 'Pembimbing Pertama' label.

Muh. Akbar Bahar, S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 19860516 200912 1 005

Pada tanggal, 19 Februari 2024

SKRIPSI
STATUS EKSPRESI *sod1* DAN *sod2* PADA *Drosophila melanogaster*
YANG DIBERIKAN KLORAMFENIKOL

EXPRESSION STATUS OF *sod1* AND *sod2* IN *Drosophila melanogaster*
TREATED WITH CHLORAMPHENICOL

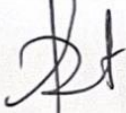
Disusun dan diajukan oleh :

ADITYA SATYA PRATAMA
N011201110

telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
pada tanggal 16 Februari 2024
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Pembimbing Utama,



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

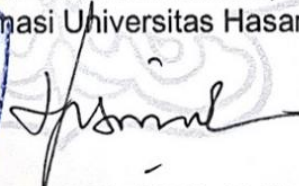
Pembimbing Pertama,



Muh. Akbar Bahar, S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 19860516 200912 1 005



Ketua Program Studi S1 Farmasi,
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin



Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 19860116 201012 2 009

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini;

Nama : Aditya Satya Pratama
Nim : N011 20 1110
Program Studi : Farmasi
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul “Status Ekspresi *sod1* dan *sod2* pada *Drosophila melanogaster* yang Diberikan Kloramfenikol” 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, 19 Februari 2024
Yang menyatakan,

Aditya Satya Pratama



UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, puji syukur penulis kepada Allah *Subhanallah wa Ta'ala*, pemilik segala ilmu, karena dengan petunjuk-Nya skripsi ini terselesaikan. Meski banyak kendala, berkat dukungan pihak-pihak terkait, penulis mampu melewati semua rintangan. Terima kasih dan penghargaan tulus disampaikan kepada semua yang telah memberikan bantuan dan dukungan. Oleh karena itu, penulis dengan tulus menghaturkan banyak terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada

1. Kepada Prof. Firzan Nainu, S.Si., M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt., saya ingin menyampaikan rasa terima kasih atas bimbingan yang sangat berharga. Dedikasi Bapak selama penelitian ini luar biasa, memberikan arahan dan dukungan penuh. Kesabaran Bapak menjadi penopang utama dalam menyelesaikan tugas akhir ini.
2. Kepada bapak Muh. Akbar Bahar, S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt., terima kasih atas kontribusi dalam memberikan pandangan beragam terhadap penelitian saya. Bimbingan dan motivasi Bapak membantu melewati setiap tahap penelitian dengan sukses. Saya sangat mengapresiasi waktu dan perhatian Bapak dalam memandu saya dengan penuh kesabaran.
3. Kepada tim penguji, ibu Dr. Risfah Yulianty, S.Si., M.Si., Apt dan ibu Nur Inda Yanti, S.Si., M.Si., terima kasih atas kesempatan diuji dan

masukannya berharga. Kontribusi Ibu dalam evaluasi penelitian saya sangat membantu penyempurnaan skripsi ini.

4. Kepada Dekan, Wakil Dekan, staf dosen, dan pegawai Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, terima kasih atas dukungan, bimbingan, dan saran yang telah diberikan selama perjalanan penelitian ini. Semua kontribusi Bapak/Ibu memberikan warna dan makna mendalam pada perjalanan akademik saya. Semoga jerih payah, ilmu, dan pengalaman ini menjadi bekal berharga untuk masa depan. Terima kasih atas segala bantuan dan kesempatan ini.
5. Dengan rasa syukur dan hormat, saya ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada pilar utama kehidupan saya, kedua orangtua tercinta, Ibu Widia Hastuti dan Ayah Aiptu Baso Risal, S.H. Terimakasih atas doa, dukungan, dan kasih sayang yang tak pernah berhenti mengalir. Tak lupa kepada adik-adik tercinta, Alifkanila Dyarezky Putri, Aldindra Satya Harina Tama, dan Arindya Haryani Utami, yang senantiasa memberikan semangat dan keceriaan dalam setiap langkah perjalanan saya.
6. Saya ingin mengucapkan terima kasih kepada anggota UFRG (Aizia, Hiday, Nadiyah, Jihan, Ismi, Gimas, Ilham, Kak Widya, Kak Acul, Kak Tenri, Kak Avi, Kak Dewita, Kak Dewi, Kak Nadil, dan Kak Mukarram) yang telah dengan penuh kerelaan membantu dalam penelitian saya. Kebersamaan dan kerjasama kita menjadi pilar keberhasilan.

7. Tidak lupa untuk teman-teman seperjuangan di PT yang luar biasa (Aliyyah, Gusni, Almiranda, Jihan, Sugesti, Firdaus, Novi, Catlyea, Qalbi, Irsad, Aqilah, Risna). Terima kasih atas dukungan, semangat, dan kerja sama kita selama perjalanan penelitian ini.
8. Saya juga ingin menyampaikan terima kasih kepada teman-teman MICRO Crew, Baruga Jamelaa, Barlem Explorer, Dramafess, dan HEROIN (Angkatan 2020) atas kenangan indah, kebersamaan, dan dukungan yang tak ternilai harganya.

Penyusunan skripsi ini, meskipun belum mencapai kesempurnaan, membuat penulis sadar akan kekurangan. Penulis sangat berharap mendapatkan saran dan masukan yang konstruktif dari berbagai pihak. Semoga karya ini memberikan manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan, terutama di bidang farmasi. Aamiin.

Makassar, Februari 2024

Aditya Satya Pratama

ABSTRAK

ADITYA SATYA PRATAMA. Status Ekspresi *sod1* dan *sod2* pada *Drosophila melanogaster* yang Diberikan Kloramfenikol (dibimbing oleh Firzan Nainu dan Muh. Akbar Bahar).

Kloramfenikol merupakan antibiotik spektrum luas yang telah lama digunakan di bidang klinis, meskipun potensial efek sampingnya yang serius. Paparan berlebih pada kloramfenikol dapat meningkatkan produksi *reactive oxygen species* (ROS), dan menyebabkan stres oksidatif pada sel. Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi mekanisme toksisitas kloramfenikol terhadap ekspresi gen *sod1* dan *sod2* pada *D. melanogaster*. Pengujian ini dilakukan dalam empat tahap yaitu pembuatan pakan kloramfenikol, paparan kloramfenikol, penyiapan sampel RNA, dan analisis ekspresi gen *sod1* dan *sod2* pada *D. melanogaster* menggunakan metode *reverse transcriptase quantitative* PCR. Hasil menunjukkan terjadinya penurunan signifikan ekspresi gen *sod1* pada konsentrasi kloramfenikol 1875, 3125, dan 4375 ppm, menunjukkan respons adaptif terhadap stres oksidatif. Ekspresi *sod2* juga menurun pada dosis yang sama, dengan peningkatan tidak signifikan. Kesimpulan penelitian menunjukkan efek toksisitas kloramfenikol pada larva *D. melanogaster* secara signifikan menurunkan ekspresi gen *sod1* dan *sod2* pada konsentrasi 1875, 3125, dan 4375 ppm.

Kata Kunci: Kloramfenikol, *Drosophila melanogaster*, ekspresi gen, *sod1*, *sod2*, stres oksidatif, mekanisme toksisitas, antibiotik, *Reactive Oxygen Species* (ROS), *reverse transcriptase quantitative* PCR, dosis kloramfenikol.

ABSTRACT

ADITYA SATYA PRATAMA. Expression Status of *sod1* and *sod2* in *Drosophila melanogaster* Treated with Chloramphenicol (supervised by Firzan Nainu and Muh. Akbar Bahar).

Chloramphenicol is a broad-spectrum antibiotic long used in clinical settings, despite its potential serious side effects. Excessive exposure to chloramphenicol can elevate reactive oxygen species (ROS) production, inducing oxidative stress in cells. This study aims to explore the toxic mechanism of chloramphenicol on the expression of *sod1* and *sod2* genes in *D. melanogaster*. The testing involves four stages: chloramphenicol feed preparation, exposure, RNA sample preparation, and reverse transcriptase quantitative PCR analysis of *sod1* and *sod2* gene expression in *D. melanogaster*. The results indicate a significant decrease in the expression of the *sod1* gene at chloramphenicol concentrations of 1875, 3125, and 4375 ppm, suggesting an adaptive response to oxidative stress. *sod2* expression also decreased at the same doses, with a non-significant increase. The research conclusion demonstrates that the toxic effects of chloramphenicol on *D. melanogaster* larvae significantly reduce the expression of *sod1* and *sod2* genes at concentrations of 1875, 3125, and 4375 ppm.

Keywords: Chloramphenicol, *Drosophila melanogaster*, gene expression, *sod1*, *sod2*, oxidative stress, toxicity mechanisms, antibiotic, reactive oxygen species (ROS), reverse transcriptase quantitative PCR, chloramphenicol dose.

DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vii
ABSTRAK	x
ABSTRACT.....	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
I.1 Latar belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	2
I.3 Tujuan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1 Kloramfenikol	4
II.2 <i>Reactive Oxygen Species (ROS)</i>	5
II.3 <i>Superoxide Dismutase (SOD)</i>	6
II.4 <i>Drosophila melanogaster</i>	7
II.5 <i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i>	9
BAB III METODE PENELITIAN.....	11
III.1 Alat dan Bahan	11
III.2 Metode Kerja	11

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	16
IV.1 Analisis Ekspresi Gen <i>sod1</i> dan <i>sod2</i> pada <i>D. melanogaster</i>	16
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	18
V.1 Kesimpulan	18
V.2 Saran	18
DAFTAR PUSTAKA.....	19
LAMPIRAN.....	21

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Sekuens primer gen <i>sod1</i> dan <i>sod2</i>	15
2. Hasil <i>One-Way ANOVA</i> ekspresi gen <i>sod1</i>	23
3. Hasil uji lanjutan <i>Dunnett</i> ekspresi gen <i>sod1</i>	23
4. Hasil uji lanjutan <i>Tukey</i> ekspresi gen <i>sod1</i>	23
5. Hasil <i>One-Way ANOVA</i> ekspresi gen <i>sod2</i>	23
6. Hasil uji lanjutan <i>Dunnett</i> ekspresi gen <i>sod2</i>	23
7. Hasil uji lanjutan <i>Tukey</i> ekspresi gen <i>sod2</i>	24

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Stuktur kimia kloramfenikol	5
2. Ekspresi gen <i>sod1</i> pada <i>D. Melanogaster</i>	6
3. Ekspresi gen <i>sod2</i> pada <i>D. Melanogaster</i>	7
4. Grafik ekspresi gen <i>sod1</i> dan <i>sod2</i> pada <i>D. Melanogaster</i>	16
5. Pembuatan pakan	25
6. Pembuatan stok kloramfenikol	25
7. Pembuatan pakan perlakuan	25
8. Paparan kloramfenikol	25
9. <i>Collecting</i> larva	25
10. Peparasi isolasi RNA	25
11. Isolasi RNA	25
12. <i>Running Real Time</i> PCR	25

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja Penelitian	21
2. Perhitungan	22
3. Data Statistik	23
4. Dokumentasi Penelitian	25

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar belakang

Kloramfenikol adalah antibiotik spektrum luas yang pertama kali diisolasi dari *Streptomyces venezuelae* pada tahun 1947 di Venezuela dan telah digunakan secara klinis sejak 1949 (Abdollahi dan Mostafalou, 2014). Obat ini efektif melawan berbagai organisme, termasuk Gram positif, Gram negatif, aerob, anaerob, atipikal, spiroketes, *Rickettsia*, *Chlamydia*, dan spesies *Mycoplasma*. Selain sifat bakterostatiknya, kloramfenikol juga memiliki kemampuan membunuh beberapa bakteri seperti *H. influenzae*, *S. pneumoniae*, dan *N. meningitidis* (Pogue *et al.*, 2017). Kloramfenikol menghambat sintesis protein dan digunakan untuk mengobati demam tifoid, kolera, dan infeksi permukaan mata, seperti konjungtivitis dan otitis eksterna (Oong dan Tadi, 2023).

Kloramfenikol, meskipun efektif secara luas, memiliki potensi efek samping yang serius, seperti mual, muntah, diare, iritasi, hipotensi, dan hipotermia. Kloramfenikol dapat lebih berbahaya pada jaringan dengan tingkat konsumsi oksigen tinggi, yang dapat menyebabkan kerusakan pada miokardium dan sistem saraf pusat, yang dikenal sebagai ensefalopati dan kardiomiopati (Abdollahi dan Mostafalou, 2014). Paparan berlebihan pada kloramfenikol dapat berpotensi menyebabkan *gray baby*

syndrome pada neonatus, kolaps kardiovaskular hingga anemia aplastik (Syed *et al.*, 2021)

Penggunaan kloramfenikol dalam dosis tinggi dapat meningkatkan produksi ROS yang menyebabkan stres oksidatif. Produksi ROS di dalam sel dapat ditekan oleh adanya antioksidan endogen. Salah satu antioksidan endogen yang ada pada manusia dan *D. melanogaster* adalah *superoxide dismutase* (SOD) (Otaki *et al.*, 2016).

Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa kloramfenikol memiliki sifat bakterostatik terhadap *D. melanogaster* yang terinfeksi, tetapi belum ada penelitian mengenai mekanisme toksisitas kloramfenikol yang memengaruhi ekspresi *sod1* dan *sod2* pada *D. melanogaster* (Sultan *et al.*, 2001). *D. melanogaster* sering digunakan dalam penelitian karena masa hidupnya yang singkat dan kemiripannya secara genetik sekitar 75% dengan manusia. Penggunaan *D. melanogaster* sebagai model hewan percobaan memiliki keuntungan dalam hal jumlah, waktu, dan etika penelitian dibandingkan dengan menggunakan mamalia (Nainu, 2018).

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan pengujian mekanisme toksisitas kloramfenikol pada *D. melanogaster* dan pengaruhnya pada ekspresi *sod1* dan *sod2* untuk mendapatkan pemahaman lebih lanjut tentang dampaknya.

I.2 Rumusan Masalah

Bagaimana mekanisme toksisitas kloramfenikol memengaruhi status ekspresi gen *sod1* dan *sod2* pada *Drosophila melanogaster*?

I.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengeksplorasi mekanisme toksisitas kloramfenikol terhadap ekspresi gen *sod1* dan *sod2* pada *Drosophila melanogaster*.

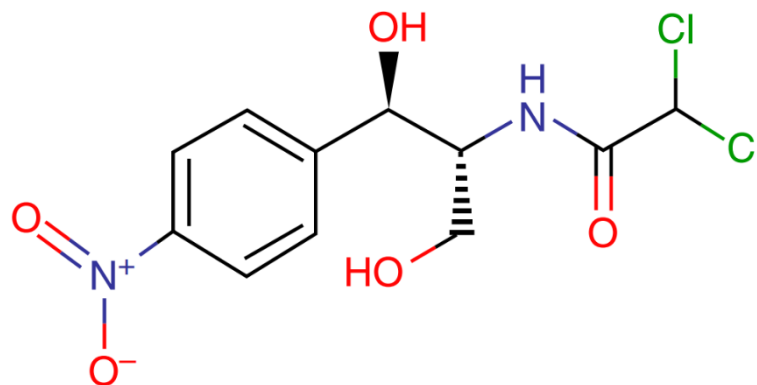
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Kloramfenikol

Kloramfenikol ($C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$) pada awalnya ditemukan dalam kultur *Streptomyces venezuelae* pada tahun 1947, tetapi saat ini diproduksi secara sintesis. Kloramfenikol merupakan antibiotik spektrum luas yang bersifat bakteriostatik dan bakterisida. Kloramfenikol bekerja dengan menghambat sintesis protein bakteri yang efektif melawan bakteri gram-positif, gram-negatif, dan mikroorganisme anaerob. Meskipun awalnya digunakan sebagai pengobatan demam tifoid, kini jarang digunakan untuk tujuan tersebut (Abdollahi dan Mostafalou, 2014).

Kloramfenikol berperan sebagai penghambat sintesis protein yang juga merangsang produksi *reactive oxygen species* (ROS). Antibiotik secara aktif terlibat dalam perubahan fisikokimia dan biokimia serta dalam pembentukan radikal bebas seperti ROS melalui reaksi kimia spesifik. Kloramfenikol dan senyawa lain yang merangsang ROS (hidrazin dan H_2O_2) menyebabkan perubahan struktural pada mitokondria dan sel. Kloramfenikol berperan dalam pembentukan megamitokondria (MG) yang tampaknya memicu apoptosis setelah paparan dalam jangka panjang. Mekanisme utama toksisitas kloramfenikol tampaknya terkait dengan peningkatan produksi ROS namun dengan penurunan sistem pertahanan antioksidan (Monari *et al.*, 2008).



Gambar 1. Struktur kimia kloramfenikol (Abdollahi dan Mostafalou, 2014)

II.2 *Reactive Oxygen Species (ROS)*

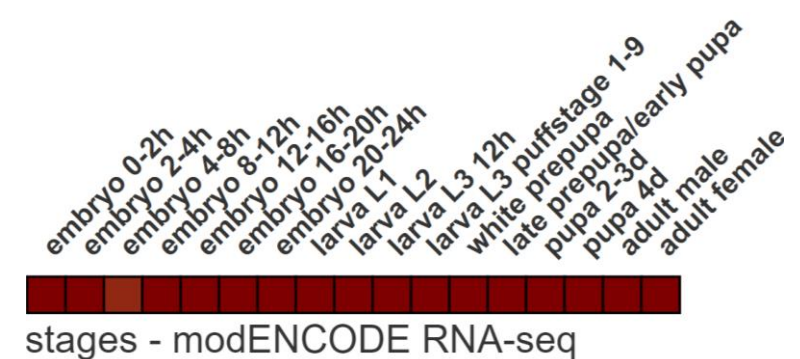
Reactive oxygen species (ROS) adalah senyawa oksigen reaktif yang berinteraksi dengan molekul di sekitarnya, terbagi menjadi radikal bebas dan nonradikal. Secara fisiologis, tubuh membutuhkan kadar ROS rendah untuk mengaktivasi dan mengatur jalur transduksi sinyal, mengatur aktivitas faktor transkripsi yang responsif terhadap redoks, serta mengendalikan mekanisme pertahanan. ROS dihasilkan oleh sel hanya saat diperlukan, sel normal menjaga keseimbangan intraselular hingga batas nontoksik melalui regulasi produksi dan eliminasi ROS. Pengeluaran ROS dibantu oleh antioksidan, berupa enzim maupun substansi nonenzim (Hikmah, Hardiany dan Kunci, 2021).

Produksi ROS berlebihan tanpa sistem antioksidan yang memadai dapat menginduksi keadaan prooksidatif, menciptakan stres oksidatif yang menyebabkan berbagai penyakit. Sehingga diperlukan keseimbangan antara produksi dan eliminasi ROS untuk menjaga kesehatan seluler dan mencegah potensi dampak negatifnya pada tubuh (Susilawati, 2021).

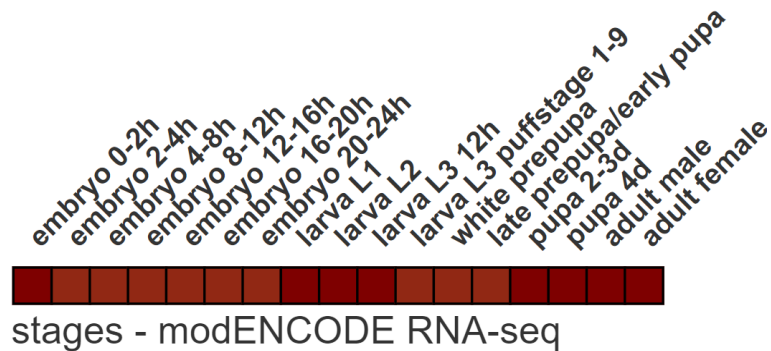
II.3 Superoxide Dismutase (SOD)

Superoxide dismutase (SOD) merupakan enzim yang pertama kali digunakan dalam proses detoksifikasi dan merupakan antioksidan terkuat di dalam sel. SOD berperan penting sebagai komponen pertahanan awal terhadap ROS. Tugas utama SOD adalah mengkatalisis proses dismutasi dari dua molekul anion superoksida (*O_2) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan oksigen molekuler (O_2), sehingga mengurangi potensi anion superoksida yang berbahaya. Sebagai metaloenzim, SOD memerlukan kofaktor logam untuk menjalankan aktivitasnya. Jenis ion logam seperti besi (Fe), seng (Zn), tembaga (Cu), dan mangan (Mn) umumnya diikat oleh SOD (Ighodaro dan Akinloye, 2018).

Salah satu antioksidan endogen yang ada pada manusia dan *D. melanogaster* adalah *superoxide dismutase* (SOD) (Otaki *et al.*, 2016). Terdapat tiga isoform dari SOD yaitu Cu/Zn-SOD (*sod1*) pada manusia dan *D. melanogaster* terdapat pada sitoplasma (sitosol), Mn-SOD (*sod2*) terletak di matriks mitokondria, dan Cu/Zn-SOD (*sod3*) terletak di ekstraseluler (Eleutherio *et al.*, 2021).



Gambar 2. Ekspresi gen *sod1* pada *D. melanogaster* (FlyBase)



Gambar 3. Ekspresi gen *sod2* pada *D. melanogaster* (FlyBase)

Gen-gen berbeda mengodekan beragam 'isozim' SOD. Cu/Zn-SOD dihasilkan oleh gen *sod1* yang berlokasi pada kromosom 21. Mn-SOD dihasilkan oleh gen *sod2* yang terletak pada kromosom 6. Cu/Zn-SOD ekstraseluler eukariotik dihasilkan oleh gen *sod3* yang berada pada kromosom 4 (Ighodaro dan Akinloye, 2018).

II.4 *Drosophila melanogaster*

II.4.1 Klasifikasi

Kingdom : Animalia

Filum : Arthropoda

Kelas : Insecta

Ordo : Diptera

Famili : Drosophilidae

Genus : *Drosophila*

Subgenus : *Sophophora*

Spesies : *melanogaster* (Siddhardha *et al.*, 2020).

II.4.2 Deskripsi

Lalat buah (*D. melanogaster*) pertama kali digunakan oleh Thomas Hunt Morgan sebagai organisme model (tahun 1960-1990) untuk studi beberapa penyakit manusia dan sebagai model untuk meneliti toksisitas. Pada tahun 2010, istilah *drosophotoxicology* diperkenalkan karena *D. melanogaster* memiliki masa hidup yang singkat sekitar 40-60 hari. Selain itu, *D. melanogaster* juga digunakan sebagai organisme model *in vivo* untuk studi biologi perkembangan, genetika, dan patogenesis inang. Organisme ini memiliki fitur eksperimental seperti kecenderungan manipulasi investigatif, homologi genetik yang signifikan dengan organisme yang lebih kompleks, dan kemudahan mendapatkan fenotipe mutan (Siddhardha *et al.*, 2020).

Berdasarkan jenis kelaminnya, *D. melanogaster* betina memiliki panjang 2,5 cm, sedangkan jantan lebih pendek dengan ciri-ciri bercak hitam di perut, punggung gelap, dan *sex-comb* di kaki. Masa hidup sekitar 50 hari pada suhu optimal 25 °C. Perkembangan dari telur ke dewasa memakan waktu 8,5 hari, dipengaruhi oleh lingkungan dan suhu. Lalat betina mampu menaruh hingga 400 telur dengan waktu inkubasi 12-15 jam dan pertumbuhan larva dalam 4 hari dengan dua kali pergantian kulit pada instar2 dan instar3 setelah 24 dan 48 jam menetas. (Siddhardha *et al.*, 2020).

Drosophila melanogaster dewasa menunjukkan kemiripan fisik dengan manusia pada organ seperti otak, jantung, paru-paru, ginjal, hati, usus, dan saluran reproduksi. Fungsi hati manusia mirip dengan *fat body* *D. melanogaster*. Sistem trakea *D. melanogaster* menyerupai sistem pernapasan manusia, membuatnya menjadi organisme model yang dapat diterima dalam analisis toksikologi. (Siddhardha *et al.*, 2020).

Dalam penelitian genetika, variasi notasi alel dan gen pada organisme eksperimental tergantung pada konsep *wild-type*, standar "normal" alam. Oregon-R merupakan galur *D. melanogaster wild-type* (fenotipe awal) umum, menjadi sumber banyak mutasi pertama (Meneely *et al.*, 2017). D.E. Lancefield mengumpulkan Oregon-R di Roseburg, Oregon, pada 1925. Oregon-R, terkenal karena homeostasis adaptif, berguna dalam penelitian stres oksidatif, dimorfisme seksual, dan adaptasi oksidatif pada galur *D. melanogaster wild-type* (mata merah) (Pomatto *et al.*, 2018).

II.5 Polymerase Chain Reaction (PCR)

Polymerase chain reaction (PCR) adalah metode umum untuk mengisolasi gen yang memungkinkan amplifikasi eksponensial rantai DNA. Dengan bantuan *Taq DNA polymerase*, PCR memfasilitasi pembuatan salinan DNA yang cepat dan spesifik melalui penggunaan primer. Primer merupakan fragmen kecil DNA yang dirancang khusus dan membentuk ujung molekul asam nukleat yang diperbanyak. Reaksi amplifikasi PCR sangat spesifik karena bergantung pada hibridisasi primer

dengan molekul DNA target. Setelah berhibridisasi, primer menyediakan terminus 3'-hidroksil ganda yang dibutuhkan untuk memulai sintesis untai DNA baru oleh DNA polimerase thermostabil. Proses PCR melibatkan siklus denaturasi DNA, hibridisasi primer, dan sintesis DNA (Pelt-Verkuil, Belkum dan Hays, 2008).

Sebelumnya, pemahaman tentang informasi genetik melibatkan transkripsi dari DNA ke RNA, yang selanjutnya diubah menjadi protein. Namun, saat ini metode untuk memperoleh informasi genetik telah berkembang menggunakan *reverse transcriptase*, yang mengubah RNA menjadi DNA. *Reverse transcriptase* berhasil diaplikasikan dalam *reverse transcription-PCR* (RT-PCR). Metode ini memungkinkan deteksi dan kuantifikasi berbagai jenis molekul RNA, termasuk *messenger* RNA (mRNA) dari sel prokariotik dan eukariotik, serta genom berbasis RNA seperti Coronavirus dan Picornavirus (Pelt-Verkuil, Belkum dan Hays, 2008).

Prinsip utama PCR adalah duplikasi molekul target DNA melalui hibridisasi spesifik dua primer oligonukleotida yang berbeda, yakni primer 1 dan primer 2. Primer yang terikat pada DNA akan memulai proses perpanjangan untai DNA. Siklus PCR melibatkan tahap pemisahan untai DNA melalui denaturasi panas, hibridisasi primer, dan sintesis untai DNA baru, menghasilkan amplifikasi DNA. Umumnya, dilakukan setidaknya 20 siklus PCR, dan batas atas umumnya 50 siklus (Pelt-Verkuil, Belkum dan Hays, 2008).