

**UJI EFEK ASPIRIN TERHADAP EKSPRESI GEN *cat*
DAN *atg8a* PADA MUTAN PGRP-LB *Drosophila
melanogaster***

**THE EFFECT OF ASPIRIN ON *cat* AND *atg8a* GENE
EXPRESSION IN *Drosophila melanogaster* PGRP-
LB Mutant**

ANDI ZALDY FAZLUR RAHMAN AS

N011 18 1303



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**UJI EFEK ASPIRIN TERHADAP EKSPRESI GEN *cat* DAN *atg8a* PADA
MUTAN PGRP-LB *Drosophila melanogaster***

**THE EFFECT OF ASPIRIN ON *cat* AND *atg8a* GENE EXPRESSION IN
Drosophila melanogaster PGRP-LB Mutant**

SKRIPSI

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

ANDI ZALDY FAZLUR RAHMAN AS

N011 18 1303

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**UJI EFEK ASPIRIN TERHADAP EKSPRESI GEN *cat* DAN *atg8a* PADA
MUTAN PGRP-LB *Drosophila melanogaster***

ANDI ZALDY FAZLUR RAHMAN AS

N011 18 1303

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,



Firzan Nainu, M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt.

NIP. 19820610 200801 1 012

Pembimbing Pendamping,



Dr. Risfah Yulianty, S.Si., M.Si., Apt.

NIP. 19780716 200312 2 001

Pada Tanggal: 08 Juli 2022

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**UJI EFEK ASPIRIN TERHADAP EKSPRESI GEN *cat* DAN *atg8a* PADA
MUTAN PGRP-LB *Drosophila melanogaster***

**THE EFFECT OF ASPIRIN ON *cat* AND *atg8a* GENE EXPRESSION IN
Drosophila melanogaster PGRP-LB Mutant**

Disusun dan diajukan oleh:

**ANDI ZALDY FAZLUR RAHMAN AS
N011 18 1303**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam
rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
pada tanggal 08 Juli 2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Firzan Nainu, M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt.

Dr. Risfah Yulianty, S.Si., M.Si., Apt.

NIP. 19820610 200801 1 012

NIP. 19780716 200312 2 001

Ketua Program Studi S1 Farmasi,
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin

Nurhasan 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 : Andi Zaldy Fazlur Rahman AS
Nim : N011 18 1303
Program Studi : Farmasi
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul "Uji Efek Aspirin Terhadap Ekspresi Gen *cat* Dan *atg8a* pada Mutan PGRP-LB *Drosophila melanogaster*" adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis benar benar merupakan hasil karya saya sendiri.

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

Makassar, 08 Juli 2022

Yang menyatakan,

A yellow postage stamp with a value of 10,000 Rupiah. The stamp features the Garuda Pancasila emblem and the text 'REPUBLIK INDONESIA' and 'METERAL PASA'. A handwritten signature in black ink is written over the stamp.

Andi Zaldy Fazlur Rahman AS

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas berkat dan rahmat-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Efek Aspirin Terhadap Ekspresi Gen *cat* Dan *atg8a* pada Mutan PGRP-LB *Drosophila melanogaster*” dengan baik.

Dalam penyusunan skripsi ini penulis menyadari terdapat berbagai hambatan dan rintangan, namun berkat bantuan dari berbagai pihak atas segala doa, dukungan moril, materil, serta selalu memberikan semangat kepada penulis, skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.

Penulis juga ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Firzan Nainu, S.Si., M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt. selaku pembimbing utama dan ibu Dr. Risfah Yulianty, S.Si., M.Si., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah meluangkan banyak waktu, tenaga, serta ilmu dalam membimbing bantuan bagi penulis dalam melaksanakan penelitian.
2. Prof. Dr. Sartini, M.Si., Apt. dan ibu Indah Yanti, S.Si., M.Si. selaku penguji yang telah meluangkan waktunya dan memberikan masukan dan saran terkait penelitian ini dan dalam proses menyelesaikan skripsi ini
3. Ucapan terima kasih yang setulus-tulusnya khususnya kepada orang tua penulis serta keluarga penulis yang tanpa henti memberikan

dukungan, motivasi, kasih sayang, serta doa yang tulus yang selalu mengiringi langkah penulis.

4. Yuyu Mulsiani Evary, S.Si., M.Pharm.Sci., Apt. selaku pembimbing akademik yang telah membimbing selama proses menyelesaikan studi di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
5. Dekan dan para Wakil Dekan, serta seluruh staf dosen dan pegawai Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas ilmu, motivasi, bantuan, dan segala fasilitas yang diberikan kepada penulis selama menempuh studi hingga menyelesaikan penelitian ini.
6. Mutiara Cahya Utami selaku orang yang telah banyak memberikan support, waktu dan dukungan serta semangat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi.
7. Teman-teman seperjuangan saya sejak semester 1, yakni, Usri, Indra, Dhea, Panjul, Elga, Yazid, dan Ikhsan yang selalu memberikan dukungan dan semangat, serta tempat meluangkan berbagi suka maupun duka selama proses perkuliahan dan dalam penyusunan skripsi ini
8. Teman Teman *UNHAS Fly Research Group*, Kak Ocha, Kak Rahma, Koko, Usri, Asbah, Asfa, Mega, Daff dan Akli yang telah memberikan dukungan dan membantu penulis selama proses penelitian serta dalam penyusunan skripsi ini.

9. Sahabat-sahabat penulis, Awal, Ajas, Acce, Delly, Nirma, Azman, Ines, Ulfah, Ime, Nirta, alung dan Shiddiq untuk setiap dukungan, doa, semangat dan motivasi yang diberikan kepada penulis.
10. Teman-teman angkatan "GEMF18ROZIL" atas kebersamaan yang diberikan selama penulis berada di bangku perkuliahan, melewati suka dan duka dalam perkuliahan dan selama penyelesaian skripsi.
11. Semua pihak yang telah membantu yang tidak sempat disebutkan satu persatu.

Penulis berharap agar skripsi ini dapat memberikan manfaat dalam sumbangsih ilmu pengetahuan khususnya dalam bidang Farmasi dan dapat dijadikan acuan untuk mengembangkan penelitian penelitian selanjutnya

Makassar, 08 Juli 2022



Andi Zaldy Fazlur Rahman AS

ABSTRAK

ANDI ZALDY FAZLUR RAHMAN AS. Uji Efek Aspirin Terhadap Ekspresi Gen *cat* Dan *atg8a* pada Mutan PGRP-LB *Drosophila melanogaster*.

Penuaan (*aging*) merupakan salah satu dari sekian proses biologis normal yang terjadi pada makhluk hidup. Aspirin telah dilaporkan menghambat gejala penuaan dengan mengganggu produksi oksidan dan proses respon sitokin dengan menghalangi oksidasi alkohol. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek aspirin terhadap ekspresi gen *cat* dan *atg8a* pada hewan coba mutan PGRP-LB *Drosophila melanogaster*. Pengujian dilakukan dengan melihat ekspresi gen *cat* dan *atg8a* dengan menggunakan metode RTq PCR. Diketahui pemberian aspirin dengan rentang konsentrasi yang semakin kecil akan meningkatkan ekspresi gen *cat* dan *atg8a*, diperoleh hasil peningkatan ekspresi gen paling signifikan terjadi pada konsentrasi sampel 5 μ M dibandingkan 50 dan 500 μ M pada mutan PGRP-LB *Drosophila melanogaster*

Kata Kunci : *aspirin, penuaan, Drosophila melanogaster*

ABSTRACT

ANDI ZALDY FAZLUR RAHMAN AS. THE EFFECT OF ASPIRIN ON *cat* AND *atg8a* GENE EXPRESSION IN *Drosophila melanogaster* PGRP-LB Mutant

Aging is one of the normal biological processes that occur in living things. Aspirin has been reported to inhibit the symptoms of aging by interfering with oxidant production and cytokine response processes by blocking alcohol oxidation. This study aims to determine the effect of aspirin on *cat* and *atg8a* gene expression in PGRP-LB mutant *Drosophila melanogaster* experimental animals. The test was carried out by looking at the expression of the *cat* and *atg8a* genes using the RTq PCR method. It is known that the administration of aspirin with a smaller concentration range will increase the expression of *cat* and *atg8a* genes, the results showed that the most significant increase in gene expression occurred at a sample concentration of 5 μ M compared to 50 and 500 μ M in the PGRP-LB mutant *Drosophila melanogaster*.

Keywords: *aspirin, aging, Drosophila melanogaster*

DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vii
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	3
I.3 Tujuan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Penuaan (<i>Aging</i>)	4
II.1.1 Pengertian	4
II.1.2 Ciri penuaan	4
II.1.3 Mekanisme Penuaan	5
II.2 Aspirin	6
II.2.1 Indikasi	6
II.2.2 Mekanisme kerja	6

II.2.3 Farmakokinetik	7
II.2.4 Efek pada masa hidup	8
II.3 <i>Drosophilla melanogaster</i>	8
II.3.1 Klasifikasi	8
II.3.2 Deskripsi	8
II.3.3 Siklus hidup	9
II.3.4 <i>Drosophilla melanogaster</i> dalam penelitian penuaan	10
II.4 Gen	11
II.4.1 <i>cat</i>	11
II.4.2 <i>atg8a</i>	12
II.4.3 Data ekspresi gen pada <i>Drosophila melanogaster</i>	13
BAB III METODE PENELITIAN	14
III.1 Alat dan Bahan	14
III.2 Metode Kerja	14
III.2.1 Penyiapan Hewan Uji	14
III.2.2 Penyiapan Sampel	15
III.2.3 Penyiapan Pakan	15
III.2.4 Penyiapan Sampel RNA	16
III.2.5 Pengujian dengan PCR	17
III.2.6 Analisis Data	18
BAB IV Hasil Dan Pembahasan	19
IV.1 Hasil Pengujian Ekspresi Gen	19

IV.1.1 Uji Ekspresi Gen <i>cat</i>	19
IV.1.2 Uji Ekspresi Gen <i>atg8a</i>	20
BAB V PENUTUP	21
V.1 Kesimpulan	21
V.2 Saran	21
DAFTAR PUSTAKA	22
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Sekuens primer gen	18

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Mekanisme penuaan	5
2. Struktur aspirin	6
3. Siklus hidup <i>Drosophilla melanogaster</i>	10
4. Data Ekspresi Gen <i>cat</i>	13
5. Data Ekspresi Gen <i>atg8a</i>	13
6. Grafik Ekspresi Gen <i>cat</i>	19
7. Grafik Ekspresi Gen <i>atg8a</i>	20
8. Pembuatan pakan <i>Drosophilla melanogaster</i>	33
9. Proses pemisahan lalat	33
10. Sampel isolasi RNA	34
11. Proses Isolasi RNA	34
12. Running <i>Real Time</i> PCR	34

DAFTAR SINGKATAN

AINS = antiinflamasi non steroid

μm = mikromolar

mM = milimolar

COX = Siklooksigenase

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Penyiapan Hewan Uji	29
2. Penyiapan Sampel	29
3. Penyiapan Pakan	30
4. Penyiapan Sampel RNA	30
5. Pengujian dengan PCR	31
6. Perhitungan Pengenceran Aspirin	31
7. Data Statistik	33
8. Gambar Penelitian	33

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Penuaan (*aging*) merupakan salah satu dari sekian proses biologis normal yang terjadi pada makhluk hidup. Proses penuaan ditandai dengan hilangnya fungsi fisiologis sel atau organ, kegagalan aktivitas fisik dan adanya akumulasi progresif komponen seluler yang rusak dan cacat (Pan *et al.*, 2012). Penuaan umumnya didefinisikan sebagai akumulasi dari berbagai perubahan yang merusak sel dan jaringan pada usia lanjut yang bertanggung jawab atas terjadinya peningkatan risiko penyakit dan kematian. Teori utama penuaan semuanya spesifik dari penyebab penuaan tertentu (Tosato *et al.*, 2007).

Secara umum, penelitian terkait penuaan dilakukan menggunakan organisme model seperti tikus, primata, kelinci, dan kucing (Mitchell *et al.*, 2015). Selain hewan-hewan tersebut, penelitian mengenai mekanisme penuaan secara genetik dan implikasinya terhadap makhluk hidup juga aktif dilakukan menggunakan model organisme *Drosophila melanogaster* sebagai organisme model *in vivo* (Sun *et al.*, 2013). Pada *D. melanogaster*, terdapat protein PGRP-LB yang dapat menekan aktivasi sistem imun. Hilangnya fungsi PGRP-LB menyebabkan penurunan masa hidup. PGRP-LB merupakan salah satu jenis lalat yang mempunyai umur lebih singkat dibandingkan dengan *Wild type* yang dapat hidup selama 45-50 hari, sedangkan mutan PGRP-LB memiliki masa hidup sekitar 13-15 hari (Kounatidis *et al.*, 2017).

Aspirin merupakan salah satu prototipe AINS yang secara resmi disetujui oleh *Food and Drug Administration* (FDA) pada tahun 1939. Aspirin merupakan turunan asam salisilat yang digunakan sebagai agen anti-inflamasi serta anti platelet (Rahmadanita, 2020). Selain itu, AINS

memiliki aktivitas antioksidan melalui aktivitas anti-radikal dan penstabilan membran yang dimediasi oleh pembersihan radikal bebas dan aktivitas enzim antioksidan (Danilov *et al.*, 2015). Aspirin telah dilaporkan menghambat gejala penuaan dengan mengganggu produksi oksidan dan proses respon sitokin dengan menghalangi oksidasi alkohol (Keser dan Karata, 2012).

Berdasarkan penelitian Rahmah 2019, diperoleh bahwa pemberian aspirin dapat meningkatkan masa hidup dari *D. melanogaster*, sehingga penelitian dilanjutkan dengan melihat beberapa *signaling pathway* dan ekspresi gen-gen terkait *aging*. Beberapa gen telah disinyalir memiliki pengaruh penting dalam mengontrol laju penuaan. Dua diantaranya adalah gen *cat* (Paaby dan Schmidt, 2009) dan gen *atg8a* (Maruzs *et al.*, 2019).

Katalase (dikodekan dengan gen *cat*) merupakan enzim antioksidan yang berperan penting dalam mengurangi stres oksidatif yang disebabkan oleh hidrogen peroksida (H_2O_2) yang berperan sebagai biokatalisator dalam perubahan H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 (Weni, 2020). Saat menargetkan mitokondria, ekspresi katalase yang berlebihan mengurangi pelepasan H_2O_2 di jalur transgenik sebesar 90%. Katalase juga berfungsi menetralkan dan mempercepat degradasi senyawa radikal bebas untuk mencegah kerusakan komponen makromolekul sel (Untari, 2014). Dalam penelitian lain pada hewan coba *D. melanogaster* yang menunjukkan bahwa ekspresi berlebih dari gen *cat* dapat memperpanjang umur *D. melanogaster* (Paaby dan Schmidt, 2009).

Gen *atg8a* adalah family protein atg8 yang berperan dalam autofagi (Bali, 2017). Autofagi memainkan peran penting dalam menentukan umur banyak organisme model. Pengurangan autofagi dapat menyebabkan percepatan penuaan, dan stimulasi autofagi dapat memiliki efek anti-penuaan yang kuat (Rubinsztein *et al.*, 2011). Peningkatan ekspresi *atg8a*

telah dilaporkan memperpanjang umur dengan meningkatkan autofagi (Maruzs *et al.*, 2019).

Berdasarkan pada publikasi sebelumnya terkait efek *anti-aging* aspirin serta peran gen *cat* dan *atg8a* dalam proses penuaan (*aging*) dengan menggunakan hewan coba *Wild type D. melanogaster*, maka penelitian terkait efek aspirin terhadap ekspresi gen *cat* dan *atg8a* menggunakan hewan coba mutan PGRP-LB *D. melanogaster* perlu untuk dilakukan. Hasil yang diperoleh dalam penelitian akan memberikan gambaran dasar mengenai peranan kedua gen dalam menekan penuaan.

I.2 Rumusan Masalah

Bagaimana efek aspirin terhadap ekspresi gen *cat* dan *atg8a* pada Mutan PGRP-LB *Drosophila melanogaster*?

I.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek aspirin terhadap ekspresi gen *cat* dan *atg8a* pada Mutan PGRP-LB *Drosophila melanogaster*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Penuaan (*Aging*)

II.1.1 Pengertian

Penuaan merupakan kemampuan jaringan untuk memperbaiki dirinya sendiri atau mengganti dan mempertahankan fungsi normalnya secara perlahan berkurang, sehingga tidak dapat bertahan dari infeksi dan memperbaiki kerusakan yang diderita (Nurfatimah, 2017).

Proses penuaan adalah proses alami yang ditandai dengan berkurangnya atau perubahan kondisi fisik, psikis dan sosial ketika berinteraksi dengan orang lain. Kemudian berdasarkan *World Health Organisation* pada tahun 2017, Antara tahun 2015-2050, dimana lanjut usia didunia yang di atas 60 tahun diperkirakan hampir dua kali lipat dari sekitar 12% menjadi 22% (Handayani, 2013).

II.1.2 Ciri Penuaan

Ciri penuaan dikelompokkan menjadi tiga kategori hirarki, yaitu ciri utama, ciri antagonis dan ciri integratif (Maruzs, 2019).

- Ciri utama

Ciri utama penuaan memiliki dampak negatif yang nyata pada fungsi sel normal dan dianggap sebagai penyebab utama kerusakan sel. Lima fitur tersebut adalah ketidakstabilan genom, erosi telomer, perubahan epigenetik, disfungsi mitokondria, dan hilangnya proteostasis. Kerusakan yang terakumulasi melalui proses ini memicu respon kompensasi yang mewakili sifat antagonis (Maruzs, 2019).

- Ciri antagonis

Penuaan memiliki dua fitur yang berlawanan: persepsi nutrisi yang berubah dan penuaan seluler. Mekanisme ini pada awalnya mengurangi kerusakan, tetapi setelah mencapai tingkat kronis, mereka merusak tujuan mereka dan menjadi merusak diri sendiri. Misalnya, tingkat penuaan

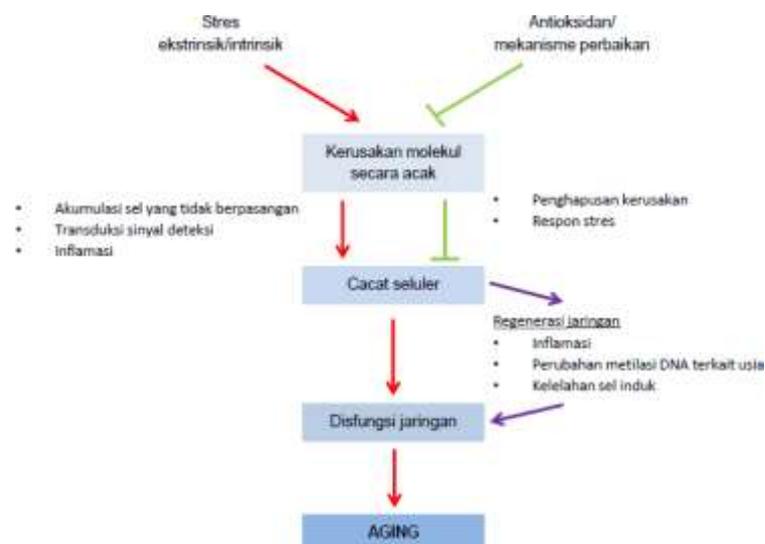
seluler yang rendah dapat melindungi organisme dari kanker (dengan mencegah proliferasi sel yang rusak dan berpotensi menyebabkan kanker), tetapi dapat meningkatkan penuaan setelah mencapai tingkat yang lebih tinggi. Pada akhirnya, akumulasi progresif dari penanda primer dan antagonis dari kerusakan menguasai kapasitas kompensasi homeostatis seluler dan bermanifestasi kedalam ciri integratif (Maruzs, 2019).

- Ciri integratif

Ada dua ciri integratif penuaan. Ini adalah kelelahan sel induk dan perubahan komunikasi antar sel (yang paling menonjol adalah peradangan sistemik kronis) yang pada akhirnya bertanggung jawab atas penurunan fungsional selama penuaan (Maruzs, 2019).

II.1.3 Mekanisme penuaan

Pada dasarnya proses penuaan akan terjadi perubahan dari anatomis pada organ-organ tubuh, yaitu terjadi mekanisme kerusakan dan perbaikan di dalam tubuh pada kecepatan dan saat yang berbeda-beda. Jaringan yang berbeda akan menua dengan cara yang berbeda (Primasari, 2018). Adapun mekanisme proses penuaan dapat dilihat pada gambar 1.

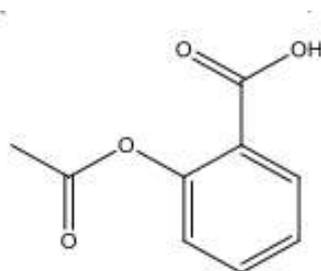


Gambar 1. Mekanisme Penuaan (Mc.Auley, 2017).

Dapat dilihat bahwa tingkat akumulasi kerusakan molekul acak yang diinduksi stres tergantung pada kapasitas sistem antioksidan dan efisiensi sistem perbaikan. Karena sistem ini tidak 100% efisien, sel selalu mengandung beberapa kerusakan yang tidak diperbaiki yang mengarah pada aktivasi respon stress dan pengaturan mekanisme untuk menghilangkan kerusakan atau untuk mencegah pembelahan sel. Namun, respons ini juga menjadi kurang efisien seiring bertambahnya usia sehingga komponen yang rusak menumpuk yang menyebabkan cacat seluler, yang menimbulkan disfungsi jaringan dan penuaan.

II.2 Aspirin

II.2.1 Indikasi



Gambar 2. Struktur aspirin (Juniardi, 2021).

Aspirin (asam asetilsalisilat) merupakan obat golongan Anti Inflamasi Non Steroid (AINS) yang dapat digunakan untuk terapi anti-inflamasi (dosis: 1200-1500 mg/hari), mengurangi agregasi trombosit (dosis rendah : <300 mg/hari), analgesik dan antipiretik (dosis menengah : 300-2400 mg/hari) hal ini berdasarkan pada dosis aspirin yang digunakan (Katzung *et al.*, 2019).

II.2.2 Mekanisme kerja

Mekanisme kerja dari aspirin yaitu menghambat enzim siklooksigenase (COX) terutama siklooksigenase-1 (COX-1) sehingga terjadi penghambatan biosintesis prostaglandin dan tromboksan dari asam arakhidonat (Miladiyah, 2012).

Mekanisme kerja aspirin terutama adalah menghambat sintesis prostaglandin E_2 dan tromboksan A_2 . Akibat penghambatan ini, maka

terdapat tiga aksi utama dari aspirin, yaitu antiinflamasi, analgesik dan antipiretik (Miladiyah, 2012).

- antiinflamasi, karena penurunan sintesis prostaglandin proinflamasi
- analgesik, karena penurunan prostaglandin E_2 akan menyebabkan penurunan sensitivitas akhiran saraf nosiseptif terhadap mediator pro inflamasi
- antipiretik, karena penurunan prostaglandin E_2 yang bertanggung jawab terhadap peningkatan set point pengaturan suhu di hipotalamus.

Aspirin menghambat sintesis platelet melalui asetilasi enzim COX dalam platelet secara ireversibel. Karena platelet tidak mempunyai nukleus, maka selama hidupnya platelet tidak mampu membentuk enzim COX ini (Miladiyah, 2012).

II.2.3 Farmakokinetik

Aspirin cepat diabsorpsi dari saluran pencernaan dan segera dihidrolisis menjadi asam salisilat, dengan kadar puncak asam salisilat dalam plasma tercapai dalam 1-2 jam. Di dalam sirkulasi, sebanyak 80-90% salisilat terikat dengan protein plasma, terutama albumin. Salisilat ini dapat didistribusikan ke hampir seluruh cairan tubuh dan jaringan, serta mudah melalui sawar darah plasenta sehingga dapat masuk ke dalam sirkulasi darah janin (Miladiyah, 2012).

Aspirin dihidrolisis menjadi asam salisilat di dalam sistem gastrointestinal dan sirkulasi darah (dengan waktu paruh aspirin 15menit) dalam bentuk asam salisilat, waktu paruh dalam plasma dalam dosis terapeutik menjadi 2-4,5 jam, namun dalam dosis yang berlebihan (overdosis) waktu ini dapat lebih panjang, antara 18 sampai 36 jam. Jadi dapat dikatakan bahwa waktu paruh asam salisilat ini tergantung dengan dosis. Semakin tinggi dosis aspirin yang diminum, maka waktu paruh asam salisilat juga semakin panjang (Miladiyah, 2012).

Ekskresi asam salisilat melalui ginjal sebesar 5,6% sampai 35,6%. Terdapat korelasi positif antara pH urin dengan klirens asam salisilat.

dimana alkalinisasi (peningkatan pH urin) akan meningkatkan klirens asam salisilat yang selanjutnya meningkatkan ekskresi asam salisilat melalui urin. Akibatnya waktu paruh asam salisilat dapat diperpanjang oleh pH urin yang rendah (asam) dan pada fungsi ginjal yang terganggu (Miladiyah, 2012).

II.2.4 Efek pada masa hidup

Selain memiliki efek anti-inflamasi, bagian salisilat dalam aspirin juga berperan dalam mengurangi pembentukan spesies pro-oksidan. Terkait dengan mekanisme ini, aspirin juga telah dilaporkan dapat mengurangi disfungsi endotel terkait penuaan pada tikus, sehingga sedikit menurunkan tekanan darah pada tikus hipertensi (Ayyadevara, 2013).

II.3 *Drosophila melanogaster*

II.3.1 Klasifikasi

Kingdom : Animalia
Filum : Arthropoda
Kelas : Insecta
Ordo : Diptera
Family : Drosophilidae
Genus : *Drosophila*
Spesies : *Drosophila melanogaster* (Nainu, 2018)

II.3.2 Deskripsi

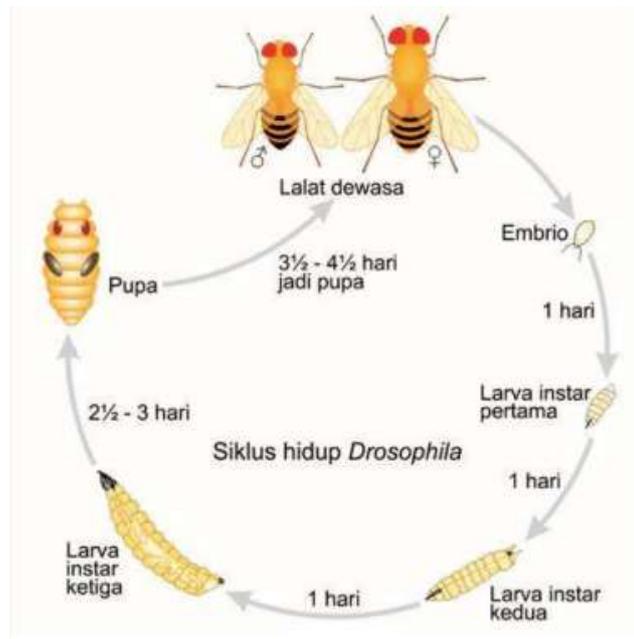
Karakteristik *D. melanogaster* tipe normal dicirikan dengan mata merah, mata majemuk berbentuk bulat agak ellips dan mata tunggal (oceli) pada bagian atas kepalanya dengan ukuran relatif lebih kecil dibanding mata majemuk, warna tubuh kuning kecokelatan dengan cincin berwarna hitam di tubuh bagian belakang. Ukuran tubuh *D. melanogaster* berkisar antara 3-5 mm. Sayap *D. melanogaster* cukup panjang dan transparan, Posisi sayapnya bermula dari thorak, vena tepi sayap (*costal vein*) memiliki dua bagian yang terinterupsi dekat dengan tubuhnya. aristanya pada umumnya berbentuk rambut dan memiliki 7-12 percabangan. Crossvein posterior umumnya berbentuk lurus, tidak

melengkung. Thoraknya memiliki bristle, baik panjang dan pendek, sedangkan abdomen bersegmen lima dan bergaris hitam (Hotimah, 2017).

II.3.3 Siklus hidup

Siklus hidup merupakan hal yang tak boleh diabaikan. Siklus hidup lalat buah penting untuk dipelajari untuk memudahkan percobaan genetika, pengamatan perkembangan tiap waktu, lalat virgin, reproduksi, *breeding*, dan karena merupakan hewan model. Pada lalat buah siklus hidupnya perlu dipelajari untuk memahami *life extension*, yaitu bagaimana memperpanjang usia hidup bila terjadi mutase (Suharsono, 2019).

Siklus hidup yang dialami oleh *D. melanogaster* terdiri dari beberapa fase kehidupan yaitu fase embrio, fase remaja (larva), dan fase dewasa melalui sebuah proses yang disebut sebagai metamorphosis. embrio lalat buah dapat berkembang menjadi larva instar pertama (1st *instar larvae*) hanya dalam sehari lalu kemudian berkembang menjadi larva instar kedua (2nd *instar larvae*) dan ketiga (3rd *instar larvae*) berturut-turut dalam waktu satu dan dua hari. Pada akhirnya, larva instar ketiga akan berubah menjadi pupa dan setelah kurang lebih lima hari (pada suhu inkubasi 25°C), lalat dewasa akan keluar dari cangkang pupa (*pupal case*) untuk selanjutnya disebut sebagai lalat dewasa (Nainu, 2018). Adapun siklus hidup dari *D. melanogaster* dapat dilihat pada gambar 3.



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

II.3.4 *Drosophila melanogaster* dalam penelitian penuaan

Pada penelitian terkait penuaan yang relevan dengan manusia, sistem model yang digunakan harus mencakup gen yang menunjukkan konservasi tinggi dengan manusia, kemampuan untuk dimanipulasi secara genetik, masa hidup serta waktu generasi yang cukup singkat sehingga dapat dilihat secara efektif (Jafari, 2010).

D. melanogaster kemudian menjadi organisme pilihan untuk mempelajari mekanisme penyusunan gen pada kromosom, pengaturan aktivitas dan fungsi gen, serta pola mutasi pada organisme eukariotik sederhana. Walaupun memiliki genom yang sederhana, lalat buah *D. melanogaster* diperkirakan memiliki kemiripan genetik dengan manusia sebesar 75 %. Dari kemiripan genetik inilah yang mendasari potensi penggunaan lalat buah *D. melanogaster* sebagai organisme model dalam riset mekanisme penyakit (Nainu, 2018).

lalat betina dapat menghasilkan 30-50 telur per hari dan tiap telur dapat berkembang menjadi lalat dewasa dalam waktu sekitar 10 hari, sangat berbeda dengan mencit yang hanya menghasilkan sejumlah kecil keturunan dalam waktu 3-4 bulan. Dengan demikian, penggunaan *D.*

melanogaster dapat memudahkan peneliti untuk memperoleh hasil eksperimen dengan populasi pengujian yang besar sesegera mungkin (Nainu, 2018).

D. melanogaster memiliki masa hidup yang singkat (sekitar 2-3 bulan) sehingga sangat cocok untuk digunakan dalam mempelajari beberapa proses biologis, seperti misalnya mekanisme penuaan (*aging*), yang sekiranya akan cukup sulit diamati pada hewan-hewan uji yang lain (Nainu, 2018).

Dalam penelitian penuaan menggunakan *D. melanogaster*, parameter yang dapat diuji adalah dengan melihat umur dalam kaitannya dengan metode genetik. Metode ini dipilih untuk mengetahui mekanisme fisiologis penuaan dengan menganalisis fenotipe yang mempengaruhi rentang hidup dan respon perilaku pada *D. melanogaster*. Metode ini dilakukan untuk mengkonfirmasi asumsi pendekatan berbasis genetik yang ada (Rath, *et al.*, 2017).

II.4 Gen

II.4.1 *cat*

Katalase adalah sebuah enzim yang sangat luas dalam distribusi organisme aerobik dan dapat dimurnikan dari sejumlah hewan tumbuhan dan bakteri katalase merupakan suatu protein yang mengandung 4 gugus heme dengan berat molekul sesungguhnya antara 210.000 sampai 280.000 Dalton (Handoyo, 2010).

Enzim katalase berfungsi sebagai pelindung sel dari pengaruh racun hidrogen peroksida dan mengkatalisa dekomposisi nya menjadi oksigen dan air tanpa menghasilkan radikal bebas katalase mempunyai dua fungsi pertama kemampuan untuk menghilangkan H₂O₂ (peroksida) berlebih yang dihasilkan pada metabolisme oksidatif dan kedua kemampuan untuk menggunakan H₂O₂ dalam oksidasi fenol alkohol dan donor hidrogen lain (Handoyo, 2010).

Gen yang mengkode enzim katalase adalah gen *cat* yang ditempatkan pada kromosom 11 pada manusia dan pada kromosom 3L pada *D. Melanogaster* (Nandi *et al.*, 2019). Gen *cat* telah dilaporkan memiliki efek positif pada umur, peningkatan ekspresi gen *cat* dapat menyebabkan peningkatan umur (Hall *et al.*, 2019).

II.4.2 *atg8a*

Autofagi adalah mekanisme seluler *self-digestion* yang menghilangkan organel yang rusak, protein yang rusak dalam biosintesis, dan protein berumur panjang yang tidak berfungsi melalui lisosom. Istilah autophagy terdiri dari "fagi" (makan) dan pemecahan ekstraseluler dari bagian sel sendiri (auto) (*heterophagocytosis*). Nama ini diambil dari pengamatan studi mikroskop elektron yang menunjukkan bahwa membran tunggal atau ganda, yang dikenal sebagai vesikel, mengandung organel dalam berbagai tahap degradasi, yang menghubungkannya dengan jalur Ub-proteosom khusus untuk mendegradasi protein berumur pendek atau rusak (Tamara, 2021).

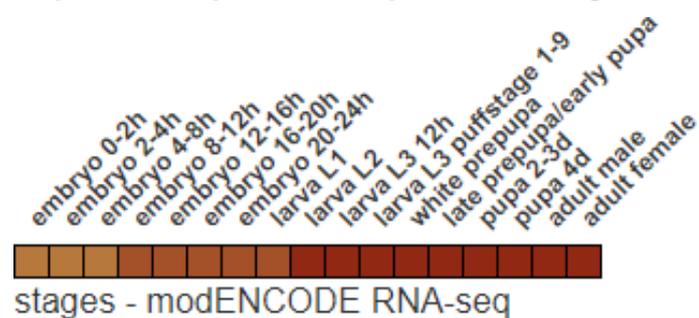
Salah satu faktor yang mempengaruhi regulasi sintesis protein pada proses penuaan adalah keseimbangan proses autofagi. Autofagi menstimulasi degradasi protein dan menghambat sintesis protein. Autofagi diketahui mempunyai fungsi untuk mengeliminasi organel yang rusak pada otot rangka dengan penuaan, namun disisi lain autofagi yang berlebihan dapat menstimulasi apoptosis dapat menyebabkan penurunan massa otot (Pratiwi, 2019).

Berdasarkan Maruzs 2019, autofagi memainkan peran sentral dalam proses penuaan. Beberapa mekanisme perpanjangan masa hidup menunjukkan peran dari modulasi autofagi. Peningkatan autofagi dapat mengimbangi beberapa tanda seluler penuaan, sehingga autofagi memiliki peran dalam mengatasi akumulasi kerusakan sel.

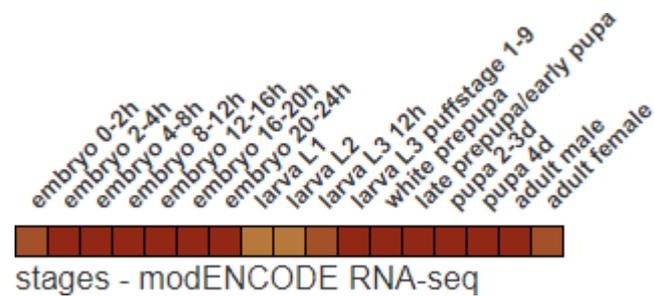
Protein *autophagy-associated* (Atg) adalah sitokin eukariotik yang berfungsi dalam berbagai tahap autofagi. Sejauh ini, Atg yang telah diidentifikasi dan merupakan protein kunci dalam autofagi adalah Atg8.

Pada autofagi, Atg8 adalah penanda yang secara kovalen mengikat *phosphatidylethanolamine* pada membran autofagi selama pembentukan autophagosome. Efek sistemik pertama yang terkait dengan regulasi autofagi spesifik jaringan pada organisme yang menua yang diamati di *Drosophila* adalah ekspresi berlebihan *atg8a* di saraf, yang telah terbukti memperpanjang umur di *D. melanogaster* (Kamri, 2021).

II. 4. 3 Data ekspresi Gen pada *Drosophila melanogaster*



Gambar 4. Data ekspresi gen *cat* (Flybase)



Gambar 5. Data ekspresi gen *atg8a* (Flybase)