

**UJI EFEK ASPIRIN TERHADAP EKSPRESI GEN  
*dilp2* DAN *dilp5* PADA *Drosophila melanogaster***

**EFFECT OF ASPIRIN ON THE EXPRESSION OF  
*dilp2* AND *dilp5* GENES IN *Drosophila melanogaster***

**NUR RAHMAH**

**N011 17 1033**



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

**UJI EFEK ASPIRIN TERHADAP EKSPRESI GEN *dilp2* DAN *dilp5*  
PADA *Drosophila melanogaster***

**EFFECT OF ASPIRIN ON THE EXPRESSION OF *dilp2* AND *dilp5*  
GENES IN *Drosophila melanogaster***

SKRIPSI

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

**NUR RAHMAH**

**N011 17 1033**

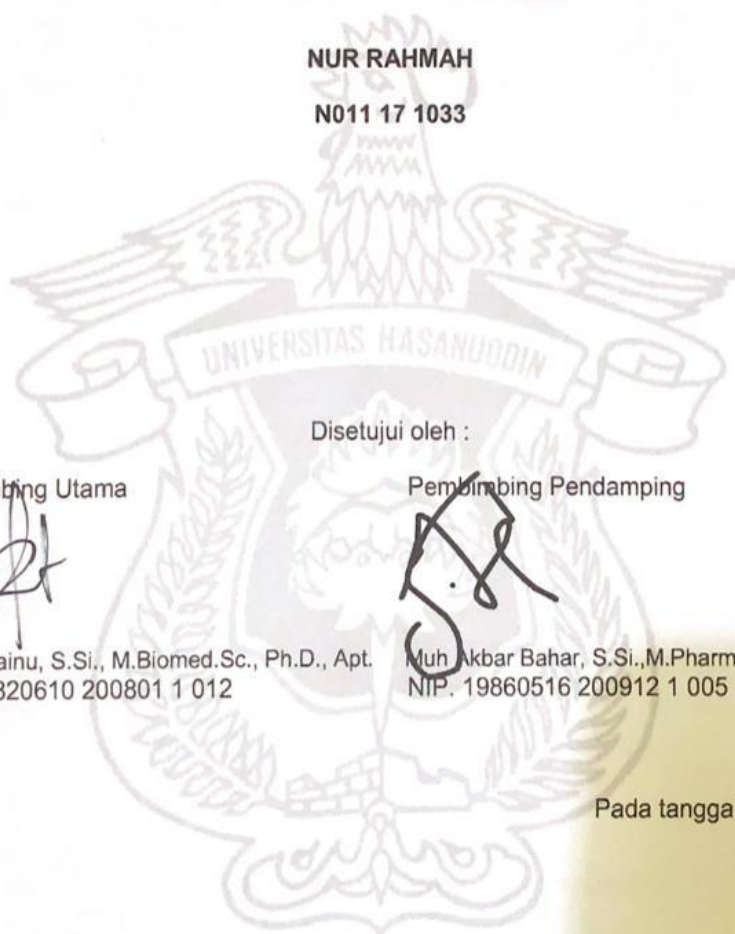
**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2021**

UJI EFEK ASPIRIN TERHADAP EKSPRESI GEN *dilp2* DAN *dilp5* PADA  
*Drosophila melanogaster*

**NUR RAHMAH**

**N011 17 1033**



Disetujui oleh :

Pembimbing Utama

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

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

Pembimbing Pendamping

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

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

Pada tanggal 11 5 2021

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

UJI EFEK ASPIRIN TERHADAP EKSPRESI GEN *dilp2* DAN  
*dilp5* PADA *Drosophila melanogaster*

Disusun dan diajukan oleh :

**NUR RAHMAH**  
N011 17 1033

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin  
pada tanggal 11 5 2021  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan  
Menyetujui,

Pembimbing Utama


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

Pembimbing Pendamping

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



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

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini benar-benar adalah hasil karya saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh batal demi hukum.

Makassar, 11 5 2021

Yang Menyatakan



Nur Rahmah  
N011171033

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah subhanahu wa ta'ala dengan diberikan berkat, rahmat dan hidayah-Nya maka skripsi ini dapat diselesaikan. Berkat bantuan dan dorongan dari beberapa pihak sehingga penulis dapat melewati berbagai macam hambatan dan kesulitan untuk menyelesaikan skripsi ini. Untuk itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Firzan Nainu, S.Si., M.Biomed .Sc., Ph.D., Apt. selaku pembimbing utama yang telah meluangkan waktu, tenaga, memberikan arahan serta ilmu dalam membimbing penulis dalam pembuatan skripsi ini dan Bapak Muh Akbar Bahar, S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt. selaku pembimbing pendamping atas segala bimbingan serta arahan yang telah diberikan kepada penulis dalam proses penyelesaian skripsi ini.
2. Ucapan terima kasih yang sangat tulus untuk kedua orang tua tercinta, Ayahanda Herman dan ibunda Radiah serta saudara penulis Hardi Herman, atas segala doa, dukungan, kasih sayang, serta semangat yang selalu diberikan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
3. Ibu Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt. dan Bapak Aminullah, S.Si., M.Pharm.Sc., Apt. selaku tim penguji yang telah meluangkan waktu

untuk memberikan banyak saran serta masukan yang membangun dalam penyelesaian skripsi ini.

4. Dekan dan para Wakil Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, Dosen Pembimbing Akademik, serta seluruh staf dosen dan pegawai Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas ilmu, motivasi serta bantuan yang diberikan kepada penulis menempuh studi hingga dapat menyelesaikan penelitian ini.
5. Seluruh Asisten Laboratorium Biofarmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas segala bantuan yang telah diberikan dalam pelaksanaan penelitian skripsi ini.
6. Teman-teman AVENGER 17 K.A.L BIOFARTOKS, Elia, Jumalia, Fafa, Gigi, Nuca, Rifdah, Nurul, Nuris, Dhandi, Tama, dan Luthfi yang memberikan bantuan dan semangat kepada penulis dalam menyusun skripsi.
7. Teman-teman pengurus BEM KEMAFAR-UH kabinet karya periode 2020 yang telah memberikan semangat dan bantuan kepada penulis.
8. Teman-teman dan kakak-kakak UFRG, Kak Rahma, Kak Oca, Kak Nadil, Kak Isri, Kak Eca, Elia, Dhandi, Iqbal, Khasa, Nuni, dan Fauzan yang selalu memberikan ilmu serta bantuan kepada penulis dalam menyusun skripsi.
9. Teman-teman seperjuangan angkatan 2017 (CLOSTR17IUM) yang telah memberikan banyak dukungan, motivasi, kebersamaan,

pengalaman yang sangat berharga dalam menempuh studi hingga dapat menyelesaikan penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan tanggapan serta saran yang membangun dari berbagai pihak. Semoga karya ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan. Aamiin.

Makassar, \_\_\_\_2021

Nur Rahmah



## ABSTRAK

**NUR RAHMAH.** Uji Efek Aspirin Terhadap Ekspresi Gen *dilp2* dan *dilp5* pada *Drosophila melanogaster* (Dibimbing oleh Firzan Nainu dan Muh Akbar Bahar).

Salah satu obat yang sering digunakan dalam mengobati nyeri adalah aspirin. Aspirin diketahui memiliki efek tambahan sebagai *anti-aging*. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek aspirin dalam memperpanjang masa hidup *Drosophila melanogaster*. Dalam studi ini digunakan aspirin konsentrasi 5  $\mu\text{M}$ , 50  $\mu\text{M}$ , dan 500  $\mu\text{M}$  selanjutnya dilakukan uji *survival* serta uji genotip yaitu pengukuran level ekspresi gen *dilp2* dan *dilp5*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada kemampuan bertahan hidup antara kelompok uji yang diberikan aspirin dibandingkan dengan kontrol pada uji *survival*. Pada uji genotip, level ekspresi gen *dilp2* pada kelompok uji tidak berbeda secara bermakna dibandingkan dengan kontrol pelarut. Sementara pada level ekspresi gen *dilp5*, tidak ditemukan perbedaan yang bermakna antara kontrol pelarut dengan aspirin konsentrasi 5  $\mu\text{M}$  dan 50  $\mu\text{M}$ . Perbedaan bermakna level ekspresi gen *dilp2* antara kontrol pelarut dengan aspirin teramati pada aspirin dengan konsentrasi 500  $\mu\text{M}$ . Sebagai kesimpulan, aspirin 500  $\mu\text{M}$  berpotensi memiliki efek *anti-aging* pada *Drosophila melanogaster* dengan meningkatkan level ekspresi gen *dilp5* tanpa mempengaruhi level ekspresi gen *dilp2*.

Kata kunci : Aspirin, *Anti-aging*, *Drosophila melanogaster*, *dilp2*, *dilp5*

## ABSTRACT

**NUR RAHMAH.** Effect of Aspirin on the Expression of *dilp2* and *dilp5* Genes in *Drosophila melanogaster* (Supervised by Firzan Nainu and Muh Akbar Bahar).

Aspirin is one of drug choices used to treating pain. It was reported to have an additional anti-aging effect. This study was conducted to determine the effect of aspirin in extending the life span of *Drosophila melanogaster*. We used a series of aspirin concentrations: 5  $\mu$ M, 50 $\mu$ M, and 500  $\mu$ M in two tests i.e. a survival test and genotypic tests measuring the expression level of the *dilp2* and *dilp5* genes. The survival test indicated that aspirin group had a significantly longer life span compared to the control group. Meanwhile, the genotypic tests showed that there were no significant differences in the expression level of *dilp5* between aspirin and control groups. The comparable results were found in the expression level of *dilp5* gene at aspirin concentrations of 5  $\mu$ M and 50  $\mu$ M. Yet, a significant difference in the *dilp5* gene expression level was found between aspirin 500  $\mu$ M and control groups. In conclusion, aspirin 500  $\mu$ M has an anti-aging capacity on *Drosophila melanogaster* by increasing the *dilp5* gene expression level but without affecting the *dilp2* gene expression level.

Keywords: Aspirin, Anti-aging, *Drosophila melanogaster*, *dilp2*, *dilp5*

## DAFTAR ISI

|   | halaman |
|---|---------|
| UCAPAN TERIMA KASIH                         | vi      |
| ABSTRAK                                     | ix      |
| ABSTRACT                                    | x       |
| DAFTAR ISI                                  | xi      |
| DAFTAR TABEL                                | xiii    |
| DAFTAR GAMBAR                               | xiv     |
| DAFTAR LAMPIRAN                             | xv      |
| BAB I PENDAHULUAN                           | 1       |
| I.1 Latar Belakang                          | 1       |
| I.2 Rumusan Masalah                         | 3       |
| I.3 Tujuan penelitian                       | 4       |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA                     | 5       |
| II.1 Aspirin                                | 5       |
| II.2 Penuaan                                | 8       |
| II.3 <i>Drosophila melanogaster</i>         | 11      |
| II.4 <i>Drosophila Insulin Like Peptide</i> | 15      |
| BAB III METODE KERJA                        | 20      |

|   |    |
|---|----|
| III.1 Alat dan Bahan                                    | 20 |
| III.2 Penyiapan Hewan Uji                               | 20 |
| III.3 Penyiapan Sampel                                  | 21 |
| III.4 Penyiapan Pakan                                   | 21 |
| III.5 Uji <i>Survival</i>                               | 21 |
| III.6 Penyiapan Sampel RNA                              | 22 |
| III.7 Pengujian dengan PCR                              | 23 |
| III.8 Pengolahan Data                                   | 24 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN                             | 25 |
| IV.1 Hasil Uji <i>Survival</i>                          | 25 |
| IV.2 Hasil Pengujian Ekspresi Gen                       | 27 |
| IV.2.1 Hasil Pengukuran Level Ekspresi Gen <i>dilp2</i> | 27 |
| IV.2.2 Hasil Pengukuran Level Ekspresi Gen <i>dilp5</i> | 28 |
| BAB V KESIMPULAN DAN SARAN                              | 30 |
| V.1 Kesimpulan  | 30 |
| V.2 Saran   | 30 |
| DAFTAR PUSTAKA  | 31 |
| LAMPIRAN  | 34 |

## DAFTAR TABEL

| Tabel   | halaman |
|---|---------|
| 1. Sekuens primer <i>dilp2</i> , <i>dilp5</i> , dan <i>rp49</i>           | 24      |
| 2. Data Hasil Uji <i>Survival</i>   | 38      |
| 3. Tabel Log-rank Uji <i>Survival</i> Kontrol Sehat:Kontrol Pelarut       | 40      |
| 4. Tabel Log-rank Uji <i>Survival</i> Kontrol Pelarut:Aspirin 5 $\mu$ M   | 40      |
| 5. Tabel Log-rank Uji <i>Survival</i> Kontrol Pelarut:Aspirin 50 $\mu$ M  | 40      |
| 6. Tabel Log-rank Uji <i>Survival</i> Kontrol Pelarut:Aspirin 500 $\mu$ M | 40      |
| 7. Tabel Post Hoc Test Uji Ekspresi Gen <i>dilp2</i>                      | 41      |
| 8. Tabel Post Hoc Test Uji Ekspresi Gen <i>dilp5</i>                      | 41      |

## DAFTAR GAMBAR

| Gambar   | halaman |
|--|---------|
| 1. Aspirin   | 5       |
| 2. <i>Drosophila melanogaster</i>                                | 11      |
| 3. Siklus hidup <i>Drosophila melanogaster</i>                   | 13      |
| 4. Jalur Persinyalan Insulin pada <i>Drosophila melanogaster</i> | 17      |
| 5. Data Ekspresi Gen <i>dilp2</i>                                | 18      |
| 6. Data Ekspresi Gen <i>dilp5</i>                                | 18      |
| 7. Grafik Uji <i>Survival</i>                                    | 25      |
| 8. Grafik Ekspresi Gen <i>dilp2</i> pada <i>D.melanogaster</i>   | 27      |
| 9. Grafik Ekspresi Gen <i>dilp5</i> pada <i>D.melanogaster</i>   | 28      |
| 10. Pembuatan pakan <i>Drosophila melanogaster</i>               | 42      |
| 11. Proses pemisahan lalat                                       | 42      |
| 12. Uji <i>Survival</i>  | 42      |
| 13. Sampel Isolasi RNA   | 42      |
| 14. Proses Isolasi RNA   | 42      |
| 15. Proses PCR   | 42      |

## DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran                           | halaman |
|------------------------------------|---------|
| 1. Penyiapan Hewan Uji             | 34      |
| 2. Penyiapan Sampel                | 34      |
| 3. Penyiapan Pakan                 | 35      |
| 4. Uji <i>Survival</i>             | 35      |
| 5. Penyiapan Sampel RNA            | 36      |
| 6. Pengujian dengan PCR            | 36      |
| 7. Perhitungan Pengenceran Aspirin | 37      |
| 8. Data Hasil Uji <i>Survival</i>  | 38      |
| 9. Data Statistik                  | 40      |
| 10. Dokumentasi Penelitian         | 42      |

# BAB I

## PENDAHULUAN

### I.1 Latar Belakang

Aspirin (asam asetil salisilat) merupakan obat yang termasuk dalam golongan obat AINS (anti inflamasi non-steroid) yang diperkenalkan sejak tahun 1892 (Ritu *et al.*, 2012). Aspirin memiliki beberapa efek terapeutik dan efek samping yang menguntungkan (Keser dan Karataş, 2012). Aspirin paling banyak digunakan untuk beberapa kondisi medis seperti nyeri, demam, dan peradangan (Song *et al.*, 2017). Penelitian telah menunjukkan bahwa aspirin dapat mengurangi pertumbuhan tumor ganas dan mencegah pembentukan kanker sekunder melalui penghambatan kerusakan DNA yang disebabkan oleh mutasi gen. Selain itu efek tambahan lain yang dihasilkan aspirin yaitu dapat menekan penuaan (*anti-aging*) dengan mengganggu produksi oksidan dan proses respons sitokin serta dengan memblokir reaksi glikoloksidasi (Keser dan Karataş, 2012).

Proses penuaan sebagian besar ditandai dengan berkurangnya fungsi sel normal secara bertahap yang akan mengarah pada penurunan progresif dalam kemampuan biologis, fisik dan psikologis (Rath dan Prasad, 2017). Penuaan merupakan proses yang sangat kompleks, multifaktor, dan heterogen yang disebabkan oleh berbagai interaksi antara gen dan lingkungan. Faktor lain yang menyebabkan penuaan adalah



adanya penumpukan kerusakan pada DNA, mitokondria, dan bagian sel lainnya (Keser dan Karataş, 2012).

Organisme model seperti *Drosophila melanogaster* telah digunakan dalam berbagai riset penelitian dengan keunggulan memiliki sekitar 75% gen yang homolog dengan manusia (Mirzoyan *et al.*, 2019). *Drosophila melanogaster* digunakan dengan sangat baik untuk menjelaskan jalur genetik atau seluler dari penuaan yang terjadi pada manusia. *D.melanogaster* umumnya dikenal dengan nama lalat buah adalah salah satu organisme yang paling banyak dipelajari dalam bidang genetika dan pertumbuhan. Dalam penelitian terkait penuaan, *D.melanogaster* sebagai hewan uji memiliki banyak keuntungan seperti rentang hidup yang singkat berkisar 50-70 hari serta ketersediaan metode genetik yang sangat mudah untuk diaplikasikan. Selain itu, genom lalat buah telah berhasil dipetakan seluruhnya dan dinotasi secara lengkap sehingga membuat *Drosophila melanogaster* menjadi hewan model yang dapat diterima dengan baik untuk melakukan skrining genetika skala besar (Rath dan Prasad, 2017).

Insulin merupakan pengatur dalam proses metabolisme, pertumbuhan dan perkembangan (Qaid dan Abdelrahman, 2016). Pada mamalia, insulin disintesis pada sel  $\beta$ -pankreas dan dilepaskan ke dalam darah untuk mengatur pengambilan nutrisi seluler (Ziegler *et al.*, 2018). Pada hewan coba *Drosophila melanogaster* terdapat seperangkat gen yang menghasilkan protein mirip insulin yang biasa disebut *dilp* (*Drosophila insulin like peptide*) (Broughton *et al.*, 2008). Berdasarkan

penelitian yang dilakukan Nässel (2012) didapatkan bahwa *insulin like peptide* dapat mengatur perkembangan, pertumbuhan, reproduksi, metabolisme, ketahanan terhadap stress, penuaan, dan masa hidup yang baik pada vertebrata dan invertebrata. *Drosophila insulin like peptide* pada alat buah terdiri dari *dilp 1- dilp 8* (Ziegler *et al.*, 2018). Namun, pada penelitian yang dilakukan Post *et al.*, (2018), didapatkan bahwa penurunan ekspresi gen *dilp2* akan mengakibatkan peningkatan aktivitas dari GlyP (Glycogen fosforilase) yang dapat memperpanjang hidup *Drosophila melanogaster*. Sementara ketika ekspresi *dilp5* meningkat maka akan menginduksi fosforilasi atau mengaktivasi Akt (Protein kinase B) yang bertanggung jawab dalam perkembangan siklus sel sehingga dapat memperpanjang hidup *Drosophila melanogaster*.

Berangkat dari penelitian-penelitian sebelumnya terkait efek aspirin sebagai *anti-aging* dan peran *dilp2* dan *dilp5* dalam penuaan, maka penelitian ini akan dilakukan untuk memeriksa apakah aspirin memberikan efek *anti-aging* pada *Drosophila melanogaster* melalui mekanisme terkait *dilp*.

## **I.2 Rumusan Masalah**

Apakah aspirin dapat mempengaruhi ekspresi gen *dilp2* dan *dilp5* pada *Drosophila melanogaster* ?

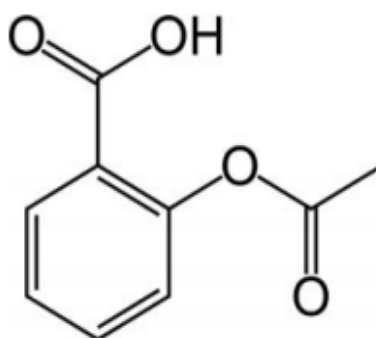
### **I.3 Tujuan Penelitian**

Untuk mengetahui efek aspirin terhadap ekspresi gen *dilp2* dan *dilp5* pada *Drosophila melanogaster*.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1. Aspirin



Gambar 1 Aspirin (Jennifer *et al.*, 2012)

Aspirin juga dikenal dengan nama asam asetilsalisilat, memiliki rumus kimia C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>. Aspirin bersifat analgesik, anti-inflamasi, antipiretik dan merupakan penghambat agregasi platelet. Mekanisme kerjanya dengan menghambat siklooksigenase asam lemak dan efek farmakologis aspirin menyebabkan penghambatan pembentukan produk siklooksigenase termasuk prostaglandin, tromboksan dan prostasiklin. Aspirin dibuat dengan sintesis kimiawi dari asam salisilat, dengan asetilasi dengan anhidrida asetat (Ritu *et al.*, 2012).

Aspirin (asam asetilsalisilat) merupakan obat yang termasuk dalam golongan obat AINS (anti inflamasi non-steroid) yang diperkenalkan sejak tahun 1892 yang merupakan salah satu obat yang paling aman, paling murah dan analgesik paling banyak dikonsumsi. Aspirin, bersama dengan

penggunaan analgesik-antipiretiknya, sekarang juga sedang dipertimbangkan untuk pencegahan penyakit kardiovaskular, kanker, dan pengobatan virus defisiensi infeksi imun pada manusia. Aspirin merupakan salah satu obat pertama yang digunakan secara umum dan masih digunakan secara luas di dunia. Sekitar 35.000 ton diproduksi dan dikonsumsi setiap tahun. Terapi jangka panjang dengan aspirin dikaitkan dengan peningkatan yang signifikan dalam kejadian perdarahan *gastrointestinal*. Aspirin dapat mengasetilasi residu lisin dalam fibrinogen yang mengakibatkan peningkatan bekuan permeabilitas fibrin dan menghambat pembekuan darah serta secara langsung meningkatkan fibrinolisis dengan aspirin dosis tinggi. Aspirin mengurangi kemungkinan terjadinya *atherothrombotic vascularents* yang serius dan kematian dalam kategori tinggi. Selain itu, ada bukti yang berkembang bahwa penggunaan aspirin dalam jangka panjang menurunkan risiko kanker kolorektal, bahkan pada dosis rendah (Ritu *et al.*, 2012).

Aspirin memiliki beberapa efek teraupetik dan efek samping yang menguntungkan (Keser dan Karataş, 2012). Penggunaan aspirin jangka panjang pada pria dan wanita juga telah dilaporkan dapat melindungi dari perkembangan kanker usus besar (penurunan risiko 40%) dan kanker sistem pencernaan lainnya, termasuk kanker esofagus dan perut. Aspirin telah menjadi salah satu obat yang paling banyak digunakan dalam sejarah. Sejak 1899, telah digunakan sebagai analgesik, antipiretik, dan agen antiinflamasi (Ritu *et al.*, 2012). Aspirin paling banyak digunakan

untuk beberapa kondisi medis seperti nyeri, demam, dan peradangan. Aspirin dosis tinggi dilaporkan dapat memperbaiki metabolisme glukosa dan menurunkan kadar asam lemak pada pasien diabetes tipe-2. Selain itu, aspirin juga bisa menghambat plak pembentukan aterosklerotik dan mengontrol pengembangan agregat proteotoksisitas. Studi epidemiologi menunjukkan efek aspirin pada penyakit neurodegeneratif, termasuk Parkinson, Alzheimer, dan Penyakit Huntington. Aspirin juga telah diteliti dapat memperpanjang umur pada tikus (Song *et al.*, 2017). Penelitian lain juga telah menunjukkan bahwa aspirin dapat mengurangi pertumbuhan tumor ganas dan mencegah pembentukan kanker sekunder melalui penghambatan kerusakan DNA yang disebabkan oleh mutasi gen. Selain itu efek tambahan lain yang dihasilkan aspirin yaitu dapat menekan penuaan (*anti-aging*) dengan mengganggu produksi oksidan dan proses respons sitokin serta dengan memblokir reaksi glikoloksidasi (Keser dan Karataş, 2012). Menurut penelitian Song *et al.*, (2017), aspirin dapat meningkatkan umur panjang *Drosophila melanogaster* dengan meningkatkan kesehatan lalat. Aspirin memiliki fungsi penting dalam metabolisme energi, metabolisme urea, dan peradangan. Aspirin juga menunjukkan banyak peran dalam antioksidan. Aspirin meningkatkan toleransi stres terhadap panas, kelaparan, paraquat dan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Meskipun telah diketahui bahwa aspirin dapat meningkatkan umur panjang namun mekanisme lain yang menyebabkan hal tersebut masih perlu dieksplorasi.

## II.2. Penuaan

Proses penuaan sebagian besar ditandai dengan berkurangnya fungsi sel normal secara bertahap yang akan mengarah pada penurunan progresif dalam kemampuan biologis, fisik dan psikologis. Fenomena penuaan ditentukan secara genetik dan dipengaruhi oleh lingkungan. Hal ini merupakan salah satu studi biologis yang paling umum namun misterius (Rath dan Prasad, 2017). Penuaan merupakan proses yang sangat kompleks, multifaktor, dan heterogen yang disebabkan oleh berbagai interaksi antara gen dan lingkungan. Faktor lain yang menyebabkan penuaan adalah adanya penumpukan kerusakan pada DNA, mitokondria, dan bagian sel lainnya (Keser dan Karataş, 2012).

Penuaan dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan faktor inheren. Hasil dari penuaan sel ditandai dengan penuaan replikatif. Secara khusus, akumulasi kerusakan di nukleus dan DNA mitokondria dapat menyebabkan penuaan seluler yang dapat mempengaruhi proses penuaan pada organisme. Hal ini diterima secara umum bahwa sel manusia hanya dapat membelah beberapa kali. Mutasi gen dapat terakumulasi selama replikasi DNA, yang mana pada akhirnya menyebabkan regulasi abnormal dari metabolisme sel dan fisiologi yang berkontribusi pada proses penuaan. Selain itu, Mekanisme lain yang terkenal terkait dengan penuaan replikatif sel adalah ketidakmampuan sel somatik normal untuk mempertahankan DNA telomer sepenuhnya karena kurangnya telomerase. Penuaan sel adalah jalur terakhir sel untuk

membelah secara aktif. Penuaan merupakan proses biologis yang tak terhindarkan terkait dengan perubahan degeneratif pada tingkat seluler dan organik yang mengakibatkan berbagai penyakit degeneratif dan bahkan kematian pada populasi lanjut usia. Kemajuan dalam pemahaman ilmiah tentang mekanisme dasar penuaan meningkatkan kemungkinan penundaan proses penuaan dan meningkatkan umur manusia. Di antara banyak yang diselidiki dengan baik, faktor yang secara efektif membalikkan perkembangan penuaan yaitu pembatasan nutrisi yang telah menunjukkan hasil yang menjanjikan karena sebagian dari pembatasan tersebut memiliki manfaat yang jelas. Kontrol energi seperti pembatasan kalori (*Caloric Restriction*), merupakan sistem yang baik dalam manipulasi nutrisi, sejauh ini pembatasan kalori merupakan hal yang paling efektif yang dapat memperpanjang umur maksimum dalam banyak hal terhadap organisme berbeda. Sejumlah penelitian telah mengungkap hal yang luar biasa, efek pembatasan kalori terhadap penuaan dan perpanjangan umur di antara berbagai spesies termasuk jamur, cacing, lalat, ikan, dan bahkan mamalia seperti tikus. Selain itu, studi pada mamalia tingkat tinggi seperti primata (bukan manusia) dan manusia mengungkapkan pengaruh pembatasan kalori dalam menunda berbagai penyakit terkait penuaan seperti kanker, diabetes, aterosklerosis, penyakit kardiovaskular, dan penyakit neurodegeneratif. Namun, selain itu efek luar biasa pembatasan kalori dalam penelitian hewan percobaan memiliki hasil yang meyakinkan antara pembatasan kalori dan penundaan penuaan atau



perpanjangan umur. Penelitian dengan menggunakan manusia sulit dilakukan terutama karena keterbatasan etik yang tidak terkendali serta kontrol diet jangka panjang, terutama studi pembatasan kalori harus dilakukan seumur hidup, hal ini bisa jauh lebih mudah dikendalikan dalam studi menggunakan hewan uji. Mekanisme potensial di mana pembatasan kalori menyebabkan penundaan penuaan dan mencegah timbulnya banyak penyakit degeneratif terkait penuaan termasuk pengurangan stres oksidatif atau regulasi jalur metabolisme selama penuaan (Tollefsbol, 1993).

Penuaan bukanlah aktivitas yang pasif, tetapi proses kompleks yang diatur secara aktif atau kumpulan proses penuaan bertahap baik pada tingkat fisiologis maupun seluler. Penuaan mengaktifkan beberapa rangkaian perubahan biologis yang tidak dapat dipulihkan, yang pasti mengakibatkan kematian organisme. Beberapa dekade penelitian tentang penuaan telah menemukan beberapa gen dan banyak proses biologis yang terkait dengannya. Dasar molekuler yang tepat dari penuaan masih kurang dipahami, sebagian besar karena kurangnya penanda molekuler yang dapat digunakan untuk mengukur proses penuaan pada jaringan tertentu. Selain itu, keterbatasan genetika pada manusia dan masalah etik semakin mempersulit untuk mengidentifikasi atau menganalisis gen kandidat dan jalur secara lebih rinci (Rath dan Prasad, 2017).

### II.3. *Drosophila melanogaster*



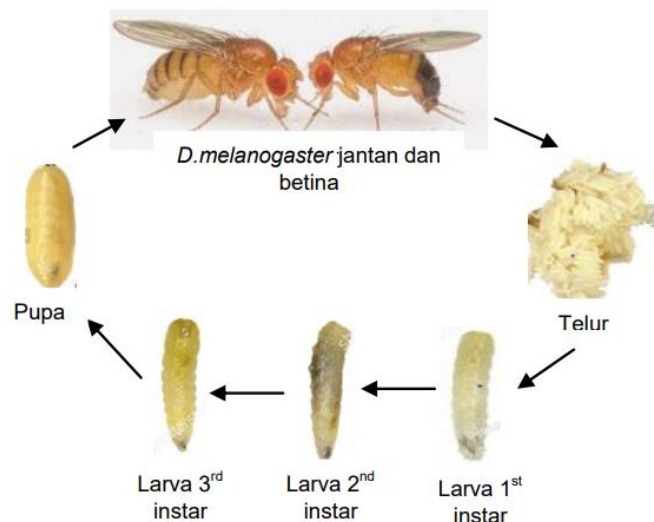
**Gambar 2 *Drosophila melanogaster* (Barbara, 2011)**

Organisme model seperti *Drosophila melanogaster* telah digunakan dalam berbagai riset penelitian dengan keunggulan memiliki sekitar 75% gen yang homolog dengan manusia (Mirzoyan *et al.*, 2019). Beberapa tahun yang lalu, lalat buah telah memberikan kontribusi penting dalam banyak bidang penelitian medis dan ilmiah, termasuk gen biologi, biologi sel, biologi perkembangan dan populasi genetik. Penelitian yang dilakukan Alfred Henry Sturtevant (1891–1970), Calvin Bridges (1889–1938) dan Hermann Joseph Muller (1890–1967), terus membuat kemajuan dalam genetika. Namun, ini bukan satu-satunya ilmuwan yang mengapresiasi manfaat potensial menggunakan *Drosophila melanogaster* sebagai organisme model. Selama ini juga ada penemuan dalam ilmu saraf dan perkembangan saraf termasuk pentingnya *Notch* dalam pengembangan embrionik diidentifikasi oleh DF Poulson pada tahun 1915. Telah dideteksi dari banyak gen yang kemudian ditemukan jalur pensinyalan pada *Drosophila melanogaster* yang diperkenalkan oleh Christiane Nüsslein

Volhard dan Eric Wieschaus; dan dasar ritme sirkadian yang dijelaskan oleh Seymour Benzer di akhir 1960-an. Secara kolektif, teori ini telah membentuk dasar yang baik untuk penelitian menggunakan *Drosophila melanogaster* yang menjadi salah satu organisme model yang paling berharga yang digunakan saat ini. Penelitian menggunakan hewan uji *Drosophila melanogaster* telah meningkat pesat. Orang pertama yang menggunakan *D.melanogaster* dalam hal ini adalah William Ernest Castle (1867–1962), seorang profesor di Universitas Harvard, ia melanjutkan dengan menyebarkan ide menggunakan *Drosophila melanogaster* dalam penelitian ke jaringan ahli zoologi eksperimental. Castle pertama kali menggunakan *Drosophila melanogaster* pada tahun 1901, memasukkannya ke dalam karyanya tentang genetika warna bulu pada tikus dan marmot. Di dalam penelitiannya dia mengantisipasi adanya hasil negatif dan dengan melihat kurang baiknya menggunakan mamalia yang perkembangbiakannya lebih lambat dan lebih mahal, karena itu dia memilih *Drosophila melanogaster*, yang berkembang biak cepat dan lebih murah (Stephenson dan Metcalfe, 2013).

*Drosophila melanogaster* digunakan dengan sangat baik untuk menjelaskan jalur genetik atau seluler dari penuaan yang terjadi pada manusia. *Drosophila melanogaster* umumnya dikenal dengan nama lalat buah adalah salah satu organisme yang paling banyak dipelajari dalam bidang genetika dan pertumbuhan. Pada kasus penuaan, *Drosophila melanogaster* sebagai hewan uji memiliki banyak keuntungan seperti

rentang hidup yang pendek berkisar 50-70 hari serta ketersediaan metode genetik yang sangat mudah untuk diaplikasikan (Rath dan Prasad, 2017). Siklus hidup *Drosophila melanogaster* berlangsung kira-kira 10 hari pada suhu 25 °C (Gambar 3).



**Gambar 3 Siklus hidup *Drosophila melanogaster* (Allocca et al., 2018)**

Seekor lalat betina tunggal dapat bertelur ratusan telur dan embriogenesis *Drosophila melanogaster* berlangsung sekitar 24 jam. Selama waktu itu, seluruh tubuh larva akan ditetapkan dengan ekspresi sejumlah gen, dimulai dengan beberapa protein yang ditranskripsi dari mRNA yang diturunkan dari induk lalat di lokasi tertentu dalam embrio seperti pada bicoid dan punggung. Protein ini berdifusi untuk membentuk sumbu anterior-posterior (misalnya bikoid) dan sumbu dorsal-ventral (misalnya punggung). Setelah menyelesaikan perkembangan embrio, larva instar pertama menetas dari telur dan mulai makan. Pada tahap ini perlu bagi larva untuk mengkonsumsi makanan tidak hanya untuk

pertumbuhan, tetapi juga untuk diubah menjadi tempat penyimpanan lemak dan gula dalam lemak tubuh, yang akan digunakan untuk menopang larva melalui metamorfosis. Saat larva tumbuh, mereka melepaskan kerangka luar mereka melalui proses yang disebut *molting* yang dikendalikan oleh serangkaian peristiwa konsekuensial yang disesuaikan dengan baik yang melibatkan beberapa hormon. Setiap tahapan instar diatur oleh level hormon *prothoracicotropic* (PTTH) yang naik untuk mengontrol pelepasan *ecdysone* yang memungkinkan larva untuk tumbuh (Allocca *et al.*, 2018).

Selain itu, genom lalat buah telah berhasil dipetakan seluruhnya dan dinotasi secara lengkap sehingga membuat *Drosophila melanogaster* menjadi hewan model yang dapat diterima dengan baik untuk melakukan skrining genetika skala besar (Rath dan Prasad, 2017). *Drosophila melanogaster* memiliki banyak keuntungan untuk digunakan dalam penelitian penuaan yang dilestarikan secara evolusioner. Dimana *Drosophila melanogaster* dapat dengan cepat memberikan informasi tentang aspek penuaan sel, interaksi tambahan yang berperan di dalam dan di antara jaringan organisme multiseluler, terdiferensiasi (seperti IIS) dapat dimodelkan dalam lalat buah. Seperti yang diketahui bahwa umur yang dimiliki *Drosophila melanogaster* kurang lebih selama tiga bulan yang dapat digunakan dalam penelitian terkait penuaan dibandingkan vertebrata yang hidup lebih lama, seperti *killifish* dengan umur 6-8 bulan dan tikus dengan umur kurang lebih tiga tahun. Ciri-ciri khusus *Drosophila*

*melanogaster* yang membuatnya menjadi organisme model yang efektif untuk penelitian penuaan adalah biaya pemeliharaan yang rendah, tidak adanya pengawasan peraturan untuk penggunaannya dalam percobaan, kemudahan menghasilkan populasi besar, persyaratan makanan yang ditentukan dengan baik, proses reproduksi yang lebih mudah diukur, jaringan yang berbeda dapat dibedah dan dimanipulasi secara genetik, dan tersedianya koleksi alat genetik yang besar, termasuk reagen CRISPR untuk pengeditan genom serta konstruksi untuk mengekspresikan atau menurunkan ekspresi gen apa pun secara berlebihan pada jaringan dan waktu dengan cara tertentu. Jaringan alat setara dengan banyak jaringan yang ditemukan pada mamalia, termasuk jantung dan ginjal, keduanya tidak ada pada *C. elegans*, dan sebagian besar (77%) gen yang berasosiasi dengan penyakit terkait penuaan pada manusia diekspresikan dalam lalat. Yang terpenting yaitu umur mereka yang relatif pendek sehingga mereka dapat digunakan dalam percobaan yang berulang untuk memperbaiki kondisi dan memaksimalkan kehidupan (Piper dan Partridge, 2018).

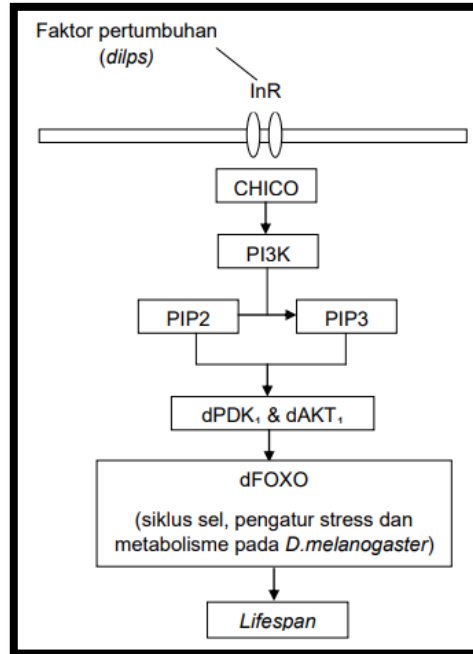
#### **II.4. *Drosophila Insulin Like Peptide (dilp)***

Insulin merupakan pengatur dalam proses metabolisme, pertumbuhan dan perkembangan (Qaid dan Abdelrahman, 2016). Pada mamalia, insulin disintesis pada sel  $\beta$ -pankreas dan dilepaskan ke dalam darah untuk mengatur pengambilan nutrisi seluler (Ziegler *et al.*, 2018). Pada hewan coba *Drosophila melanogaster* terdapat seperangkat gen

yang menghasilkan protein mirip insulin yang biasa disebut *dilp* (*Drosophila insulin like peptide*) (Broughton *et al.*, 2008). Insulin dan IGF signaling (IIS) adalah sistem kompleks yang mengontrol berbagai proses termasuk pertumbuhan, perkembangan, metabolisme, respons stres, dan penuaan. *Drosophila melanogaster* IIS diperbanyak oleh delapan peptida mirip insulin *Drosophila* (*dilps*), yang homolog dengan insulin dan IGF pada mamalia, dengan berbagai pola dan fungsi ekspresi spasiotemporal (Post *et al.*, 2018).

Hormon peptida mirip insulin pada serangga ditemukan pada tahun 1970-an. Analisis molekuler dan genetik menunjukkan bahwa *Drosophila melanogaster* memiliki komponen utama dari sistem pensinyalan yang terkonservasi dengan baik dan sangat mirip dengan sistem insulin vertebrata. Transduksi sinyal dimulai setelah pengikatan *dilp* dengan reseptornya (Semaniuk *et al.*, 2020).

Berikut jalur pensinyalan insulin pada *Drosophila melanogaster* :



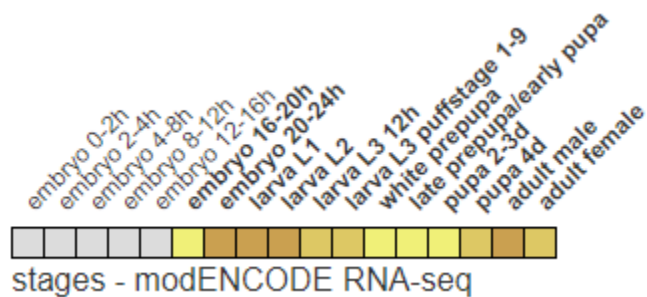
**Gambar 4 Jalur pensinyalan insulin pada *Drosophila melanogaster* (Semaniuk et al., 2020)**

*Drosophila insulin-like peptides (dilps)* mengikat reseptor insulin (InR), yang menyebabkan aktivasi reseptor dan autofosforilasi. Aktivasi *Drosophila* InR (dInR) memfosforilasi protein CHICO (yaitu, substrat reseptor insulin) selanjutnya mengaktifkan phosphoinositide-3-kinase (PI3K). PI3K yang diaktifkan mengkatalisis konversi PIP2 menjadi PIP3. PIP3 bertindak sebagai utusan kedua intraseluler dan mengaktifkan protein kinase, termasuk dPDK1 dan dAkt1, menghasilkan fosforilasi faktor transkripsi dFOXO dan penghambatan translokasi ke dalam nukleus. Penghambatan pensinyalan insulin / IGF karena mutasi pada gen yang mengkode dInR dan CHICO menyebabkan penurunan aktivitas PI3K yang akan mengaktifasi dPTEN fosfatase, mengkatalisis defosforilasi

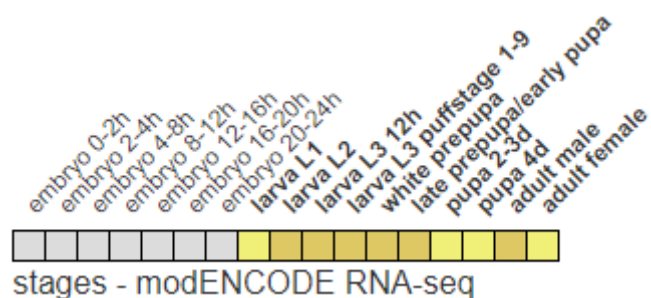


PIP3 untuk membentuk PIP2. Penurunan PIP3 menyebabkan berkurangnya aktivitas protein kinase memfosforilasi dFOXO, selanjutnya terjadi pengangkutan dFOXO dari sitoplasma ke dalam nukleus. Di dalam nukleus, ekspresi gen dFOXO aktif, berpartisipasi dalam regulasi umur dan ketahanan stres. Jalur pensinyalan insulin / IGF bekerja dalam regulasi jaringan yang kompleks dengan berbagai proses seluler yang memediasi pengontrolan umur (Semaniuk *et al.*, 2020).

Berikut data ekspresi gen *dilp2* dan *dilp5* pada *Drosophila melanogaster* :



**Gambar 5 Data Ekspresi Gen *dilp2* (Flybase)**



**Gambar 6 Data Ekspresi Gen *dilp5* (Flybase)**

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Nässel (2012) didapatkan bahwa *insulin like peptide* dapat mengatur perkembangan, pertumbuhan, reproduksi, metabolisme, ketahanan terhadap stres, penuaan, dan masa hidup yang baik pada vertebrata dan invertebrata. *Drosophila insulin like peptide* pada lalat buah terdiri dari *dilp 1- dilp 8* (Ziegler *et al.*, 2018). *dilp 1, 2, 3, dan 5* diekspresikan dalam sel neuroendokrin larva. Namun, hanya *dilp 2, 3, dan 5* diekspresikan dalam sel neuroendokrin lalat dewasa (Semaniuk *et al.*, 2020), selain itu *dilp 2* memiliki homolog tertinggi dengan gen insulin pada vertebrata (Álvarez *et al.*, 2018). *dilp 4, dan dilp 6* diekspresikan di midgut lalat, *dilp 7* diekspresikan dalam tali saraf ventral lalat (Álvarez *et al.*, 2018) sedangkan *dilp 8* diproduksi di cakram imajinal pada kerusakan atau perkembangan tumor pada *Drosophila melanogaster* (Liao, 2020).

Pada penelitian yang dilakukan Post *et al.*, (2018), didapatkan bahwa penurunan ekspresi gen *dilp2* akan mengakibatkan peningkatan aktivitas dari GlyP (Glycogen fosforilase) dimana GlyP dapat memodulasi glikogenolisis di jaringan sehingga dapat memperpanjang umur pada *Drosophila melanogaster*. Sedangkan ketika ekspresi *dilp5* meningkat maka akan menginduksi fosforilasi atau mengaktifasi Akt (Protein kinase B) yang berfungsi mengatur fungsi seluler termasuk kelangsungan hidup dan bertanggung jawab dalam perkembangan siklus sel pada *Drosophila melanogaster*, sementara itu ada bukti yang muncul tentang peran IPCs (*Insulin like peptide producing cells*) pada perpanjangan umur melalui

*Dietary Restriction (DR)*. Kondisi DR pada *Drosophila melanogaster* terbukti dapat memperpanjang umur dengan perubahan ekspresi *dilp5* yaitu dengan memodulasi ekspresi *dilp5* tetapi tidak pada *dilp2* (Kannan dan Fridell, 2013).