

**UJI AKTIVITAS VITAMIN D3 TERHADAP FUNGSI  
KOGNITIF *Drosophila* TRANSGENIK YANG  
MENGEKSPRESIKAN AMILOID-BETA**

**ACTIVITY TEST OF VITAMIN D3 ON COGNITIVE  
FUNCTION OF TRANSGENIC DROSOPHILA  
EXPRESSING AMYLOID-BETA**

**M. ILHAM AKBAR  
N011201124**



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



Optimization Software:  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

**UJI AKTIVITAS VITAMIN D3 TERHADAP FUNGSI  
KOGNITIF *Drosophila* TRANSGENIK YANG  
MENGEKSPRESIKAN AMILOID-BETA**

**ACTIVITY TEST OF VITAMIN D3 ON COGNITIVE  
FUNCTION OF TRANSGENIC DROSOPHILA  
EXPRESSING AMYLOID-BETA**

**M. ILHAM AKBAR  
N011201124**



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



**UJI AKTIVITAS VITAMIN D3 TERHADAP FUNGSI KOGNITIF  
*Drosophila* TRANSGENIK YANG MENGEKSPRESIKAN AMILOID-  
BETA**

**ACTIVITY TEST OF VITAMIN D3 ON COGNITIVE FUNCTION OF  
TRANSGENIC DROSOPHILA EXPRESSING AMYLOID-BETA**

**SKRIPSI**

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

**M. ILHAM AKBAR  
N011201124**



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

UJI AKTIVITAS VITAMIN D3 TERHADAP FUNGSI KOGNITIF  
*Drosophila* TRANSGENIK YANG MENGEKSPRESIKAN AMILOID-BETA

M. ILHAM AKBAR  
N011201124

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama



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

Pembimbing Pendamping



Habibie, S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D. Apt  
NIP. 19830920 200801 1 003

Pada tanggal 21 Februari 2024



**SKRIPSI**  
**UJI AKTIVITAS VITAMIN D3 TERHADAP FUNGSI KOGNITIF**  
***Drosophila* TRANSGENIK YANG MENGEKSPRESIKAN AMILOID-**  
**BETA**

**ACTIVITY TEST OF VITAMIN D3 ON COGNITIVE FUNCTION OF**  
**TRANSGENIC DROSOPHILA EXPRESSING AMYLOID-BETA**

Disusun dan diajukan oleh:

**M. ILHAM AKBAR**  
**N011201124**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin  
pada 13 Februari 2024  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

Pembimbing Utama



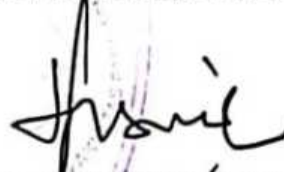
Prof. Firzan Nainu, S.Si., M.Biomed.Sc., Ph.D. Apt  
NIP. 19820610 200801 1 012

Pembimbing Pendamping



Habibie, S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D. Apt  
NIP. 19830920 200801 1 003

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 : M. Ilham Akbar

Nim : N011 20 1124

Program Studi : Farmasi

Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul "Uji Aktivitas Vitamin D3 terhadap Fungsi Kognitif *Drosophila* Transgenik yang Mengekspresikan Amiloid-Beta" 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, 13 Februrari 2024  
Yang menyatakan



M. Ilham Akbar  
N011201124



Optimization Software:  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)



## UCAPAN TERIMAKASIH

*Bismillahirrahmanirrahim*, segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah *Subhanahu wa ta'ala* atas berkat, rahmat, dan kehidupan hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Tidak ada persembahan terbaik yang dapat penulis berikan selain ucapan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dan mendukung penulis dalam penyelesaian skripsi ini. Maka pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan banyak terima kasih, yaitu kepada:

1. Bapak Prof. Firzan Nainu, S.Si., M.Biomed,Sc., Ph.D., Apt. selaku pembimbing utama dan Bapak Habibie, S.Si., M.Pharm,Sc., Ph.D., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah bersedia Ikhlas dan sabar menjadikan saya mahasiswa bimbingan, telah bersedia meluangkan waktu, ilmu, tenaga dan pikiran, serta bersedia memberikan saya arahan dalam melakukan penelitian hingga pada penyusunan skripsi ini.
2. Ibu Prof. Yulia Yusrini Djabir, S.Si., MBM.Sc., M.Si., Ph.D., Apt dan Ibu Dr. Risfah Yulianty, S.Si., M.Si., Apt. selaku penguji yang telah bersedia meluangkan waktu, ilmu, tenaga dan pikiran serta masukan yang membangun dalam penyusunan skripsi ini.
3. Ibu Dr. Risfah Yulianty, S.Si., M.Si., Apt. selaku dosen pembimbing akademik yang telah meluangkan waktu membimbing, memberi



arahan selama menempuh studi dari awal hingga selesai menjadi mahasiswa

4. Ibu Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt. selaku Kepala Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, yang telah ikut membersamai, dan memberikan dukungan bagi kami seluruh mahasiswa S1 selama menempuh studi hingga selesai.
5. Dekan dan Wakil Dekan, staf dosen serta seluruh civitas akademika dan pegawai hingga penjaga Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah berperan dan memberikan kontribusi dan pengembangan serta pelayanan mutu dan kualitas serta fasilitas yang sangat baik selama penelitian dan penyusunan tugas akhir ini.
6. Orang tua penulis tercinta, Bapak Heriyanto dan Ibu Sitti Nurhasanah, atas doa dan dukungannya yang menjadi pendorong serta *support system* bagi penulis selama menempuh studi hingga penelitian dan penyusunan tugas akhir.
7. Segenap keluarga, saudara, kerabat penulis tercinta yang turut serta selalu memberikan dukungan dan doa yang telah diberikan yang membantu penulis menempuh studi selama perkuliahan.
8. Laboran Lab. Biofarmasi dan Farmakologi Toksikologi serta Laboran Lab. Biofarmaka yang selalu memberikan izin dan pengawasan selama penulis melakukan penelitian.





9. Kakak Mahasiswa S2 UFRG yang tidak bisa disebutkan satu per satu, telah meluangkan waktu memberikan saran, masukan dan bantuan selama proses penelitian hingga penyusunan tugas akhir.
10. Teman teman sesama bimbingan, Gimas, Jihan, Nadiyah, Aizia, Hiday, Adit, Daus dan Ismi yang telah saling membantu dan memberikan dorongan selama penelitian.
11. Segenap anggota Korps Asisten Biofar yang “Bukan Sekedar Biofar” yang tidak bisa disebutkan semua telah menjadi teman seperjuangan serta tempat pulang (rumah) kedua selama perkuliahan.

Makassar, Februari 2024

M. Ilham Akbar



## ABSTRAK

**M. ILHAM AKBAR.** Uji Aktivitas Vitamin D3 terhadap Fungsi Kognitif *Drosophila* Transgenik yang Mengekspresikan Amiloid-Beta (dibimbing oleh Firzan Nainu dan Habibie)

Amiloid-beta (AB) dikenal sebagai salah satu protein yang dapat menyebabkan penyakit Alzheimer. Adanya penumpukan plak AB pada otak dapat meningkatkan *Reactive Oxygen Species* (ROS), yang berujung pada penurunan fungsi kognitif. Enzim yang dapat merespon terjadinya stres oksidatif akibat adanya ROS dalam tubuh yaitu *Superoxide Dismutase 1* yang ekspresinya diatur oleh gen *sod1*. Penelitian ini bertujuan mengetahui bagaimana efek pemberian Vitamin D3 terhadap fungsi kognitif dan ekspresi gen *sod1* dengan menggunakan model *Drosophila* transgenik yang mengekspresikan Amiloid-beta. Uji yang dilakukan meliputi, uji survival, uji lokomotor, uji fungsi kognitif, dan analisis ekspresi protein Amiloid-Beta dan gen *sod1*. Hasil pengujian menunjukkan terdapat peningkatan tingkat survival, lokomotor dan fungsi kognitif yang ditunjukkan oleh kelompok GAL4-UAS yang diberi perlakuan Vitamin D3 25, 50 dan 100 mM dibandingkan dengan kontrol lalat GAL4-UAS tanpa perlakuan dengan nilai yang signifikan ( $p < 0.05$ ), dan hasil analisis ekspresi Amiloid-Beta menurun secara signifikan pada konsentrasi 25 dan 50 mM ( $p < 0.05$ ) dan pada konsentrasi 100 mM ( $p < 0.01$ ) namun tidak didapat hasil yang signifikan pada analisis ekspresi gen *sod1*. Dari pengujian dapat disimpulkan terdapat efek pemberian Vitamin D3 terhadap fungsi kognitif dan tidak ada efek pemberian Vitamin D3 terhadap ekspresi gen *sod1*.

**Keywords:** Penyakit Alzheimer, Amiloid-Beta, Vitamin D3, Fungsi Kognitif, *Superoxide dismutase*



## ABSTRACT

**M. ILHAM AKBAR.** Activity Test of Vitamin D3 on Cognitive Function of Transgenic *Drosophila* Expressing Amyloid-Beta (supervised by Firzan Nainu and Habibie)

Amyloid-beta (AB) is known as one of the proteins that can cause Alzheimer's disease. The accumulation of AB plaques in the brain can increase Reactive Oxygen Species (ROS), leading to a decline in cognitive function. An enzyme that responds to oxidative stress caused by ROS in the body is Superoxide Dismutase 1, whose expression is regulated by the *sod1* gene. This study aims to determine the effects of Vitamin D3 administration on cognitive function and *sod1* gene expression using a transgenic *Drosophila* model expressing Amyloid-beta. Tests conducted include survival tests, locomotor tests, cognitive function tests, and analysis of Amyloid-Beta protein expression and *sod1* gene expression. The test results show an increase in survival rate, locomotor activity, and cognitive function in the GAL4-UAS group treated with Vitamin D3 at concentrations of 25, 50, and 100 mM compared to the untreated control GAL4-UAS flies, with significant values ( $p < 0.05$ ). The analysis of Amyloid-Beta expression decreased significantly at concentrations of 25 and 50 mM ( $p < 0.05$ ) and at a concentration of 100 mM ( $p < 0.01$ ), but no significant results were obtained in the *sod1* gene expression analysis. From the testing, it can be concluded that there is an effect of Vitamin D3 administration on cognitive function, and there is no effect of Vitamin D3 administration on *sod1* gene expression.

**Keywords:** Alzheimer's Disease, Amyloid-Beta, Vitamin D3, Cognitive Function, Superoxide dismutase



# DAFTAR ISI

	halaman
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xvi
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan masalah	3
I.3 Tujuan penelitian	3
BAB II	4
TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Penyakit Alzheimer	4
II.2 Vitamin D3	5
II.3 <i>Superoxide Dismutase 1</i>	6
II.4 <i>Drosophila melanogaster</i>	7
II.5 <i>Drosophila</i> Transgenik	9
II.6 <i>Polimeration Chain Reaction (PCR)</i>	10
BAB III	12
METODE PENELITIAN	12
dan Bahan	12
ode kerja	12
eparasi Sampel	12



III.2.2 Penyiapan Hewan Uji ( <i>Drosophila melanogaster</i> )	13
III.2.3 Penyiapan Pakan <i>Drosophila melanogaster</i>	14
III.2.4 Uji Survival	14
III.2.5 Uji Lokomotor	15
III.2.6 Uji Fungsi Kognitif dengan Metode T-Maze	15
III.2.7 Penyiapan Sampel RNA	16
III.2.8 Analisis Ekspresi Gen	17
III.2.9 Analisis Data	19
BAB IV	20
IV.1 Uji Survival	20
IV.2 Uji Lokomotor	22
IV.3 Uji Fungsi Kognitif dengan Metode <i>T-Maze</i>	24
IV.4 Analisis Ekspresi Amiloid-beta dan Gen <i>sod1</i>	25
BAB V	29
KESIMPULAN DAN SARAN	29
V.1 Kesimpulan	29
V.2 Saran	29
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN	36
Lampiran 1.	36
Lampiran 2.	37
Lampiran 3.	38



## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Sekuens primer masing masing gen	18



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur senyawa Vitamin D3	6
2. <i>Drosophila melanogaster</i>	7
3. Siklus hidup <i>Drosophila melanogaster</i>	9
4. GAL4/UAS System pada <i>Drosophila melanogaster</i>	10
5. Kurva survival Kaplan-Meier	21
6. Lokomotor Assay hari ke-1 dan ke-35	23
7. Kognitive Assay hari ke-1 dan ke-35	24
8. Ekspresi AB42	26
9. Ekspresi gen <i>sod1</i>	26
10. Hasil pengukuran PCR	37
11. Hasil pengujian lokomotor dan fungsi kognitif	37
12. Proses isolasi dan running PCR	38
13. Proses pemisahan kepala lalat	38





## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema kerja penelitian	36
2. Gambar hasil uji penelitian	37
3. Dokumentasi	38



## DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

Singkatan/Lambang	Arti dan Penjelasan
A $\beta$	Amiloid-Beta
AChE	Achetylcholinesterase Enzyme
ROS	Reaktive Oxygen Species
UAS	Upstream Activation Sequence
<i>sod1</i>	Superoxide Dismutase 1
<i>rp49</i>	Ribosomal Protein 49
DNA	Deoxiribose Nucleic Acid
RNA	Ribose Nucleic Acid
$\mu$ L	Microliter
RT-qPCR	Reverse Transcription Quantification Polimeration Chain Reaction
rpm	Rotation(s) per minute



# BAB I

## PENDAHULUAN

### I.1. Latar Belakang

Penyakit Alzheimer di seluruh dunia memberikan dampak pada fungsi normal tubuh manusia seperti penurunan fungsi kognitif dan dimensia yang dialami oleh sekitar 50 juta orang di seluruh dunia hingga tahun 2020 dan akan meningkat hingga 3 kali lipat pada tahun 2050 (Zhang *et al.*, 2021; Stevens *et al.*, 2022). Menurut penelitian oleh Brothers *et al* (2018) dan Zhang *et al* (2023) sekresi protein Amiloid-beta secara berlebihan dapat menyebabkan penumpukan yang membentuk plak Amiloid-beta, yang kemudian diketahui merupakan patogenesis dari penyakit Alzheimer. Akibat dari rusaknya rantai transpor elektron normal dalam tubuh, meningkatkan produksi dari *Reactive Oxygen Species* (ROS), selain itu adanya reaksi reduksi ion logam aktif, seperti Cu dan Fe dalam tubuh yang berikatan dengan A $\beta$  menyebabkan terbentuknya ROS dan dapat merusak keseimbangan oksidatif tubuh yang kemudian menyebabkan terjadi penurunan fungsi kognitif (Zhang *et al.*, 2023).

Terdapat suatu enzim yang dapat merespon terjadinya stres oksidatif dalam tubuh yaitu *Superoxide Dismutase 1* (sod1) merupakan enzim yang

mempengaruhi sel pada toksisitas dari ROS dan bekerja ketika terjadi peningkatan ROS (Bunton-Stasyshyn *et al.*, 2014). Pada tahun 2021 dan 2023 ditemukan terapi untuk menurunkan gejala pada Penyakit



Alzheimer menggunakan obat imunoterapi ataupun obat-obatan golongan *Acetylcholinesterase (AChE) Inhibitor* (Niki *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2023). Obat golongan *Acetylcholinesterase (AChE) Inhibitor* mampu mencegah terjadinya penurunan fungsi kognitif yang peningkatan jumlah *acetylcholine* melalui penghambatan enzim AChE mampu meningkatkan fungsi kognitif (Showell *et al.*, 2020; Sabandal *et al.*, 2022; Sehar *et al.*, 2022). Namun penggunaan obat-obatan golongan ini tidak dapat memberikan perbaikan pada sel otak yang mati akibat terjadinya peningkatan ROS (Al-hamed *et al.*, 2020). Sehingga perlu ditemukannya alternatif pengobatan dalam menangani hal tersebut. Untuk mengurangi terjadinya stres oksidatif akibat peningkatan ROS, digunakan antioksidan yang dapat berperan menjadi neuroprotektif salah satu contoh antioksidan yang dapat digunakan adalah Vitamin D3.

Penelitian menunjukkan bahwa kekurangan vitamin D3 dapat meningkatkan kerusakan pada DNA, hal ini dipicu oleh adanya *pro-oxidant activity* yang menyebabkan terjadinya stres oksidatif pada tubuh (Sepidakish *et al.*, 2019; Zhao *et al.*, 2020). Pada suatu penelitian Vitamin D3 terbukti efektif mengurangi terjadinya stres oksidatif pada mencit dengan memperbaiki fungsi dari mitokondria yang dapat menurunkan formasi ROS dan mengontrol ekspresi antioksidan dalam tubuh (Zhang *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2023). Namun penggunaan hewan coba ini memiliki beberapa

kelebihan dan kekurangan seperti pemeliharaan dan analisis data yang memakan waktu yang lama (Salleo *et al.*, 2022).



Penggunaan *Drosophila melanogaster* dalam penelitian sebagai model penyakit Alzheimer telah digunakan dengan pertimbangan kemiripan genetik dengan manusia sebesar 75% dan jalur metabolisme yang mirip dengan manusia (Nainu, 2018; Cheng *et al.*, 2020). Salah satu model lalat yang digunakan dalam penelitian Penyakit Alzheimer adalah model lalat buah dengan sistem GAL4/UAS (Tello *et al.*, 2022). Sistem GAL4/UAS adalah metode yang paling sering digunakan pada *Drosophila melanogaster* untuk tujuan pengukuran ekspresi gen yang diinginkan pada jaringan tertentu, seperti ekspresi Amiloid-beta (Barwell *et al.*, 2017).

Melalui uraian di atas, maka perlu dilakukannya pengujian efek dari pemberian Vitamin D3 terhadap penurunan stres oksidatif dan peningkatan fungsi kognitif pada penumpukan Amiloid-beta menggunakan lalat buah (*Drosophila melanogaster*) dengan GAL4/UAS System melalui ekspresi A $\beta$  dan gen *sod1*.

## **I.2. Rumusan Masalah**

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah bagaimana efek pemberian Vitamin D3 terhadap fungsi kognitif *Drosophila* transgenik yang mengekspresikan Amiloid-beta.

## **I.3. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui bagaimana efek pemberian Vitamin D3 terhadap fungsi kognitif *Drosophila* transgenik yang

spresikan Amiloid-beta.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1 Penyakit Alzheimer

Penyakit Alzheimer (*Alzheimer Disease*) pertama kali ditemukan pada tahun 1906 yang menjadi salah satu penyebab kematian terbanyak di seluruh dunia. Penyakit Alzheimer merupakan penyakit yang diderita oleh 50 juta hingga tahun 2020, yang diperkirakan akan meningkat hingga tiga kali lipat pada tahun 2050 (Zhang *et al.*, 2021; Stevens *et al.*, 2022). Penyakit Alzheimer merupakan penyakit neurodegeneratif yang pada biasanya muncul bertahap dan perlahan, penyakit ini merupakan penyebab utama terjadinya 60-70% kasus demensia (Simon *et al.*, 2018). Gejala yang paling umum ditunjukkan oleh penderita Alzheimer adalah penurunan fungsi dalam mengingat, fungsi tubuh menurun, hingga pada kematian (Todd *et al.*, 2013). Penyakit ini biasanya bermula pada usia 65 tahun, walaupun sebanyak 10% kasus muncul lebih awal pada usia 30 hingga 60 tahun (Mendez, 2012).

Hingga saat ini penyebab terjadinya penyakit Alzheimer belum diketahui secara luas, penyakit ini bisa disebabkan oleh banyak faktor seperti faktor genetik, trauma kepala, depresi dan peningkatan tekanan darah (Burns *et al.*, 2009).

Penyakit Alzheimer ditandai dengan rusaknya neuron dan sinaps terutama di Korteks Serebral dan beberapa wilayah subkortikal tertentu yang dapat menyebabkan degenerasi pada lobus otak terutama lobus



temporal dan lobus parietal hingga pada inti batang otak (Desikan *et al.*, 2009; Braak and Tredici, 2012). Diketahui kondisi fisiologis utama yang terjadi pada penderita Alzheimer adalah terbentuknya Plak Beta-Amiloid dan Agregasi Neurofibril di otak (Tiraboschi *et al.*, 2004). Menurut penelitian oleh Brothers, et al (2018) dan Zhang, et al (2023) sekresi protein Amiloid-beta secara berlebihan dapat menyebabkan penumpukan yang membentuk plak Amiloid-beta, yang kemudian diketahui merupakan patogenesis dari Penyakit Alzheimer. Akibat dari rusaknya rantai transpor elektron normal dalam tubuh, meningkatkan produksi dari *Reactive Oxygen Species* (ROS), selain itu adanya reaksi reduksi ion logam aktif, seperti Cu dan Fe dalam tubuh yang berikatan dengan A $\beta$  menyebabkan terbentuknya ROS dan dapat merusak keseimbangan oksidatif tubuh yang kemudian menyebabkan terjadi penurunan fungsi kognitif (Zhang, *et al.*, 2023).

## II.2 Vitamin D3

Antioksidan merupakan senyawa yang dalam konsentrasi rendah dapat memberikan efek penghambatan dalam proses oksidasi dengan cara melakukan donor elektron atau reduktan. Senyawa ini dapat menghambat terjadinya reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang bersifat sangat reaktif (Winarsi, 2007). Senyawa ini dapat menghambat terjadinya auto oksidasi yang dapat mengurangi pembentukan radikal bebas dalam tubuh. Antioksidan dibutuhkan untuk menetralkan dan

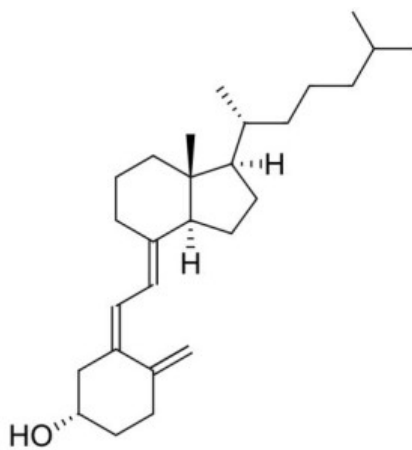
menurunkan radikal bebas yang mana dapat menyebabkan kerusakan





sel dan biomolekul seperti DNA, Protein hingga dapat menyebabkan terjadinya penyakit degeneratif (Klemchuk, 2012).

Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa vitamin D3 memiliki aktivitas antioksidan. Vitamin D3 telah dibuktikan sebagai antioksidan yang menghambat lipid yang diinduksi besi peroksidasi liposom otak. Vitamin D3 sistemik menekan lipid yang tinggi. Aktivitas peroksidasi diamati pada tikus kekurangan vitamin D3. Sebuah analog vitamin D3 telah ditemukan dapat menghambat endotoksin melalui regulasi pembentukan radikal bebas. Selain itu, vitamin D3 telah dilaporkan mengurangi stres oksidatif dengan menaikkan pertahanan antioksidan sistem, termasuk kandungan glutathion, glutathion peroksidase, dan *superoksida dismutase* pada astrosit dan di hati (Lin *et al.*, 2005; Zahra *et al.*, 2017)



Gambar 1. Struktur senyawa Vitamin D3 (Lee *et al.*, 2008)

### II.3 *Superoxide Dismutase*

*Superoxide Dismutase* atau dikenal dengan *sod1* adalah enzim yang fungsinya diatur oleh gen *sod1* (Milani *et al.*, 2011). OD1 mengikat ion tembaga dan seng dan merupakan salah satu dari tiga superoksida



dismutased yang bertanggung jawab untuk menghancurkan radikal bebas dalam tubuh. Isozime yang dihasilkan adalah protein sitosolik dan ruang antarmembran mitokondria yang larut, bertindak sebagai homodimer untuk mengubah radikal superoksida (Sea *et al.*, 2015). Dengan adanya senyawa ini yang merupakan enzim antioksidan yang melindungi sel dari toksisitas ROS dan mencegah terjadinya kematian sel (Bunton-Stasyshyn *et al.*, 2015).

#### **II.4 *Drosophila melanogaster***

Lalat buah (*Drosophila melanogaster*) dalam sistematika taksonomi, dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Hadi *et al.*, 2009):

Kingdom	: Animalia
Filum	: <i>Arthropoda</i>
Subfilum	: <i>Hexapoda</i>
Kelas	: <i>Insecta</i>
Ordo	: <i>Diphthera</i>
Famili	: <i>Drosophilidae</i>
Genus	: <i>Drosophila</i>
Spesies	: <i>Drosophila melanogaster</i>



Gambar 2. *Drosophila melanogaster* (Reaume dan Solowski, 2006)

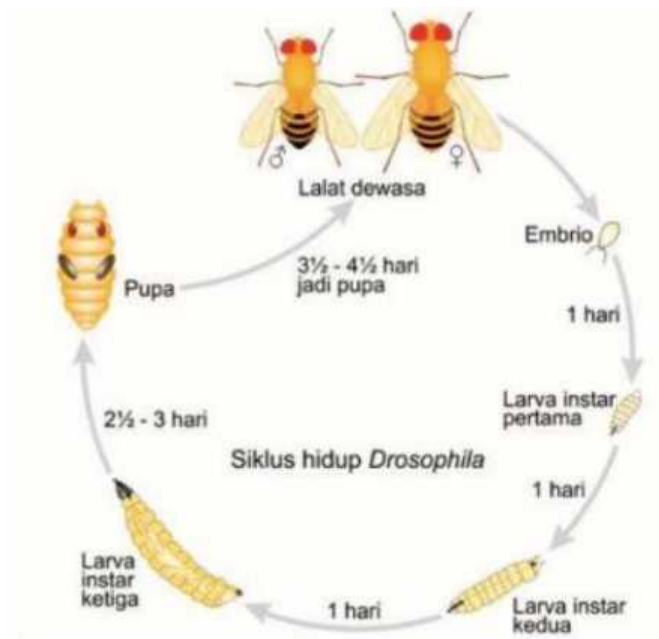


*Drosophila* normal memiliki mata merah, berbentuk bulat agak elips. Warna tubuh kuning kecoklatan dan memiliki warna hitam di tubuh bagian belakang. Tubuh berukuran 2-5 mm. Sayap panjang dan transparan. Torak berbulu warna putih, sedangkan abdomennya bersegmen dan memiliki garis berwarna hitam. *Drosophila* betina lebih besar ukurannya dari *Drosophila* Jantan (Kardinan, 2010).

Siklus hidup *Drosophila melanogaster* dapat diamati langsung pada makanannya. Lalat buah melakukan aktivitas mulai dari pembuahan, telur, larva hingga menjadi lalat dewasa pada sumber makanannya (Reaume dan Solowski, 2006).

Lalat buah dapat hidup hingga 2-3 bulan, yang dimulai dari proses metamorfosis sempurna dari telur, larva, pupa dan akhirnya menjadi lalat dewasa. Telur yang berumur 2-3 hari setelah dikeluarkan oleh lalat buah betina melalui *ovipositor* yang merupakan alat bertelurnya. Telur akan menetas menjadi larva dan berkembang menjadi larva instar pertama dalam waktu 1 hari lalu kemudian menjadi larva instar kedua dan ketiga dalam waktu 1-2 hari. Kemudian larva instar ketiga akan berkembang menjadi pupa dan akan menetas menjadi lalat dewasa dalam 4-5 hari. Lalat dewasa akan keluar dari cangkang pupa untuk melanjutkan siklus hidup (Nainu, 2018; Kardinan, 2010).





Gambar 3. Siklus hidup *Drosophila melanogaster* (Nainu, 2018)

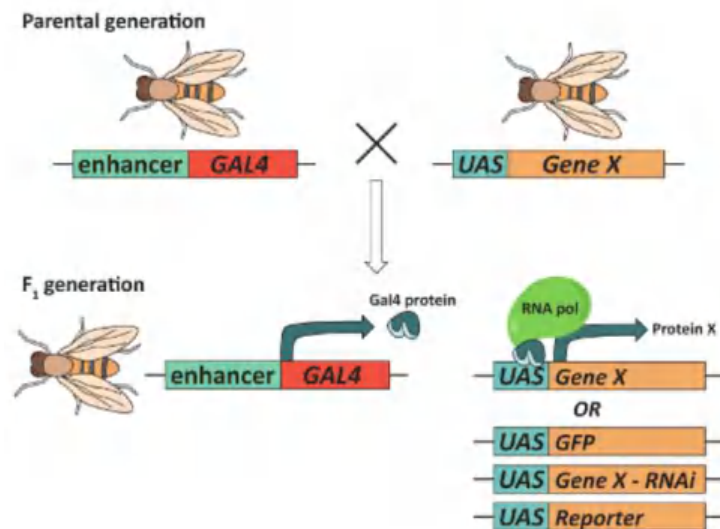
## II.5 *Drosophila* Transgenik

*Drosophila* Transgenik adalah *Drosophila melanogaster* yang mengalami proses transgenesis, yaitu transfer gen dari organisme lain ke dalam spesies lalat buah (Kamimura *et al.*, 2011). Kemampuan melakukan transgenesis untuk menargetkan gen tertentu yang akan digunakan untuk dapat mengidentifikasi dan mempelajari bagaimana pengaruhnya terhadap aktivitas dari lalat buah (Barwell *et al.*, 2017).

Salah satu sistem yang digunakan dalam proses transgenesis adalah GAL4-UAS Sistem. Dimana EG menggunakan promotor yang berisi pengaktif Upstream Activating Sequens (UAS) dan faktor transkripsi GAL4 yang dapat dikendalikan oleh enhancer-trap atau promotor *Drosophila*

*et al.*, 2017).





Gambar 4. GAL4/UAS System pada *Drosophila melanogaster* (Kelly *et al.*, 2017).

## II.6 Polimeration Chain Reaction (PCR)

*Polymerase Chain Reaction* (PCR) merupakan teknik biologi molekuler yang digunakan untuk menghasilkan Salinan dari suatu DNA spesifik dari dua urutan oligodeoksiribonukleotida, yang digunakan dalam kuantifikasi mRNA dalam proses analisis ekspresi gen (Higuchi *at al.*, 1993). Salah satu metode PCR yang digunakan adalah *Reverse Transcription Quantitative Polymerase Chain Reaction* (RT-qPCR). Metode ini merupakan metode yang paling sensitif dalam proses kuantifikasi mRNA, dengan memungkinkan deteksi transkrip langka dan observasi dalam jumlah yang kecil dalam ekspresi gen. Penggunaan metode ini biasanya digunakan untuk membandingkan perubahan dalam ekspresi mRNA antara sampel yang berbeda (Ho-Pun-Cheung *et al.*, 2009).



PCR memiliki prinsip salinan dari rantai asam nukleat tertentu sesuai targetkan. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) adalah suatu untai yang digunakan untuk menghasilkan hingga jutaan salinan DNA

tertentu (Joshi dan Deshpande, 2010). Dalam penggunaan RT-qPCR sendiri, dapat memberikan informasi lebih dari sekedar deteksi DNA, penggunaan ini dapat langsung melakukan kuantifikasi dan deteksi secara *real-time* (Garibyan dan Avashia, 2013).

