

**PENGARUH TETRASIKLIN TERHADAP MIKROBIOTA USUS
DAN PROFIL FENOTIP PADA *Drosophila melanogaster***

**IMPACT OF TETRACYCLINE ON GUT MICROBIOTA AND
PHENOTYPIC PROFILES IN *Drosophila melanogaster***

ZHAVIRA PRADINY SAADJAD

N012211017



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

2024

**PENGARUH TETRASIKLIN TERHADAP MIKROBIOTA USUS
DAN PROFIL FENOTIP PADA *Drosophila melanogaster***

**IMPACT OF TETRACYCLINE ON GUT MICROBIOTA AND
PHENOTYPIC PROFILES IN *Drosophila melanogaster***

ZHAVIRA PRADINY SAADJAD

N012211017



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

**PENGARUH TETRASIKLIN TERHADAP MIKROBIOTA USUS DAN PROFIL
FENOTIP PADA *Drosophila melanogaster***

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Magister Ilmu Farmasi

Disusun dan diajukan oleh

ZHAVIRA PRADINY SAADJAD
N012211017

Kepada

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

LEMBAR PENGESAHAN

**PENGARUH TETRASIKLIN TERHADAP MIKROBIOTA USUS
DAN PROFIL FENOTIP PADA *Drosophila melanogaster***

Disusun dan diajukan oleh
ZHAVIRA PRADINY SAADJAD
NIM: N012211017

Telah dipertahankan di hadapan panitia ujian yang dibentuk dalam rangka penyelesaian Studi Program Magister Program Studi Magister Farmasi Sains dan Teknologi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
Pada tanggal 12 Februari 2024
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping



Prof. Dr. Sartini, M.Si., Apt
NIP. 19611111 198703 2 001



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

Ketua Program Studi Magister
Ilmu Farmasi Fakultas Farmasi

Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin



Muhammad Aswad, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt
NIP. 19800101 200312 1 004



Prof. Dr. rer. nat Marianti Manggau, Apt
NIP. 19670319 199203 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "Pengaruh tetrasiklin terhadap mikrobiota usus dan profil fenotip pada *Drosophila melanogaster*" adalah benar karya saya dengan arahan dari tim pembimbing (Prof. Dr. Sartini, M.Si., Apt sebagai Pembimbing Utama dan Prof. Firzan Nainu, S.Si., M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt sebagai Pembimbing Pendamping). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini. Sebagian dari isi tesis ini telah dipublikasikan di Jurnal (Indonesian journal of pharmacy) sebagai artikel dengan judul "Gut Microbiota Dynamics and Phenotypic Changes Induced by Tetracycline in *Drosophila melanogaster*". Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar,

Februari 2024



ZHAVIRA PRADINY SAADJAD
NIM N012211017

Ucapan Terima Kasih

Penelitian yang saya lakukan dapat terlaksana dengan sukses dan tesis ini dapat terampungkan atas bimbingan, diskusi dan arahan Prof. Dr. Sartini, M.Si., Apt sebagai pembimbing utama dan Prof. Firzan Nainu, S.Si., M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt sebagai pembimbing pendamping. Saya mengucapkan berlimpah terima kasih kepada beliau. Penghargaan yang tinggi juga saya sampaikan kepada Bapak Prof. Dr. Gemini Alam, Ibu M.Si., Apt, Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt, dan Bapak Prof. Andi Dian Permana, M.Si., Ph.D., Apt sebagai penguji. Saya mengucapkan berlimpah terima kasih kepada mereka yang telah memberikan waktu untuk saran dan masukan yang membangun sehingga dapat menyelesaikan tesis ini. Terima kasih juga saya sampaikan kepada teman-teman UFRG terutama widya, tenri, acul, kak dewita, kiya, ila, nadil, dan ica atas bantuan dalam penelitian ini.

Akhirnya, kepada kedua orang tua saya (Almh) Ibu Hj. Asrawati saleh dan Bapak H.Ir. Rensly saadjad, M.M tercinta saya mengucapkan limpah terima kasih dan sembah sujud atas doa, pengorbanan dan motivasi mereka selama saya menempuh pendidikan. Penghargaan yang besar juga saya sampaikan kepada Andy rayzul, S.M, 10 Sekawan, Formulator, dan seluruh keluarga kakak Lyra pramitha saadjad, kakak Annisa pratiwi saadjad, adik Muh. Fikri atarik pratama saadjad atas motivasi dan dukungan yang tak ternilai.

Penulis

ZHAVIRA PRADINY SAADJAD

ABSTRAK

ZHAVIRA PRADINY SAADJAD. **Pengaruh Tetrasiklin Terhadap Mikrobiota Usus dan Profil Fenotip *Drosophila melanogaster*** (dibimbing oleh Sartini dan Firzan Nainu).

Mikrobiota usus berperan penting dalam proses fisiologi dan patologi baik pada manusia maupun hewan. Antibiotik dapat menyebabkan perubahan jumlah dan komposisi mikrobiota usus selama paparan yang berkepanjangan. Penelitian ini untuk mengevaluasi dampak pemberian tetrasiklin terhadap jumlah mikrobiota usus dan profil fenotip (survival, lokomotor, dan reproduksi) pada *D. melanogaster*. Penelitian ini terdiri dari empat tahap yakni: 1) Analisis survival, 2) Analisis lokomotor, 3) Analisis reproduksi, dan 4) Analisis Jumlah koloni bakteri. Analisis data hasil pengujian ini menggunakan program *GraphPad Prism*[®] 9. Hasil yang didapatkan bahwa paparan tetrasiklin tidak mengganggu reproduksi dan perkembangan lalat, sehingga lalat tetap berkembang dengan normal. Namun, secara signifikan, konsentrasi 10 µg/mL mengurangi umur hidup lalat dewasa pada hari ke-35. Selain itu, pada konsentrasi 0.1 µg/mL dan 10 µg/mL paparan tetrasiklin secara signifikan mengganggu lokomotor lalat dewasa pada hari ke-27. Paparan tetrasiklin juga secara signifikan menurunkan jumlah bakteri asam laktat lalat dewasa sebesar 10¹ CFU/mL pada semua konsentrasi (0.001 µg/mL, 0.1 µg/mL dan 10 µg/mL), dibandingkan dengan kontrol tanpa paparan tetrasiklin. Paparan tetrasiklin berkepanjangan menyebabkan penurunan masa hidup, lokomotor, dan jumlah bakteri asam laktat pada lalat dewasa, namun tidak mengganggu perkembangan dan reproduksi lalat.

Kata Kunci: tetrasiklin; mikrobiota usus; profil fenotip; *Drosophila melanogaster*

ABSTRACT

ZHAVIRA PRADINY SAADJAD. **Impact of Tetracycline on Gut Microbiota and Phenotypic Profiles in *Drosophila melanogaster*** (supervised by Sartini and Firzan Nainu).

The gut microbiota plays a crucial role in physiological and pathological processes in both humans and animals. Antibiotics can cause changes in the quantity and composition of gut microbiota during prolonged exposure. This study aims to evaluate the impact of tetracycline administration on the quantity of gut microbiota and phenotypic profiles (survival, locomotor activity, and reproduction) in *Drosophila melanogaster*. The study comprised four stages: 1) Survival analysis, 2) Locomotor analysis, 3) Reproduction analysis, and 4) Bacterial colony count analysis. Data analyses were conducted using the *GraphPad Prism* 9 program. Exposure to tetracycline does not disrupt the reproduction and development of flies, thus allowing the flies to progress normally. However, a significant reduction in the lifespan of adult flies on day 35 was observed at a concentration of 10 µg/mL. Additionally, at concentrations of 0.1 µg/mL and 10 µg/mL, tetracycline exposure significantly disrupted the locomotor activity of adult flies on day 27. Tetracycline exposure also significantly reduces the amount of lactic acid bacteria in adult flies by 10^1 CFU/mL at all concentrations (0.001 µg/mL, 0.1 µg/mL, and 10 µg/mL), compared to the control group without tetracycline exposure. Prolonged exposure to tetracycline causes a decrease in life span, locomotor, and the number of lactic acid bacteria in adult flies, but does not interfere with fly development and reproduction.

Keywords: tetracycline; gut microbiota; phenotypic profile; *Drosophila melanogaster*

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|---------|
| HALAMAN SAMPUL..... | i |
| HALAMAN JUDUL..... | ii |
| PERNYATAAN PENGAJUAN..... | iii |
| HALAMAN PENGESAHAN..... | iv |
| PERNYATAAN KEASLIAN TESIS..... | v |
| UCAPAN TERIMAKASIH..... | vi |
| ABSTRAK..... | vii |
| ABSTRACT..... | viii |
| DAFTAR ISI..... | viii |
| DAFTAR TABEL | x |
| DAFTAR GAMBAR | xi |
| DAFTAR LAMPIRAN | xii |
| DAFTAR ISTILAH | xiii |
| DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG | xvi |
| BAB I PENDAHULUAN..... | 1 |
| 1.1. Latar Belakang..... | 1 |
| 1.2. Perumusan Masalah | 3 |
| 1.3. Tujuan dan Manfaat..... | 3 |
| 1.3.1. Tujuan | 3 |
| 1.3.2. Manfaat | 3 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | 4 |
| 2.1. Tetrasiklin..... | 4 |
| 2.1.1. Karakteristik | 4 |
| 2.1.2. Indikasi..... | 5 |
| 2.1.3. Efek Samping | 5 |
| 2.1.4. Mekanisme Kerja..... | 5 |
| 2.1.5. Farmakokinetik | 6 |
| 2.2. Mikrobiota Usus | 7 |
| 2.2.1. Peran Mikrobiota Usus | 8 |
| 2.2.2. Efek Antibiotik Terhadap Mikrobiota usus..... | 13 |
| 2.3. <i>Drosophila melanogaster</i> | 15 |
| 2.3.1. Klasifikasi | 15 |
| 2.3.2. Deskripsi | 15 |
| 2.3.3. Siklus Hidup..... | 16 |
| 2.3.4. Rute Pemberian Obat..... | 17 |
| 2.3.5. <i>Drosophila</i> sebagai Hewan Model Mikrobiota Usus | 18 |
| 2.4. Struktur Usus Manusia dan <i>Drosophila</i> | 18 |
| 2.5. Kerangka Teori..... | 20 |
| 2.6. Kerangka Konsep | 21 |

| | |
|---|----|
| BAB III METODE PENELITIAN | 22 |
| 3.1 Tempat dan Waktu..... | 22 |
| 3.2 Alat dan Bahan..... | 22 |
| 3.2.1 Alat..... | 22 |
| 3.2.2 Bahan..... | 22 |
| 3.3 Metode Penelitian | 22 |
| 3.3.1 Penyiapan Hewan Uji | 22 |
| 3.3.2 Pembuatan Pakan Drosophila..... | 23 |
| 3.3.3 Pembuatan Larutan Stok..... | 23 |
| 3.3.4 Analisis Survival..... | 23 |
| 3.3.5 Analisis Geotaksis Negatif..... | 23 |
| 3.3.6 Analisis Reproduksi | 24 |
| 3.3.7 Analisis jumlah koloni bakteri | 24 |
| 3.3.8 Analisis Data..... | 25 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN | 26 |
| 4.1. Hasil | 26 |
| 4.1.1 Pengaruh tetrasiklin terhadap perkembangan Drosophila | 26 |
| 4.1.2 Pengaruh tetrasiklin terhadap kelangsungan hidup Drosophila | 27 |
| 4.1.3 Pengaruh tetrasiklin terhadap lokomotor Drosophila..... | 27 |
| 4.1.4 Pengaruh tetrasiklin terhadap reproduksi Drosophila..... | 29 |
| 4.1.5 Pengaruh tetrasiklin terhadap mikrobiota usus Drosophila | 29 |
| 4.2. Pembahasan | 30 |
| BAB V KESIMPULAN DAN SARAN | 33 |
| 5.1. Kesimpulan | 33 |
| 5.2. Saran..... | 33 |
| DAFTAR PUSTAKA | 34 |
| LAMPIRAN | 40 |

DAFTAR TABEL

| Nomor Urut | Halaman |
|---|---------|
| 1. Hasil perbandingan tukey uji perkembangan larva menjadi pupa setelah terpapar tetrasiklin..... | 45 |
| 2. Hasil perbandingan tukey uji perkembangan pupa menjadi lalat setelah terpapar tetrasiklin..... | 45 |
| 3. Hasil perbandingan tukey uji survival lalat dewasa pada hari ke-35 setelah terpapar tetrasiklin | 46 |
| 4. Hasil perbandingan tukey uji lokomotor lalat dewasa antara kelompok kontrol dan 0.001 µg/mL | 46 |
| 5. Hasil perbandingan tukey uji lokomotor lalat dewasa antara kelompok kontrol dan 0.1 µg/mL | 46 |
| 6. Hasil perbandingan tukey uji lokomotor lalat dewasa antara kelompok kontrol dan 10 µg/mL | 47 |
| 7. Hasil perbandingan tukey uji reproduksi jumlah pupa setelah terpapar tetrasiklin selama 5 hari | 47 |
| 8. Hasil perbandingan tukey uji reproduksi jumlah lalat setelah terpapar tetrasiklin selama 5 hari | 47 |
| 9. Hasil perbandingan tukey jumlah koloni bakteri lalat dewasa setelah terpapar tetrasiklin selama 35 hari..... | 48 |
| 10. Hasil perhitungan jumlah koloni lalat dewasa pada hari ke-35 hari..... | 48 |

DAFTAR GAMBAR

| Nomor Urut | Halaman |
|---|---------|
| 1. Struktur Kimia Tetrasiklin | 4 |
| 2. Skema mekanisme kerja tetrasiklin | 5 |
| 3. Sebaran mikrobiota usus | 7 |
| 4. Faktor-faktor yang diketahui memengaruhi mikrobiota usus | 7 |
| 5. Fermentasi polisakarida yang tidak dapat dicerna di usus besar dan produksi SCFA, yang dapat memengaruhi berbagai mekanisme untuk menjaga kesehatan manusia..... | 9 |
| 6. Metabolisme kolesterol dan empedu bakteri dalam saluran pencernaan, termasuk transformasi yang dimediasi oleh mikrobiota..... | 11 |
| 7. Interaksi antara mikrobiota usus dan sistem kekebalan. | 13 |
| 8. <i>D. melanogaster Wildtype</i> | 15 |
| 9. Siklus hidup <i>Drosophila</i> | 16 |
| 10. Rute pemerian obat pada <i>Drosophila</i> | 18 |
| 11. Perbandingan <i>Drosophila</i> dan anatomi usus, mikrobiota bakteri usus, dan epitel usus manusia | 19 |
| 12. Ilustrasi pengujian fenotipik dan kuantitatif yang dilakukan pada <i>Drosophila melanogaster</i> | 25 |
| 13. Efek tetrasiklin terhadap perkembangan <i>D. melanogaster</i> | 26 |
| 14. Efek tetrasiklin terhadap lifespan <i>D. melanogaster</i> | 27 |
| 15. Aktivitas lokomotor <i>D. melanogaster</i> setelah diberikan tetrasiklin sepanjang hidup..... | 28 |
| 16. Efek tetrasiklin terhadap reproduksi <i>D. melanogaster</i> | 29 |
| 17. Efek tetrasiklin terhadap bakteri asam laktat <i>D. melanogaster</i> | 30 |
| 18. Uji perkembangan larva menjadi pupa dan pupa menjadi lalat yang dilanjutkan ke uji survival lalat dewasa..... | 43 |
| 19. Uji lokomotor lalat dewasa..... | 44 |
| 20. Uji reproduksi | 44 |
| 21. Kultur bakteri pada <i>Drosophila</i> menggunakan medium <i>de Mann Rogosa Sharpe Agar</i> (MRSA). | 44 |

DAFTAR LAMPIRAN

| Nomor Urut | Halaman |
|--|---------|
| 1. Preparasi sampel | 40 |
| 2. Penyiapan hewan uji..... | 40 |
| 3. Pembuatan pakan..... | 40 |
| 4. Penyiapan pakan pengujian | 41 |
| 5. Uji perkembangan..... | 41 |
| 6. Uji survival lalat dewasa | 41 |
| 7. Uji lokomotor lalat dewasa..... | 42 |
| 8. Uji reproduksi | 42 |
| 9. Uji colony forming unit (CFU)..... | 43 |
| 10. Gambar penelitian..... | 43 |
| 11. Perhitungan pengenceran larutan stok | 45 |
| 12. Contoh penentuan volume tetrasiklin pada pakan 10 µg/mL..... | 45 |
| 13. Analisis statistik..... | 45 |
| 14. Perhitungan jumlah koloni bakteri asam laktat..... | 48 |

DAFTAR ISTILAH

| Istilah | Arti dan penjelasan |
|---------------|---|
| Aktinomikosis | Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri dari genus <i>Actinomyces</i> . |
| Amebiasis | Penyakit infeksi yang disebabkan oleh protozoa parasit bernama <i>Entamoeba histolytica</i> . |
| Amfoter | Zat yang dapat bereaksi sebagai asam atau basa. |
| Anaplasmosis | Penyakit yang disebabkan oleh bakteri dari genus <i>Anaplasma</i> , khususnya <i>Anaplasma phagocytophilum</i> . |
| Antibiotik | Senyawa kimia yang digunakan untuk menghambat atau membunuh bakteri. |
| Antimikroba | Zat yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme, termasuk bakteri, virus, jamur, dan protozoa. |
| Bruselosis | Penyakit infeksi bakteri pada hewan yang disebabkan oleh bakteri <i>Brucella</i> . |
| Coprostanol | Suatu jenis sterol yang ditemukan dalam kotoran manusia dan hewan. coprostanol merupakan bentuk teroksidasi dari kolesterol yang terdapat dalam tubuh. |
| Diferensiasi | proses di mana sel-sel yang awalnya mirip satu sama lain mengalami perubahan menjadi sel-sel yang memiliki struktur dan fungsi yang khusus dan berbeda. Proses diferensiasi ini terjadi selama perkembangan embrio dan organisme, serta dalam pemeliharaan dan regenerasi jaringan. |
| Ehrlichiosis | Penyakit yang disebabkan oleh bakteri dari genus <i>Ehrlichia</i> , khususnya <i>Ehrlichia chaffeensis</i> , <i>Ehrlichia ewingii</i> , dan <i>Ehrlichia muris</i> |
| Enterohepatik | Siklus atau proses yang melibatkan pergerakan zat dari usus ke hati dan sebaliknya. Istilah ini sering digunakan dalam konteks sistem pencernaan dan metabolisme zat-zat tertentu, terutama zat-zat yang mengalami siklus enterohepatik. |
| Enterosit | Sel-sel epitel yang melapisi permukaan usus halus. |
| Imunologis | Studi tentang sistem kekebalan tubuh dan responnya terhadap patogen, infeksi, dan zat asing lainnya. |
| Invetebrata | Organisme yang tidak memiliki tulang belakang atau |

| | |
|-----------------------|---|
| | kerangka dalam. |
| Kilomikron | lipoprotein yang berperan dalam transportasi lemak dalam sistem peredaran darah manusia. Kilomikron terutama terbentuk dari trigliserida, kolesterol ester, fosfolipid, dan protein. |
| Kolesterol | komponen penting dari membran sel dan merupakan prekursor bagi pembentukan hormon steroid, vitamin D, dan asam empedu yang membantu dalam pencernaan lemak. |
| Legionellosis | Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri Legionella |
| Leptospirosis | Penyakit infeksi bakteri yang disebabkan oleh bakteri dari genus Leptospira. |
| Limfosit B | Jenis sel darah putih (leukosit) yang memainkan peran kunci dalam sistem kekebalan tubuh. Limfosit B diperoleh dari sumsum tulang dan berperan dalam merespons dan memerangi patogen seperti bakteri, virus, dan jamur. |
| Limfosit T | Salah satu jenis sel darah putih (leukosit) yang memiliki peran penting dalam sistem kekebalan tubuh. Limfosit T diperoleh dari sumsum tulang dan berkembang di timus. Limfosit T berperan dalam mendeteksi dan melawan patogen atau sel yang terinfeksi. |
| Lokomotor | Segala sesuatu yang berkaitan dengan gerakan atau perpindahan. |
| Melioidosis | Penyakit infeksi bakteri yang disebabkan oleh bakteri Burkholderia pseudomallei. |
| Metabolisme | Serangkaian proses kimia dalam sel yang mengubah makanan menjadi energi dan bahan-bahan yang diperlukan untuk pertumbuhan, pemeliharaan, dan fungsi normal organisme. |
| Mikrobiom | Totalitas materi genetik dari semua mikroorganisme yang ada dalam suatu lingkungan atau organisme. |
| Mikrobiota/Mikroflora | Komunitas mikroorganisme yang hidup di suatu tempat atau organisme tertentu. |
| Mikroorganisme | Organisme kecil yang hanya dapat dilihat dengan mikroskop. Ini termasuk bakteri, virus, jamur, dan protozoa. |
| Nocardiosis | Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri dari genus Nocardia |

| | |
|-------------|--|
| Patogen | Organisme atau zat yang dapat menyebabkan penyakit atau gangguan pada organisme lain, termasuk manusia, hewan, atau tanaman. |
| Sifilis | Penyakit menular seksual (PMS) yang disebabkan oleh bakteri spirochaete bernama <i>Treponema pallidum</i> . |
| Tetrasiklin | Jenis antibiotik yang digunakan untuk mengobati infeksi bakteri gram-positif maupun gram-negatif. |
| Tularemia | Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri <i>Francisella tularensis</i> . |

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

| Lambang/singkatan | Arti dan penjelasan |
|------------------------|---|
| μL | Mikroliter |
| AMP | Antimicrobial peptides |
| ANOVA | Analysis of Variance |
| ASI | Air susu ibu |
| BSC | Biosafety Cabinet Class |
| BSHs | Bile salt hidrolase |
| CD ⁴⁺ | Cluster diferensiasi 4 |
| CD ⁸⁺ | Cluster diferensiasi 4 |
| ChOx | Kolesterol oksidase |
| cm | Sentimeter |
| CO ₂ | Karbon dioksida |
| <i>D. melanogaster</i> | <i>Drosophila melanogaster</i> |
| DAMP | <i>Damage-associated molecular patterns</i> |
| DNA | Deoxyribonucleic acid |
| EB | Enteroblas |
| EC | Enterosit |
| EE | Enteroendokrin |
| g | Gram |
| HSD | Hydroxysteroid dehydrogenase/isomerase |
| IEC | Intestinal epithelial cells |
| IEL | Intra-epithelial lymphocytes |
| IL-10 | Interleukin 10 |
| ILC | Innate lymphoid cells |
| <i>indy</i> | I'm not dead yet |
| iNK | Inducible natural killer |
| ISC | Intestinal stem cells |
| mL | Mililiter |
| mRNA | Messenger asam ribonukleat |
| MRSA | de Mann Rogosa Sharpe Agar |
| mTOR | The mammalian target of rapamycin |
| N | Normalitas |
| NLR | Nod-like receptors |
| NS | Non Signifikan |
| PAMP | <i>pathogen-associated molecular patterns</i> |
| PBS | Phosphate buffered saline |

| | |
|--------------|--|
| pH | Potential of Hydrogen |
| PRR | Pattern recognition receptors |
| rRNA | Ribosome-Ribonucleic Acid |
| SCFA | Short chain fatty acid |
| Sel NK | Sel natural killer |
| <i>srl</i> | Spargel |
| STAT3 | Signal transducer and activator of transcription 3 |
| TGF- β | Transforming growth factor-beta 1 |
| Th1 | sel T helper 1 |
| Th17 | sel T helper 17 |
| TLR | Toll-like receptors |
| <i>tom40</i> | Translocase outer membrane 40 |
| Treg | Regulatory T cells |
| tRNA | Ribonukleat transfe |
| V | Volume |

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Mikrobiota usus merupakan sekelompok mikroorganisme kompleks yang hidup pada saluran pencernaan manusia maupun hewan (Quigley, 2013). Mikrobiota usus berperan penting dalam menjaga fisiologis serta kesehatan usus, termasuk melindungi adanya patogen dengan cara menghasilkan berbagai zat antimikroba (Mills *et al.*, 2019), terlibat dalam beberapa jalur pencernaan dan metabolisme (Rothschild, 2018), serta memengaruhi pertumbuhan dan diferensiasi sel enterosit (Zhang *et al.*, 2015). Beberapa komponen yang berasal dari inang, seperti asam empedu dan zat-zat makanan, juga diubah oleh mikrobiota usus menjadi berbagai metabolit yang memengaruhi lingkungan usus inang dan keseimbangan imunologis (Tafesh-Edwards & Eleftherianos, 2023).

Mikrobiota usus mengalami perubahan sejak awal kehidupan, dimulai dari saat bayi lahir dan terus berlanjut hingga dewasa. Namun, jika terjadi gangguan pada mikrobiota usus, hal tersebut dapat berdampak pada kesehatan (Nicholson *et al.*, 2012). Banyak faktor yang dapat mengganggu mikrobiota usus, salah satunya paparan antibiotik yang berkepanjangan (Lu & Lu, 2019; Sun *et al.*, 2018).

Dalam era ini, penggunaan antibiotik terus mengalami peningkatan (Klein *et al.*, 2018; Kummerer, 2009). Antibiotik sebagai produk yang digunakan untuk membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri pada manusia maupun hewan (Sapkota *et al.*, 2008). Penggunaan Antibiotik tidak hanya terbatas pada populasi orang dewasa, melainkan juga menjangkau anak-anak (Vaz *et al.*, 2014; World, 2018). Biasanya, anak-anak diberikan antibiotik secara langsung saat sakit tanpa memeriksa penyebabnya terlebih dahulu, dan sebagian besar pemberian antibiotik melalui rute oral, yang juga berpotensi dalam memengaruhi jumlah mikrobiota usus (de Vries *et al.*, 2011). Beberapa penelitian menjelaskan bahwa pentingnya berbagai jenis bakteri yang berperan dalam berbagai aspek seperti perkembangan (Buchon *et al.*, 2009; Storelli *et al.*, 2011) dan umur (Gilbert *et al.*, 2018; Sommer & Backhed, 2013). Namun, dampak jangka panjang

dari paparan antibiotik pada awal kehidupan masih merupakan subjek penelitian yang terbatas.

Sampai saat ini, penelitian tentang mikrobiota usus dan profil fenotip masih terbatas pada organisme model Invertebrata (Clark & Walker, 2018; James M Kinross 2011; Vuong *et al.*, 2017). Seperti penelitian pada *Methapire guillmi* terjadi perubahan jumlah bakteri *proteobacteria* (Pseudomonadota) dan *Firmicutes* (Bacillota) serta peningkatan aktivitas enzim antioksidan (Chao *et al.*, 2020). Pada *D. nigrosparsa* terjadi perubahan bentuk sayap (Weiland, 2022). Selain itu, pada *D. melanogaster* terjadi peningkatan rasio *firmicutes/bacteroidetes* dan gangguan metabolisme lipid (Yu *et al.*, 2020).

Salah satu organisme model invetebrata yang digunakan dalam mempelajari dinamika mikrobiota usus yaitu *Drosophila melanogaster*. Beberapa keunggulan dari *Drosophila* yaitu memiliki siklus hidup yang singkat dan kemiripan genetik sekitar 75%, biaya yang rendah (Nainu, 2018). Beberapa komposisi mikrobiota usus *Drosophila* memiliki kemiripan dengan mamalia. Pada mamalia terdapat empat filum utama disaluran pencernaan, yaitu *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, dan *Proteobacteria* (Vajro *et al.*, 2013). Sedangkan pada *D. melanogaster* didominasi *Proteobacteria* dan *Firmicutes* (Lu & Lu, 2019). Oleh karena itu, *D. melanogaster* dianggap sebagai platform yang relevan dalam penelitian homeostasis usus dan perkembangan penyakit (Charroux & Royet, 2012). Beberapa penelitian juga telah menggunakan *D. melanogaster* sebagai organisme uji untuk memahami perkembangan mikrobiota usus (Guo *et al.*, 2023; Yu *et al.*, 2020).

Walaupun studi ini dengan kuat mendukung peran signifikan mikrobiota dalam kelangsungan hidup, hingga saat ini hanya beberapa penelitian yang mengeksplorasi pengaruh pemberian antibiotik pada tahap awal kehidupan terhadap profil fenotip seperti survival, lokomotor, dan reproduksi. Namun, berbeda dengan penelitian sebelumnya, pada penelitian ini menggunakan *D. melanogaster wildtype* yang tidak mengalami perubahan genetik. Dalam penelitian ini, diharapkan bahwa paparan tetrasiklin sejak fase awal kehidupan *D. melanogaster* mengganggu profil fenotipnya di kemudian hari, yang dikaitkan dengan perubahan jumlah mikrobiota usus.

1.2. Perumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dari penelitian ini yaitu bagaimana perubahan mikrobiota usus dan profil fenotip pada *D. melanogaster* setelah diberikan tetrasiklin?

1.3. Tujuan dan Manfaat

1.3.1. Tujuan

Adapun tujuan penelitian ini yaitu mengevaluasi dampak pemberian tetrasiklin terhadap mikrobiota usus dan profil fenotip pada *D. melanogaster*.

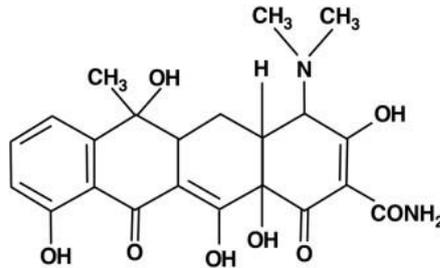
1.3.2. Manfaat

Adapun manfaat penelitian ini yaitu diharapkan dapat memberikan kontribusi signifikan terhadap pemahaman tentang dampak pemberian jangka panjang antibiotik dari awal kehidupan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tetrasiklin



Gambar 1. Struktur Kimia Tetrasiklin (Kwiatkowska *et al.*, 2013).

Tetrasiklin merupakan antibiotik pertama kali ditemukan pada tahun 1953 yang diekstraksi dari *Streptomyces aureofaciens* (Rusu & Buta, 2021). Antibiotik ini bekerja dengan menghambat sintesis protein termasuk bakteri Gram-positif dan Gram-negatif, parasit, serta protozoa. Tetrasiklin termasuk antibiotik yang memiliki spektrum luas (di Cerbo *et al.*, 2019, Rusu and Buta, 2021, Shutter and Akhondi 2022).

2.1.1. Karakteristik

Tetrasiklin bersifat amfoter, membentuk garam dengan asam kuat (misalnya klorida) dan basa (misalnya garam natrium) bentuk garam yang paling umum adalah hidroklorida. Salain itu berbentuk serbuk kuning, tidak berbau, higroskopis. Tetrasiklin hidroklorida menjadi gelap di udara lembab saat terkena sinar matahari. Larut 1 dalam 10 air dan 1 dalam 100 alkohol, praktis tidak larut dalam kloroform dan dalam eter, larut dalam larutan alkali hidroksida dan karbonat. Larutan 1% dalam air memiliki pH 1.8 hingga 2.8. Potensi tetrasiklin hidroklorida berkurang dalam larutan yang memiliki pH di bawah 2. Tetrasiklin hidroklorida harus disimpan dalam wadah kedap udara dan terlindung dari cahaya (di Cerbo *et al.*, 2019).

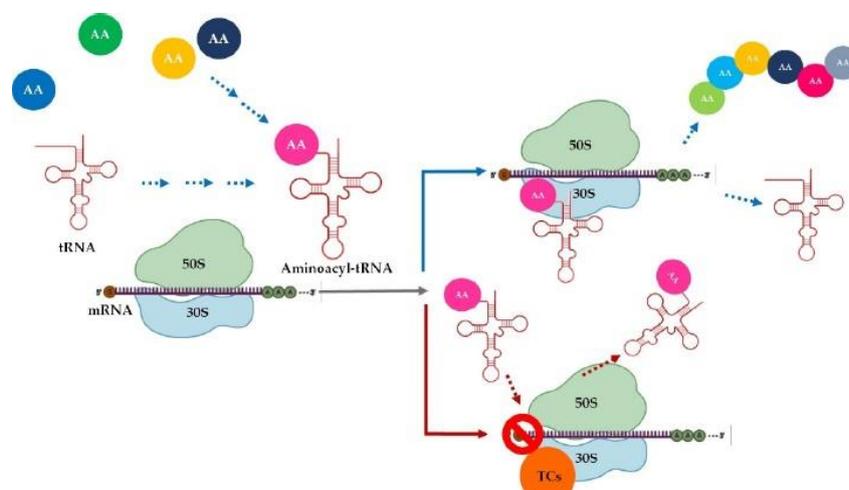
2.1.2. Indikasi

Tetrasiklin digunakan pada beberapa penyakit menular seperti aktinomikosis, amebiasis, anaplasmosis, brucellosis, diare, ehrlichiosis, infeksi klamidia, infeksi riketsia, leptospirosis, melioidosis, nocardiosis, legionnaire, lyme stadium awal, radang panggul, sifilis, dan tularemia (Cerbo *et al.*, 2019, Shutter and Akhondi, 2022).

2.1.3. Efek Samping

Tetrasiklin umumnya dapat menyebabkan gangguan saluran pencernaan, seperti ketidaknyamanan perut, nyeri di epigastrium, mual, muntah, anoreksia, serta perubahan warna gigi secara permanen pada anak-anak dan penghambatan pertumbuhan tulang pada bayi. Selain itu, pemberian dosis tinggi selama kehamilan dapat memengaruhi warna kornea pada bayi yang baru lahir, mengganggu flora usus, dan meningkatkan nilai enzim hati. Beberapa pasien juga mengalami fotosensitivitas yang dapat memanifestasikan dirinya sebagai ruam merah atau kulit melepuh. Tetrasiklin juga berpotensi menyebabkan hepatotoksitas dan dapat memperburuk kondisi gagal ginjal yang sudah ada sebelumnya. Terdapat juga korelasi antara penggunaan tetrasiklin dengan hipertensi intrakranial (IH, *pseudotumor cerebri*) (Martindale, 2009; Shutter & Akhondi, 2022).

2.1.4. Mekanisme Kerja



Gambar 2. Skema mekanisme kerja tetrasiklin. Asam amino (AA); Tetrasiklin (TC); asam ribonukleat transfer (tRNA); Messenger asam ribonukleat (mRNA); 30s & 50s subunit ribosom (Rusu & Buta, 2021).

Sintesis protein berperan penting bagi setiap sel. Ini melibatkan fungsi ribosom yang menerjemahkan kode mRNA menjadi suatu protein. Pada eukariota terjadi pada ribosom dengan subunit 40s dan 60s sedangkan pada prokariota seperti bakteri terjadi pada ribosom subunit 30s dan 50s. Pada lokasi subunit ribosom, tRNA yang membawa asam amino akan mengikat template mRNA. Pengikatan berikutnya dari setiap tRNA yang diisi dengan asam amino yang berkontribusi pada pembentukan dan pemanjangan protein seluler (Shutter and Akhondi, 2022).

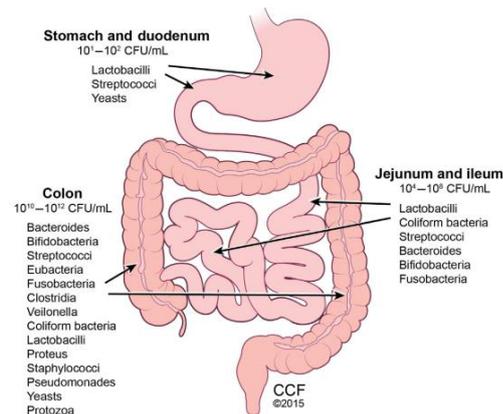
Tetrasiklin secara khusus menghambat aminoasil-tRNA pada ribosom bakteri. Tetrasiklin berikatan dengan afinitas tinggi pada komponen spesifik (16s) ribosom subunit 30s selama translasi. Dengan cara ini, proses penetrasi tRNA ke lokasi aseptor pada ribosom bakteri terhambat sehingga tidak terjadi penggabungan asam amino dalam proses pemanjangan rantai polipeptida. Dengan demikian proses sintesis protein terhambat dan sel tidak dapat lagi mempertahankan fungsinya dengan baik atau bereplikasi lebih lanjut (Rusu & Buta, 2021; Shutter & Akhondi, 2022).

2.1.5. Farmakokinetik

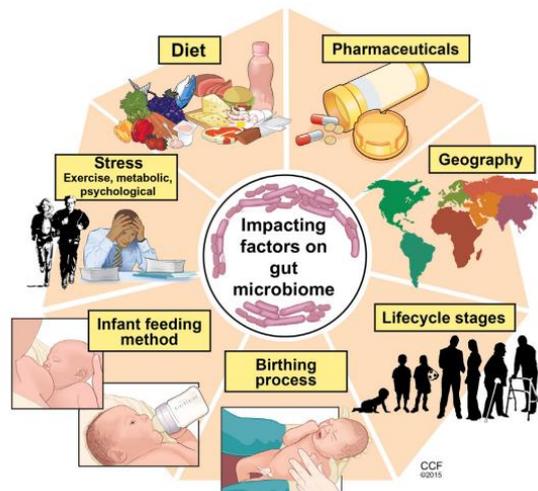
Tetrasiklin terabsorpsi disaluran pencernaan sekitar 60% sampai 80%. Tetrasiklin didistribusikan secara luas ke seluruh jaringan dan cairan tubuh. Sekitar 45% tetrasiklin terikat pada protein plasma. Tetrasiklin diekskresikan melalui urin dan feses. Tetrasiklin diekskresikan dalam urin sekitar 60% dari dosis intravena dan 55% dari dosis oral. Untuk ekskresi dalam empedu, sekitar 5 sampai 25 kali dalam plasma dapat terjadi. Jumlah yang cukup besar terjadi pada feses setelah dosis oral dan jumlah yang lebih sedikit setelah injeksi sebagai bentuk aktif. Tetrasiklin termasuk dalam *short-acting* yang memiliki waktu paruh sekitar 8-11 jam (fungsi ginjal normal) dan 57-108 jam (penyakit ginjal stadium akhir). Pada ibu hamil, tetrasiklin terabsorpsi dalam ASI sekitar 60% atau lebih dari yang ada di plasma ibu. Tetrasiklin akan berdifusi melintasi plasenta dan terabsorpsi dalam sirkulasi janin sekitar 25% sampai 75% dari konsentrasi dalam darah ibu. Tidak hanya dalam plasenta, tetrasiklin juga berdifusi secara luas ke semua jaringan ovarium, testis, kelenjar endokrin, dan kulit. Tetrasiklin menghambat pembentukan tulang baru dan kalsifikasi pada gigi yang sedang berkembang (Agwuh & MacGowan, 2006; Martindale, 2009).

2.2. Mikrobiota Usus

Mikrobiota usus adalah sekelompok mikroorganisme seperti bakteri, virus, protozoa, dan fungi yang ada di saluran pencernaan. Mikrobiota usus terdiri dari semua bakteri, baik yang bersifat simbiosis maupun patogen, yang berada di saluran pencernaan (Gail A.M. Cresci, 2019). Mikrobiota usus manusia terdiri dari empat filum utama yang mencakup lebih dari 90% dari total populasi bakteri, yaitu *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, dan *Proteobacteria*. Selain itu, terdapat juga beberapa filum, seperti *Verrucomicrobia* dan *Fusobacteria*, namun dalam jumlah yang terbatas (Becattini *et al.*, 2016; Sekirov *et al.*, 2010).



Gambar 3. Sebaran mikrobiota di usus (Gail A.M. Cresci, 2019)



Gambar 4. Faktor-faktor yang diketahui memengaruhi mikrobiota usus (Gail A.M. Cresci, 2019)

Perkembangan dan perubahan mikrobiota usus dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk metode persalinan dan pemberian makanan pada bayi, paparan

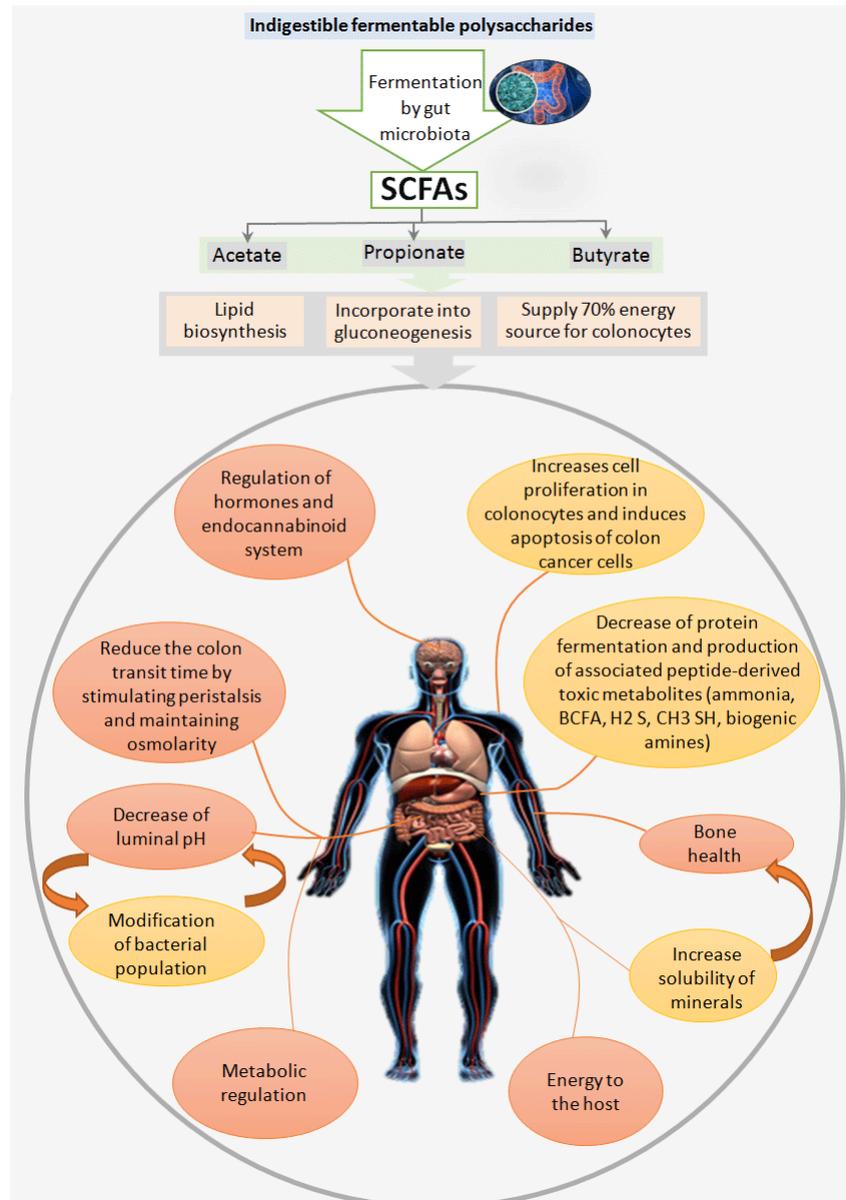
terhadap stres, lingkungan, pola makan, obat-obatan, tahap siklus hidup, dan penyakit penyerta (Gail A.M. Cresci, 2019).

2.2.1. Peran Mikrobiota Usus

Beberapa peran mikrobiota usus diantaranya (Al-Assal *et al.*, 2018; Flint *et al.*, 2012) :

a) Memfermentasi komponen makanan yang tidak dapat di cerna.

Karbohidrat atau polisakarida yang tidak dicerna dalam makanan memiliki dampak besar pada kesehatan manusia. Beberapa polisakarida terurai sepenuhnya atau sebagian selama proses pencernaan namun, yang tidak terurai oleh enzim pencernaan dianggap melewati usus. Karbohidrat yang tidak dicerna akan masuk ke usus besar lalu diurai dan difermentasi (dimetabolisme) oleh mikroflora. Fermentasi polisakarida oleh mikrobiota usus menghasilkan energi untuk pertumbuhan mikroba serta sel-sel usus termasuk kolonosit utamanya dengan memproduksi metabolit seperti *short chain fatty acid* (SCFA). Selain itu, gas-gas campuran (CO₂, metana, dan hidrogen), laktat, format, etanol, dan beberapa gas juga dihasilkan sebagai produk samping dari proses fermentasi. Hasil metabolit *Short chain fatty acid* (SCFA) seperti asetat melalui proses biosintesis lipid dan glukoneogenesis hati, sedangkan propionat melalui proses glukoneogenesis hati. Butirat adalah sumber energi utama untuk kolonosit, yang menyediakan sekitar 70% energi harian. Bentuk bebas dari *Short chain fatty acid* (SCFA) ini menunjukkan beberapa fungsi biologis yang dapat mengubah beberapa mekanisme fisiologis dalam tubuh manusia (Ahmadi *et al.*, 2017).



Gambar 5. Fermentasi polisakarida yang tidak dapat dicerna di usus besar dan produksi SCFA, yang dapat memengaruhi berbagai mekanisme untuk menjaga kesehatan manusia (Ahmadi *et al.*, 2017).

b) Mensintesis vitamin dan mikronutrien esensial lainnya.

Mikrobiota usus pada manusia seperti *Bacteroides*, *Enterococcus*, dan *Bifidobacterium* dapat mensintesis vitamin K dan sebagian besar vitamin B yang larut dalam air secara *de novo*. Namun, sintesis mikronutrien secara *de novo* oleh bakteri harus terjadi sebelum zona penyerapan usus yang khusus untuk setiap nutrisi tersebut. Sebagai contoh, karena kobalamin hanya diserap di ileum, bakteri kolon yang memproduksi B12 kemungkinan besar tidak akan berkontribusi meningkatkan ketersediaan vitamin ini (Hadadi *et al.*, 2021).

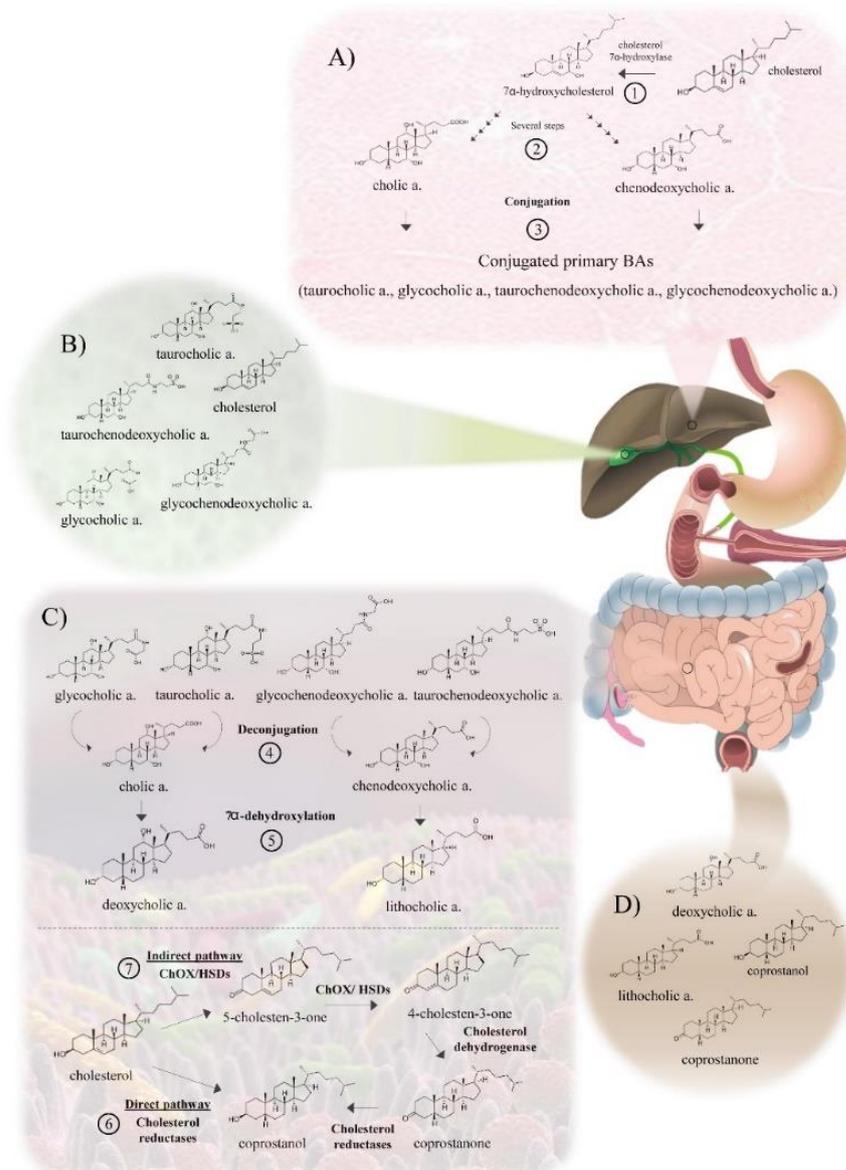
c) Mengubah kolesterol dan asam empedu.

Kolesterol adalah jenis lipid terpenoid yang memiliki rangka karbon yang terbentuk oleh empat cincin *alicyclic* yang bersatu. Kolesterol memiliki peran penting sebagai komponen utama dari membran sel mamalia dan sebagai bahan dasar untuk sintesis hormon steroid, vitamin D, dan utamanya asam empedu. Setelah melewati saluran pencernaan, sebagian besar kolesterol akan diserap di usus duodenum dan jejunum melalui proses difusi pasif. Kemudian kolesterol akan bergabung dengan trigliserida membentuk kilomikron, yang akan diserap kembali ke hati melalui sirkulasi enterohepatik. Kolesterol yang tidak terserap akan mencapai usus besar dan akan dimetabolisme oleh mikrobiota usus dan/atau dikeluarkan bersama tinja (Molinero *et al.*, 2019).

Metabolisme kolesterol oleh mikroba usus didasarkan pada reduksi enzimatisnya untuk menghasilkan coprostanon dan coprostanol, yang kurang dapat diserap dalam usus. Dengan demikian, produksi coprostanol menyebabkan peningkatan pengeluaran kolesterol ke dalam tinja, membantu mengurangi kadar kolesterol dalam darah. Ada dua jalur yang digunakan, yaitu Jalur pertama kolesterol akan diubah menjadi coprostanol oleh kolesterol reduktase. Jalur kedua kolesterol akan di ubah menjadi *5-kolestren-3-one* oleh *kolesterol oksidase (ChOx)* atau *3 β -hydroxysteroid dehydrogenase/isomeras (HSD)* menjadi *5-kolestren-3-one*, kemudian akan di ubah menjadi coprostanon oleh kolesterol dehydrogenase dan akhirnya menjadi coprostanol oleh kolesterol reduktase. Gen pengkode ChOx ditemukan pada bakteri dalam filum *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, dan *Actinobacteria*. Tingkat konservasi atau kemiripan gen ini lebih rendah pada *Actinobacteria*, tetapi tidak ditemukan pada *Firmicutes*, yang merupakan salah satu filum bakteri yang dominan dalam mikrobiota usus manusia (Molinero *et al.*, 2019).

Asam empedu pada manusia ditentukan oleh siklus enterohepatik dan metabolisme mikrobial dari asam empedu di usus. Secara singkat, hati mensintesis dua asam empedu utama dari kolesterol, yaitu asam kolenat dan kenedeoksikolat, yang dikonjugasikan dengan taurin atau glisin sebelum disalurkan ke aliran empedu. Asam empedu yang dikonjugasikan menjadi komponen utama empedu, yang disimpan di kantong empedu sebelum diekskresikan ke usus kecil selama pencernaan. Lebih dari 95% asam empedu yang dikeluarkan dalam empedu direabsorpsi di ileum terminal, kembali ke hati melalui sirkulasi enterohepatik, dan hanya 5% mencapai usus besar,

diekskresikan bersama tinja. Di usus besar, asam empedu dapat mengalami beberapa transformasi yang dimediasi oleh mikrobial, termasuk dekonjugasi yang dilakukan oleh hidrolase garam empedu (Bile salt hidrolase/BSHs) yang menghidrolisis ikatan amida, dan transformasi asam empedu dekonjugasi primer menjadi asam empedu sekunder terutama melalui 7α -dehidroksilasi. Sementara reaksi dekonjugasi dilakukan oleh berbagai bakteri kolonik, 7α -dehidroksilasi terbatas pada sejumlah bakteri usus. Dengan demikian, asam empedu yang diekskresikan dalam tinja, yang utamanya terdiri dari asam empedu sekunder, sangat bergantung pada metabolisme mikrobota usus (Molinero *et al.*, 2019).



Gambar 6. Metabolisme kolesterol dan empedu bakteri dalam saluran pencernaan, termasuk transformasi yang dimediasi oleh mikrobiota (Molinero *et al.*, 2019).

d) Memodulasi sistem imun

Epitel mukosa usus terdiri dari sel epitel usus (*intestinal epithelial cells /IEC*), limfosit intraepitelial (*intra-epithelial lymphocytes /IEL*), sel Paneth, dan sel goblet sebagai sel epitel sekretoris yang memiliki masing-masing fungsi. Lamina propria adalah jaringan ikat yang terletak di bawah epitel, terutama terdiri dari folikel Peyer yang terdiri dari berbagai sel kekebalan, termasuk sel limfoid bawaan (*innate lymphoid cells/ILC*), sel natural killer induk (*inducible natural killer /iNK*), limfosit T dan B, serta sel mikrofold (M). Sel-sel ini berfungsi sebagai jembatan komunikasi antara lumen usus dan sel-sel penyajian antigen. Selain itu, sel Paneth dan IEC berkontribusi kuat pada pertahanan tubuh dengan mengeluarkan peptida antimikroba (*antimicrobial peptides /AMP*), seperti α - β defensin dan katekilidin. Selain itu, IEC dan sel imun bawaan mengekspresikan reseptor pengenalan pola (*pattern recognition receptors /PRR*), termasuk reseptor toll-like (*toll-like receptors /TLR*) dan reseptor nod-like (*nod-like receptors /NLR*) yang mengenali *pathogen-associated molecular patterns* (PAMP) dan *damage-associated molecular patterns* (DAMP). Mikrobiota usus dan metabolitnya, termasuk asam lemak rantai pendek (*Short chain fatty acid /SCFA*), menginduksi diferensiasi sel T terutama pada sel Treg, Th1, dan Th17, yang berdampak pada kekebalan sistemik. Mikrobiota usus mengatur diferensiasi Th1 dari sel T CD4+ melalui induksi jalur STAT-3 dan mTOR. Selain itu, mikrobiota menginduksi perkembangan Treg dengan produksi IL-10 dan TGF- β . Mikrobiota dan metabolitnya dapat meningkatkan keseimbangan Th17/Treg. Mikrobiota usus dapat mengaktifkan sel T CD8+ dan sel NK yang sangat penting dalam kekebalan anti-tumor. Di sisi lain, sistem kekebalan tubuh memodulasi translokasi mikroba sistemik dan peradangan melalui aktivasi jalur pensinyalan PRR serta produksi AMP (Aghamajidi & Maleki Vareki, 2022).

menggantikannya. Faktanya, beban mikroba total dapat meningkat setelah pengobatan antibiotik, meskipun keragaman spesies berkurang (Ramirez *et al.*, 2020).

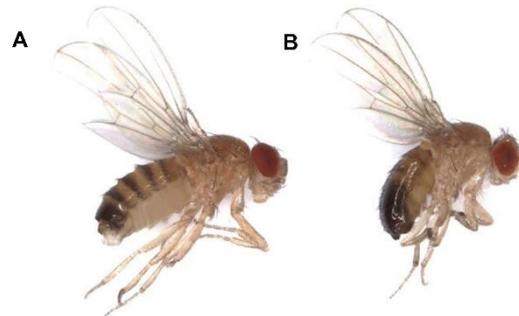
b) Metabolisme yang Diubah

Paparan antibiotik dapat mengakibatkan perubahan dalam metabolisme usus yang memungkinkan dapat berhubungan dengan perubahan dalam mikrobioma. Seperti pada pasien dengan sindrom metabolik, pemberian oral vankomisin menurunkan asam empedu sekunder tinja, dengan peningkatan asam empedu primer dalam plasma postprandial secara simultan. Secara bersamaan, vankomisin mempengaruhi fisiologi pejamu dengan menurunkan sensitivitas insulin primer. Perubahan yang diinduksi antibiotik dalam metabolisme asam empedu dapat memengaruhi fisiologi inang dan kerentanan terhadap infeksi (Vrieze *et al.*, 2014).

c) Resistensi Antibiotik

Resistensi antibiotik didefinisikan sebagai kapasitas suatu spesies bakteri untuk bertahan hidup pada konsentrasi antibiotik yang menghambat atau membunuh bakteri lain dari spesies yang sama. Bakteri telah mengembangkan berbagai proses untuk menghindari efek antibiotik, termasuk perlindungan terhadap penyerapan antibiotik melalui membran sel mereka, mengembangkan proses enzimatik yang memodifikasi atau mendegradasi antibiotik, mengubah molekul yang menjadi target antibiotik, dan secara aktif mengeluarkan antibiotik dari sel melalui protein *efflux* khusus. Enzim bakteri yang mampu menetralkan antibiotik termasuk β -laktamase, enzim aminoglikosidomodifikasi, dan kloramfenikol asetiltransferase. Bakteri juga dapat memutasi target molekul antibiotik, mengganggu interaksi yang sangat spesifik antara antibiotik dan molekul targetnya melalui modifikasi struktural kecil. Sebagai contoh, mutasi pada protein pengikat penisilin mengurangi efek dari β -laktam, mutasi pada 23S rRNA memberikan resistensi terhadap makrolida, lincosamid, dan streptogramin B, dan mutasi pada DNA topoisomerase II dan IV menyebabkan resistensi terhadap kuinolon dan fluorokuinolon. Bakteri dapat menghilangkan agen antimikroba dengan memompanya keluar melalui protein *efflux* yang terletak di membran sel bakteri. Meskipun protein ini dapat bersifat spesifik terhadap antibiotik, sebagian besar merupakan *transporter multidrug*. Mekanisme resistensi lainnya adalah berkurangnya permeabilitas membran luar, yang mengakibatkan penurunan penyerapan antibiotik (Ramirez *et al.*, 2020).

2.3. *Drosophila melanogaster*



Gambar 8. *D. melanogaster* Wildtype betina (A) dan jantan (B) (Wangler & Bellen, 2017).

Drosophila melanogaster termasuk hewan invertebrata berukuran sekitar 3 mm, memiliki siklus hidup pendek (10-12 hari pada suhu 25°C) dan umur 90–120 hari. Sekitar 75% dari gen penyebab penyakit manusia diyakini memiliki kesamaan fungsional pada lalat. Selain itu, beberapa penemuan terkait dengan genetik dan fungsi biologis ditemukan pertama kali pada *Drosophila* yang diterjemahkan ke sistem mamalia (Panchal & Tiwari, 2017).

2.3.1. Klasifikasi

| | |
|---------|---|
| Kingdom | : Animalia |
| Filum | : Arthropoda |
| Kelas | : Insecta |
| Ordo | : Diptera |
| Family | : Drosophilidae |
| Genus | : <i>Drosophila</i> |
| Spesies | : <i>Drosophila melanogaster</i> (Verma & Singh, 2020). |

2.3.2. Deskripsi

Perbedaan anatomi *D. melanogaster* jantan dan betina yaitu (Graf *et al.*, 1992):

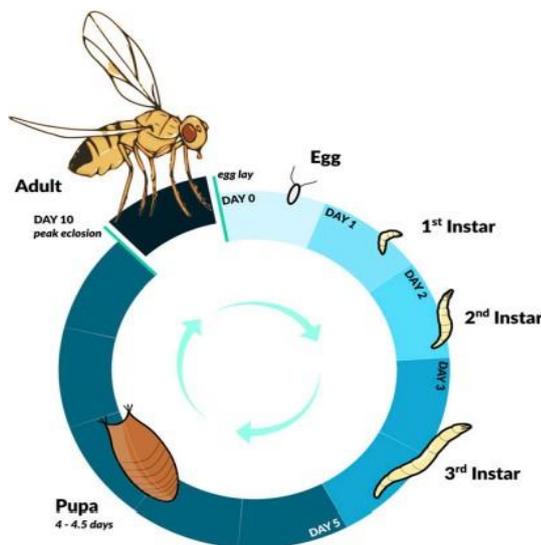
- Sex combs*. Pada jantan terdapat seberkas rambut tebal pada bagian atas tarsus *sex combs*. *Sex combs* adalah deretan sekitar 10 bulu pendek, tebal, dan hitam yang terletak di ujung bawah sisi depan kaki. Pada betina tidak memiliki struktur seperti itu.
- Alat kelamin dan warna perut. Pada alat kelamin jantan memiliki struktur menonjol dan gelap. Selain itu, jantan memiliki 5 segmen dan bagian atas perut tampak hitam karena segmen terakhir sangat berpigmen dan

membentuk daerah hitam. Sedangkan pada betina memiliki 7 segmen perut dan tepi belakang gelap dari setiap segmen terlihat dalam tampilan punggung atau lateral.

- c) Bentuk abdomen. Pada ujung atas jantan membulat sedangkan pada betina menonjol sehingga menghasilkan bentuk runcing yang khas.
- d) Ukuran tubuh. Betina lebih besar dari jantan.
- e) Panjang sayap. Betina lebih panjang dari jantan.

2.3.3. Siklus Hidup

Drosophila merupakan serangga holometabolous yang mengalami metamorfosis dari bentuk larva hingga dewasa (imago). Siklus hidup *D. melanogaster* terdiri dari 4 tahap yaitu: embrio, larva, pupa, dan lalat dewasa yang membutuhkan waktu ~9-10 hari. *D. melanogaster* dapat bertahan hidup pada suhu 12-35°C serta dapat disimpan dalam inkubator pada suhu 25°C dengan kelembaban 60% agar memperoleh pertumbuhan dan kelangsungan hidup yang optimal (Flatt, 2020; Markow, 2015b). Lalat betina yang telah dibuahi menyimpan sperma di dalam receptaculum seminis untuk fertilisasi dari ratusan telur yang akan dikeluarkan setelah beberapa hari. Lalat betina dapat menghasilkan 30-50 telur setiap hari (Nainu, 2018).



Gambar 9. Siklus hidup *Drosophila* (Flatt, 2020).

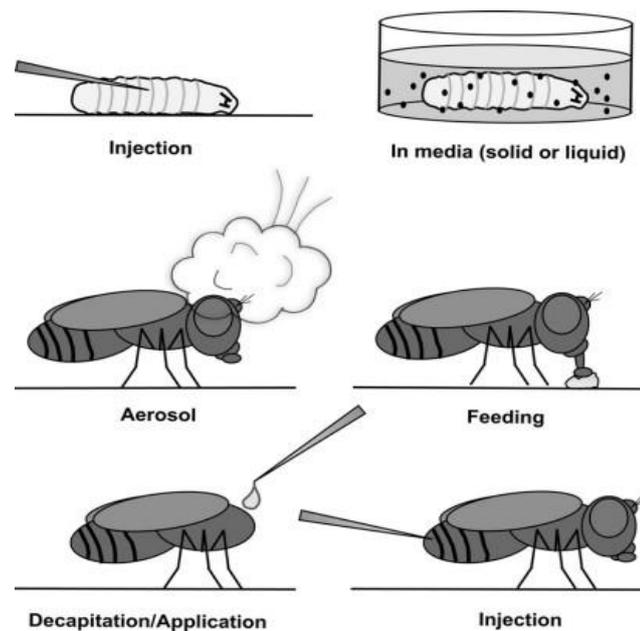
Puncak eklosi dewasa biasanya terjadi ~10-11 hari setelah menetas dan pada 15-16 hari setelah menetas >99% lalat yang hidup telah keluar. Larva menetas ~22-24 jam. Perbandingan telur yang menghasilkan larva adalah ~90%

pada awal kehidupan namun menurun seiring bertambahnya usia. Larva melewati tiga tahap larva (instar L1-L3) dalam ~4 hari (L1 dan L2: 24 jam, dan L3: 48 jam). Pada tahap L1 larva makan di permukaan, sedangkan pada tahap moulting ke L2 larva menggali ke dalam makanan. Sekitar 5 hari setelah menetas, larva berhenti makan, meninggalkan makanan, dan mulai berkeliaran mencari tempat optimal untuk pupa. Masa kepompong, yaitu waktu dari masa pupa sampai eclosion dewasa, berlangsung selama ~4-4,5 hari. Perbandingan kelangsungan hidup telur hingga dewasa (viabilitas) seringkali ~70–80% (Flatt, 2020).

2.3.4. Rute Pemberian Obat

Beberapa rute pemberian obat yang dapat digunakan pada *Drosophila* yaitu (Pandey & Nichols, 2011):

- 1) Pada *Drosophila* yang masih dalam bentuk embrio, obat diberikan melalui permeabilisasi.
- 2) Pada lalat yang masih dalam bentuk larva, obat ditambahkan ke dalam media tempat perkembangbiakan larva. Media tersebut dapat berupa media padat untuk pemaparan jangka panjang atau media ragi cair untuk pemaparan jangka pendek. Selain itu, obat juga dapat diinjeksikan langsung pada larva.
- 3) Pada lalat dewasa, terdapat 4 rute yaitu:
 - a) Obat dibuat dalam bentuk gas atau aerosol misalnya etanol dan kokain.
 - b) Obat dicampurkan ke dalam pakan *Drosophila* atau menggunakan kertas saring yang ditetesi obat. Jika obat yang digunakan memiliki rasa yang tidak enak dapat ditambahkan bahan seperti sukrosa, pisang atau ragi, Keuntungan dari metode ini adalah pengamatan atau pengukuran efek akut dari suatu obat. Kerugian termasuk variabilitas yang signifikan dalam dosis di antara lalat sebagai akibat berbagai ukuran tubuh dan jumlah obat yang dicerna.
 - c) Obat diinjeksikan atau diberikan langsung pada bagian tubuh *drosophila* yang sudah dibedah (decapitation).
 - d) Obat diinjeksikan ke bagian abdomen sehingga dengan cepat berdifusi ke dalam tubuh *Drosophila*.



Gambar 10. Rute pemberian obat pada *Drosophila* (Pandey & Nichols, 2011).

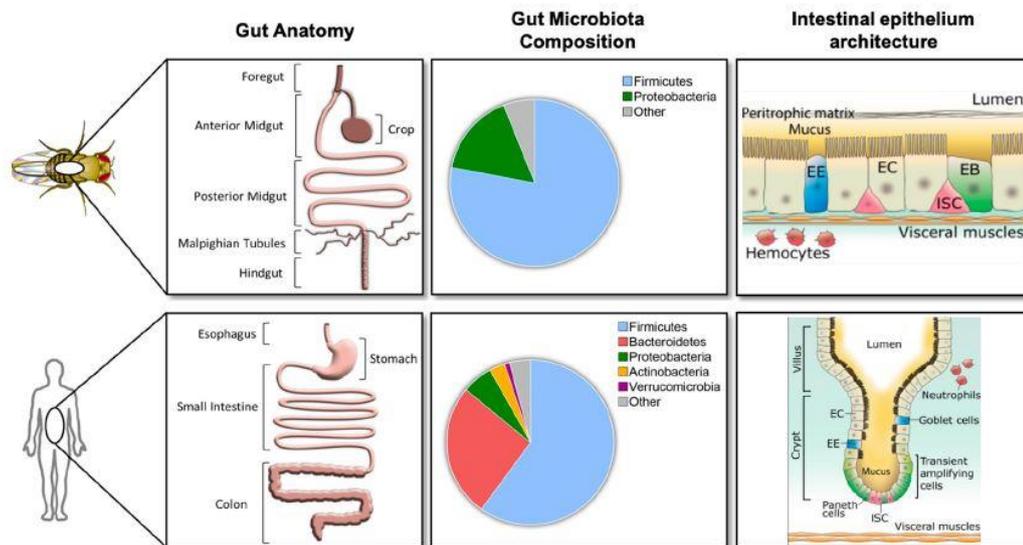
2.3.5. *Drosophila* sebagai Hewan Model Mikrobiota Usus

Sejak tahun 1960-an, *D. melanogaster* telah digunakan sebagai model organisme untuk mengidentifikasi dan memahami interaksi antara inang-mikroba dalam usus (Trinder et al., 2017). Mikrobiota dari *Drosophila* yang diberi diet polisakarida kompleks, seperti tepung jagung atau tepung kedelai, cenderung mengandung banyak spesies *Lactobacillus* (*Firmicutes* dari ordo *Lactobacillales*). Sebaliknya, *Drosophila* yang diberi makanan kaya gula memiliki mikrobioma yang dominan oleh *Acetobacteraceae* (α -*Proteobacteria*), terutama jenis *Acetobacter* dan *Gluconobacter* (Douglas, 2018). Beberapa taksa bakteri umumnya dikaitkan dengan lalat dan manusia seperti spesies *Lactobacillus*. Menariknya, spesies bakteri ini menunjukkan sifat-sifat yang meningkatkan kesehatan yang serupa pada *Drosophila* dan mamalia (Tefit & Leulier, 2017).

2.4. Struktur Usus Manusia dan *Drosophila*

Genom *Drosophila* telah diurutkan sepenuhnya dan 75% dari gen yang berhubungan dengan penyakit pada manusia memiliki homolog fungsional di lalat. Prinsip-prinsip genetik, perkembangan, dan biokimia yang berkaitan dengan pemeliharaan stabilitas epitel usus dan homeostasis sebagian besar mirip antara lalat dan vertebrata. Kesamaan antara *Drosophila* dan epitel usus

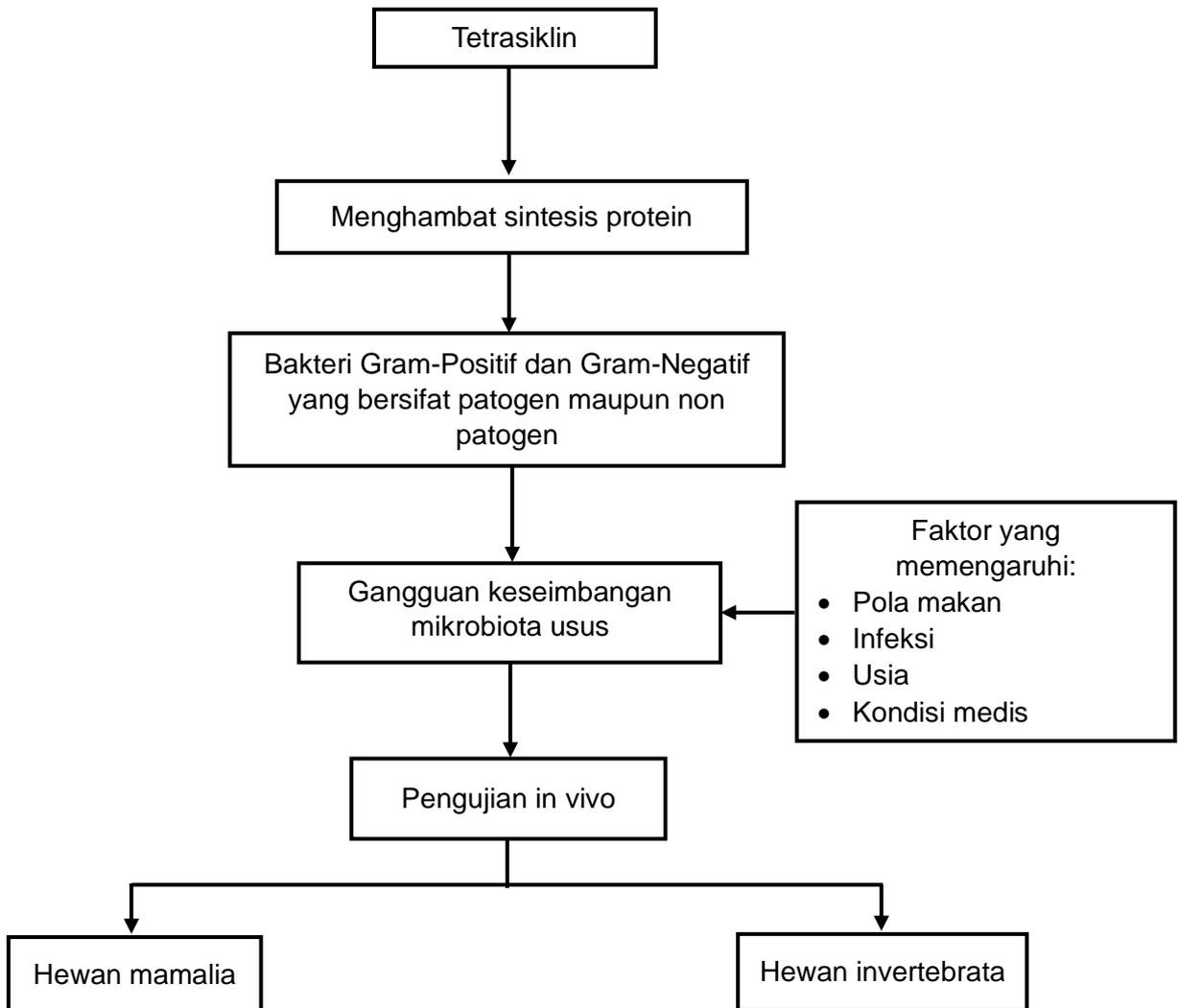
manusia, serta konservasi biologi usus yang telah teridentifikasi, memberikan dasar yang kuat bagi para peneliti dalam memanfaatkan usus tengah *Drosophila* sebagai sistem model yang sangat relevan. Hal ini memungkinkan mereka untuk menyelidiki berbagai aspek, seperti fisiologi usus, regenerasi jaringan, mekanisme pertahanan kekebalan tubuh, serta interaksi yang berperan dalam menjaga keseimbangan homeostatis antara inang dan mikrobiota (Capo *et al.*, 2019).



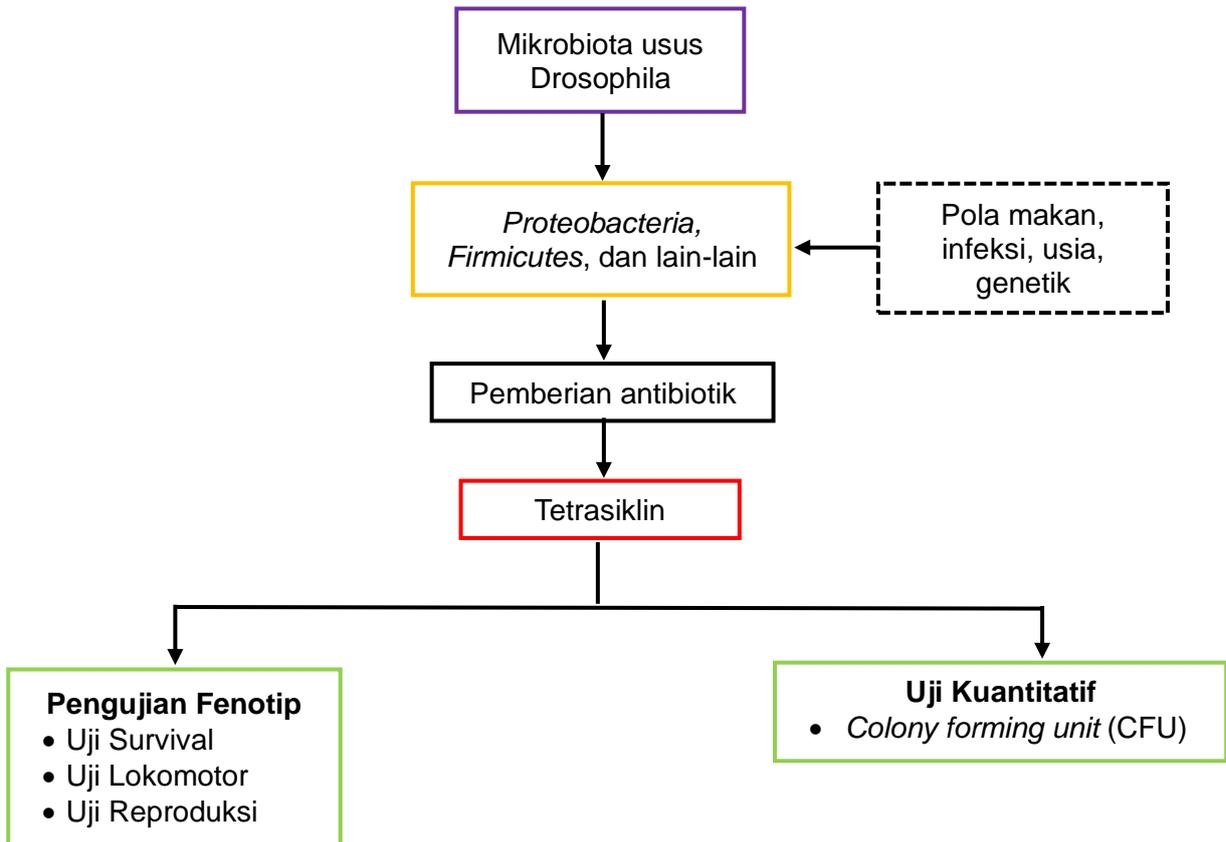
Gambar 11. Perbandingan *Drosophila* dan anatomi usus, mikrobiota bakteri usus, dan epitel usus manusia (Capo *et al.*, 2019)

Pada Anatomi usus *D. melanogaster* dan manusia. Bagian tengah usus dan bagian belakang usus *Drosophila* merupakan analog fungsional dari usus halus dan usus besar manusia. Selain itu, epitel usus *Drosophila* terdiri dari beberapa jenis sel yang berbeda, seperti sel induk usus (ISC), enteroblas (EB) yang belum berdiferensiasi, enterosit (EC), dan sel enteroendokrin (EE). Sebagian besar dari sel-sel ini memiliki analogi dengan sel-sel dalam usus manusia, dan hal ini memungkinkan penelitian yang lebih mendalam tentang fisiologi dan interaksi dalam sistem pencernaan. dalam keadaan normal, mikrobiota usus terdapat di dalam rongga usus, dan ada penghalang yang mencegah kontak langsung antara sel epitel usus dan bakteri usus. Pada *Drosophila*, penghalangnya adalah membran peritrofik, sementara pada manusia, penghalangnya adalah lendir. Penghalang ini bertindak sebagai perlindungan untuk menjaga agar mikroorganisme tidak berinteraksi secara langsung dengan sel epitel usus (Capo *et al.*, 2019; Trinder *et al.*, 2017).

2.5. Kerangka Teori



2.6 Kerangka Konsep



Keterangan:

- Variabel Bebas
- Variabel Kendali
- Variabel Antara
- Variabel Terikat