

**UJI EFEK KURKUMIN TERHADAP EKSPRESI GEN
cat DAN *hsp22* PADA *Drosophila melanogaster***

**EFFECT OF CURCUMIN ON THE EXPRESSION OF *cat*
AND *hsp22* GENES IN *Drosophila melanogaster***

M KHADAFI ANUGRAH PRATAMA

N011 18 1327



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

2022

**UJI EFEK KURKUMIN TERHADAP EKSPRESI GEN *cat* DAN *hsp22*
PADA *Drosophila melanogaster***

**EFFECT OF CURCUMIN ON THE EXPRESSION OF *cat* AND *hsp22*
GENES IN *Drosophila melanogaster***

SKRIPSI

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

M KHADAFI ANUGRAH PRATAMA

N011 18 1327

PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

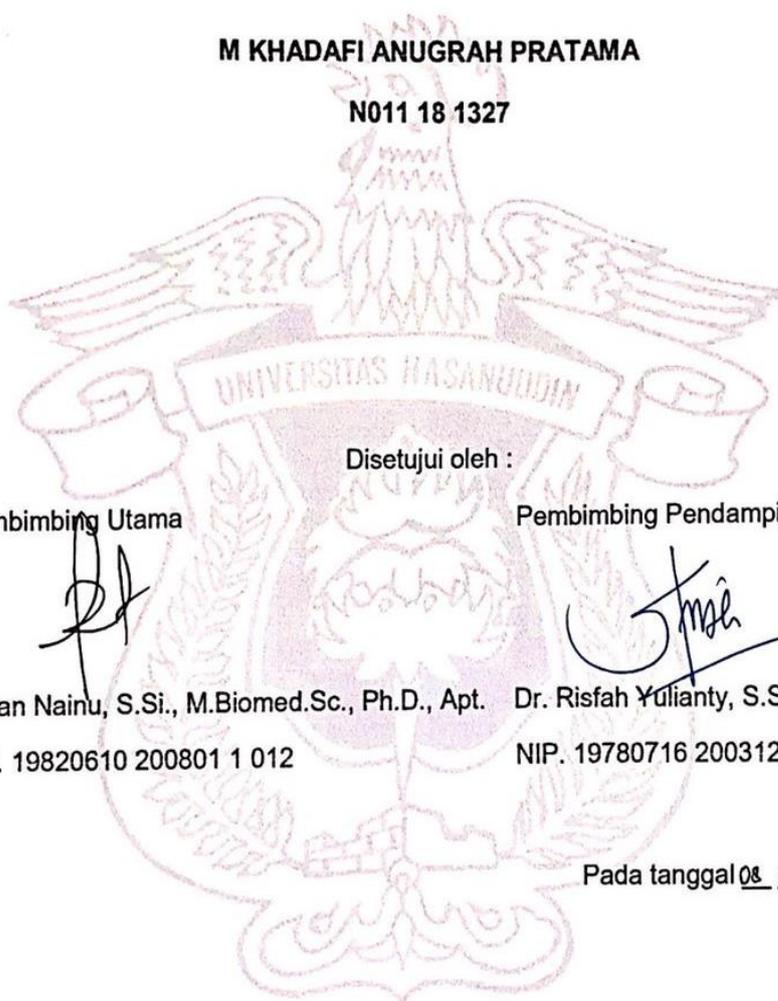
MAKASSAR

2022

**UJI EFEK KURKUMIN TERHADAP EKSPRESI GEN *Cat* DAN *hsp22*
PADA *Drosophila melanogaster***

M KHADAFI ANUGRAH PRATAMA

N011 18 1327



Disetujui oleh :

Pembimbing Utama

Handwritten signature of the main supervisor, Firzan Nainu.

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

NIP. 19820610 200801 1 012

Pembimbing Pendamping

Handwritten signature of the co-supervisor, Dr. Risfah Yulianty.

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

NIP. 19780716 200312 2 001

Pada tanggal 08 07 2022

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**UJI EFEK KURKUMIN TERHADAP EKSPRESI GEN *cat* DAN *hsp22*
PADA *Drosophila melanogaster***

**EFFECT OF CURCUMIN ON THE EXPRESSION OF *cat* AND *hsp22*
GENES IN *Drosophila melanogaster***

Disusun dan diajukan oleh :

**M KHADAFI ANUGRAH PRATAMA
N011 18 1327**

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

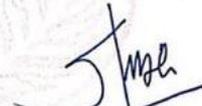
Menyetujui,

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

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 Khadai Anugrah Pratama

Nim : N011181327

Program Studi : Farmasi

Jenjang : S1

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 jugatidak 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, 2022

Yang Menyatakan



M Khadafi Anugrah Pratama

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, tidak ada kata yang lebih patut diucapkan oleh seorang hamba yang beriman selain ucapan puji syukur ke hadirat Allah SWT, Tuhan Yang Maha Mengetahui, pemilik segala ilmu, karena atas petunjuk-Nya maka skripsi ini dapat diselesaikan.

Sungguh banyak kendala yang penulis hadapi dalam rangka penyusunan skripsi ini, namun berkat dukungan dan bantuan berbagai pihak, akhirnya penulis dapat melewati kendala-kendala tersebut. Oleh karena itu, penulis dengan tulus menghaturkan banyak terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada :

1. Bapak Firzan Nainu, S.Si., M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt. selaku pembimbing utama yang telah bersedia memberikan bimbingan, ilmu, arahan, dukungan serta bersedia meluangkan waktunya dalam penyusunan skripsi ini.
2. Ibu Dr. Risfah Yulianty, S.Si., M.Si., Apt. selaku pembimbing kedua yang telah bersedia memberikan bimbingan, ilmu, arahan, dukungan, serta bersedia meluangkan waktunya dalam penyusunan skripsi ini.
3. Bapak Anshar Saud, S.Si., M.Pharm., Apt. dan Ibu Nur Inda Yanti, S.Si., M.Si., selaku tim penguji yang telah bersedia meluangkan waktunya serta memberikan saran dan masukan dalam penyusunan skripsi ini.
4. Dekan dan para Wakil Dekan, seluruh staf dosen serta staf akademik Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas segala ilmu, bantuan,

serta fasilitas yang diberikan selama penulis menempuh studi, melakukan penelitian hingga menyelesaikan skripsi ini.

5. Ibu Prof. Dr.rer.nat. Marianti A. Manggau, Apt. selaku Dosen Penasehat Akademik atas segala arahan, saran dan nasehat yang telah diberikan kepada penulis selama berkuliah.
6. Keluarga besar Kimia Analisis FF-UH (Dosen, Laboran, dan seluruh asisten) atas segala ilmu serta pengalaman berharga yang penulis dapatkan selama menjadi bagian di dalamnya.
7. UFRG (*Unhas Fly Research Group*) atas segala ilmu dan bantuan yang diberikan selama penulis melakukan penelitian.
8. Sahabat penulis, Koko, Zaldy, dan Usri yang selalu memberikan masukan dan semangat kepada penulis.
9. Saudara penulis Yus cobra, Randa cobra, Ibrahim putra paris, Wasibe cobra, Aldi cobra, lcal, dan Akil erte yang selalu memberikan semangat kepada penulis dalam perkuliahan dan penyelesaian skripsi ini.
10. Saudara Ladde penulis, Irsan cobra dan Wa' Asbi Rozan yang telah memberi semangat dan motivasi dalam mengerjakan skripsi ini.
11. Keluarga Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin (KEMAFAR-UH), terkhusus teman-teman angkatan 2018 (GEMF18R0ZIL) atas segala dukungan, dan pengalaman berharga yang penulis dapatkan selama menjadi bagian di dalamnya.

Akhirnya, semua ini tiada artinya tanpa dukungan moril dari kedua orang tua tercinta Ayahanda Nasrun dan Ibunda Herny Rara, dan saudara penulis

Irsan dan Asbi, serta seluruh keluarga, atas segala dukungan, doa, serta semangat yang diberikan selama penulis menempuh studi.

Penulis menyadari skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Sehingga, segala saran dan masukan akan sangat berharga bagi penulis. Semoga karya ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan. Aamiin.

Makassar, 8 Juli 2022

A handwritten signature in black ink, consisting of stylized, overlapping letters that appear to be 'M', 'K', 'A', 'P', and 'A'.

M Khadafi Anugrah Pratama

ABSTRAK

M KHADAFI ANUGRAH PRATAMA. Uji Efek Kurkumin Terhadap Ekspresi Gen *cat* dan *hsp22* pada *Drosophila melanogaster* (dibimbing oleh Firzan Nainu dan Risfah Yuliyanty).

Penuaan secara biologis merupakan tahap kerusakan sel yang terjadi seiring dengan bertambahnya usia dan penuaan dapat menyebabkan menurunnya dari fungsi fisiologis tubuh sehingga dapat meningkatkan risiko terkena penyakit, hingga kematian. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek kurkumin terhadap ekspresi gen *cat* dan *hsp22* pada hewan coba *Drosophila melanogaster*. Dalam penelitian ini digunakan 5 kelompok uji, diantaranya kontrol sehat, kontrol pelarut, dan kurkumin dengan konsentrasi 10 μM , 50 μM dan 250 μM . Pengujian yang dilakukan yaitu uji ekspresi gen dengan metode *Real Time quantitative Polymerase Chain Reaction* (RT-qPCR). Hasil penelitian pada uji ekspresi gen *cat* menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada kelompok perlakuan kurkumin 250 μM dibandingkan kontrol ($p < 0.01$), sedangkan pada ekspresi gen *hsp22* menunjukkan perbedaan yang signifikan pada semua kelompok perlakuan ($p < 0.01$). Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa pemberian kurkumin dapat meningkatkan ekspresi gen *cat* dan gen *hsp22* yang bergantung pada peningkatan konsentrasi pemberian pada *D. melanogaster*.

Kata Kunci: Kurkumin, Penuaan, *Drosophila melanogaster*, *cat*, *hsp22*.

ABSTRACT

M KHADAFI ANUGRAH PRATAMA. Effect of Curcumin on The Expression of *Cat* and *hsp22* Genes in *Drosophila melanogaster* (supervised by Firzan Nainu and Risfah Yuliyanty).

Biological aging is a stage of cell damage that occurs with age and aging can cause a decline in the physiological functions of the body so that it can increase the risk of disease, and even death. This study aims to determine the effect of curcumin on *cat* and *hsp22* gene expression in *Drosophila melanogaster* experimental animals. In this study, 5 test groups were used, including healthy control, solvent control, and curcumin with concentrations of 10 μM , 50 μM and 250 μM . The tests carried out were gene expression tests using the *Real Time quantitative Polymerase Chain Reaction* (RT-qPCR) method. The results of the *cat* gene expression test showed that there was a significant difference in the 250 μM curcumin treatment group compared to the control group ($p < 0.01$), while the *hsp22* gene expression showed a significant difference in all treatment groups ($p < 0.01$). Based on the results obtained, it can be concluded that the administration of curcumin can increase the expression of the *cat* gene and the *hsp22* gene depending on the increase in the concentration of *D. melanogaster*.

Keywords: Curcumin, Aging, *Drosophila melanogaster*, *cat*, *hsp22*.

DAFTAR ISI

	halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	i
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	2
I.2 Rumusan Masalah	4
I.3 Tujuan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Penuaan (<i>Aging</i>)	5
II.1.1 Pengertian	5
II.1.2 Karakteristik Penuaan	7
II.1.3 Mekanisme Penuaan	8
II.2 Kurkumin	10
II.3 <i>Drosophila melanogaster</i>	11
II.4 <i>Reactive Oxygen Species</i>	14
II.5 Antioksidan	15

II.5.1 Jenis-jenis Antioksidan	16
II.6 Gen	19
II.6.1 <i>Cat</i>	19
II.6.2 <i>Hsp22</i>	20
BAB III. PELAKSANAAN PENELITIAN	23
III.1 Alat dan Bahan	23
III.2. Penyiapan Hewan Uji	23
III.3 Penyiapan Sampel	24
III.4 Penyiapan Pakan	24
III.5 Penyiapan Sampel RNA	24
III.6 Analisis Ekspresi Gen	25
III.7 Pengolahan Data	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	28
IV.1 Hasil Pengujian Ekspresi Gen	28
IV.1.1 Uji Ekspresi Gen <i>Cat</i>	28
IV.1.2 Uji Ekspresi Gen <i>Hsp22</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 antioksidan	27

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Siklus hidup <i>Drosophila melanogaster</i>	13
2. <i>Signaling pathway gen cat</i> terkait penuaan	20
3. <i>Signaling pathway gen hsp22</i> terkait penuaan	22
4. Pembuatan pakan	43
5. Pemisahan lalat jantan dan betina	43
6. Sampel isolasi RNA	43
7. Isolasi RNA	43
8. Running PCR	43

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Penyiapan hewan uji	34
2. Gambar penelitian	35

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Saat ini, penelitian terkait penuaan (*aging*) telah dilakukan di berbagai negara, seiring dengan bertambahnya usia seseorang maka kerusakan sel yang diakibatkan oleh banyak faktor tidak dapat dihindari, kerusakan sel akan menyebabkan menurunnya fungsi dari sistem organ serta kemampuan regenerasi sel akan berkurang dan sangat rentang terhadap infeksi (Hom Nath, 2019). Penuaan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah peningkatan produksi ROS (*Reactive Oxygen Species*) di dalam sel dapat berujung pada apoptosis, sehingga tubuh membutuhkan respon untuk mempertahankan sel, salah satunya dengan memanfaatkan antioksidan endogen (Khoshelev *et al.*, 2021). Antioksidan dapat berperan untuk menetralkan radikal bebas dan dapat mencegah produksi ROS yang berlebihan. Gen antioksidan dapat digunakan dalam pertahanan melawan stres oksidatif yaitu *superoksida dismutase* (SODs), *glutathione peroksidase* (GPXs), dan *catalase* (*cat*). Ketiga gen tersebut dapat mengangkut radikal bebas utama yang menguraikan radikal superoksida dan H₂O₂ (Kulbacka *et al.*, 2012). Selain itu gen lain yang berfungsi untuk menurunkan stres oksidatif adalah *Hsp22* (Bhole *et al.*, 2004).

Kurkumin merupakan molekul yang sangat *pleiotropic* yang dapat berinteraksi dengan banyak molekul target (Zhou *et al.*, 2011). Pada beberapa studi ditemukan bahwa efek kurkumin dapat melindungi sel terhadap stres oksidatif pada beberapa pengujian dengan menginduksikan H₂O₂ diperoleh bahwa kurkumin dapat mencegah kerusakan sel dan meningkatkan kelangsungan hidup sel hewan coba, terutama pada sel DNA dan apoptosis (Abrahams *et al.*, 2019). Kurkumin merupakan senyawa yang sering dijadikan sebagai salah satu pengobatan tradisional, pada pengobatan Ayurveda sering digunakan untuk mengatasi penyakit seperti radang sendi, bisul, penyakit kuning, luka, dan demam. Kurkumin merupakan komponen aktif yang terdapat pada kunyit. Secara kimia, kurkumin adalah bis- α,β -tak jenuh-diketon, bernama (E, E)-1,7-bis (4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,6-heptadiena-3,5 diol (Zhou *et al.*, 2011).

Salah satu jenis organisme model yang biasa digunakan adalah *Drosophila melanogaster* dalam berbagai riset penelitian dengan keunggulan memiliki sekitar 75% gen yang homolog dengan manusia (Mirzoyan *et al.*, 2019). *Drosophila melanogaster* umumnya dikenal dengan nama lalat buah adalah salah satu organisme yang paling banyak dipelajari dalam bidang genetika dan pertumbuhan. *Drosophila melanogaster* digunakan dengan sangat baik untuk menjelaskan jalur genetik atau seluler dari penuaan yang terjadi pada manusia. Pertimbangan lainnya adalah *D. 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. Selain itu kelebihan lain yang dimiliki oleh *D. melanogaster* adalah genom yang dimiliki telah ternotasi secara lengkap (Rath and Prasad, 2017).

Salah satu enzim antioksidan pada *D. melanogaster* yang berperan penting dalam mengurangi stres oksidatif yang disebabkan oleh hidrogen peroksida (H_2O_2) dengan mengubah H_2O_2 menjadi molekul air dan oksigen adalah *catalase* (*cat*) (Coling *et al.*, 2009). Ketika ditargetkan ke mitokondria, ekspresi berlebih dari *catalase* dapat menurunkan pelepasan H_2O_2 sebesar 90% di jalur transgenik. Menurut Klichko *et al.*, 2004, dengan menggunakan hewan coba tikus didapatkan bahwa saat terjadi peningkatan ekspresi gen *cat* dalam jaringan paru tikus dapat menghasilkan perlindungan dari hipoksia. Selain itu juga terdapat penelitian dengan menggunakan organisme model *D. melanogaster* dan dibuktikan bahwa saat terjadi peningkatan ekspresi dari gen *cat* dapat memperpanjang masa hidup *D. melanogaster* (Paaby and Schmidt, 2009).

Selain itu, menurut Morrow *et al.*, 2000 salah satu gen yang menarik untuk diteliti terkait penuaan yaitu *hsp22* yang berfungsi menurunkan stres oksidatif yakni *hsps* (*heat shock proteins*). Respon *hsps* dapat menghasilkan toleransi stres dan perlindungan dari kerusakan molekuler yang diinduksi stres. Salah satu jenis *hsps* adalah *hsp22*. Seleksi genetik untuk peningkatan rentang hidup di *D. melanogaster* berkorelasi dengan peningkatan ekspresi *hsp22* pada lalat dewasa (Bhole *et al.*, 2004). Ekspresi berlebih dari *hsp22*

dapat dengan jelas memperpanjang rentang hidup *D. melanogaster* sebesar 15% (Gruenewald *et al.*, 2009).

I.2 Rumusan Masalah

Apakah kurkumin dapat mempengaruhi ekspresi gen *cat* dan *hsp22* pada *Drosophila melanogaster* ?

I.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui efek kurkumin terhadap ekspresi gen *cat* dan *hsp22* pada *Drosophila melanogaster*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Penuaan (*Aging*)

II.1.1 Pengertian

Menurut (*World Health Organization, 2015*) penuaan secara biologis merupakan tahap kerusakan sel yang terjadi seiring dengan bertambahnya usia dan penuaan dapat menyebabkan menurunnya dari fungsi fisiologis tubuh sehingga dapat meningkatkan risiko terkena penyakit, hingga kematian. Hasil dari penuaan sel ditandai dengan penuaan replikatif, 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 sering juga disebut jalur terakhir sel untuk membelah secara aktif. Penuaan terjadi karena proses biologis yang tak terhindarkan terkait dengan perubahan degeneratif pada tingkat seluler dan organik yang mengakibatkan berbagai penyakit degeneratif bahkan kematian pada populasi lanjut usia.

Kemajuan dalam pemahaman ilmiah tentang mekanisme dasar penuaan meningkatkan kemungkinan penundaan proses penuaan dan meningkatkan kualitas hidup manusia. Berdasarkan beberapa referensi, 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. Pembatasan kalori (*Caloric Restriction*) yang digunakan sebagai kontrol energi merupakan sistem yang baik dalam mengatur nutrisi, sejauh ini pembatasan kalori menjadi hal paling efektif yang dapat memperpanjang umur pada organisme. Beberapa penelitian telah mengungkap hal yang luar biasa, efek pembatasan kalori terhadap penuaan dan perpanjangan umur di berbagai hewan uji seperti jamur, cacing, lalat, ikan, dan bahkan mamalia seperti tikus. Selain itu, penelitian terhadap mamalia tingkat tinggi seperti primata (bukan manusia) dan manusia mengungkapkan pengaruh *caloric restriction* dalam menunda berbagai penyakit terkait penuaan. Efek yang paling menguntungkan dalam pembatasan kalori pada penelitian hewan percobaan memiliki hasil yang meyakinkan antara pembatasan kalori dan penundaan penuaan atau perpanjangan umur.

Salah satu kendala dalam melakukan penelitian *anti aging* yaitu dengan menggunakan subjek manusia karena adanya keterbatasan etik serta diperlukan diet jangka panjang yang harus dilakukan seumur hidup, hal ini bisa jauh lebih mudah dilakukan dalam studi menggunakan hewan coba (Tollefsbol, 1993).

II.1.2 Karakteristik Penuaan

Karakteristik penuaan dapat dikelompokkan dalam tiga kategori, yaitu :

1. Tanda utama

Tanda utama penuaan memiliki efek negatif pada fungsi sel normal dan dianggap sebagai penyebab utama dari kerusakan sel yang termasuk dalam kelompok ini yaitu ketidakstabilan gen, erosi telomere, perubahan epigenetik, disfungsi mitokondria, dan hilangnya proteostasis (Maruzs *et al.*, 2019).

2. Tanda antagonis

Tanda ini timbul akibat dari kerusakan yang terakumulasi melalui proses kompensasi pada tanda utama yang termasuk dalam kelompok ini yaitu penginderaan nutrisi yang berubah dan penuaan seluler. Pada awalnya mekanisme ini akan mengurangi terjadinya kerusakan, namun setelah mencapai tingkat kronis mekanisme ini kemudian akan merusak mekanisme target dan menyebabkan terjadinya kerusakan oleh sel itu sendiri (Maruzs *et al.*, 2019).

3. Tanda negatif

Tanda negatif penuaan yaitu kelelahan sel induk dan perubahan komunikasi antar sel yang akan bertanggung jawab atas penurunan fungsional selama penuaan (Maruzs *et al.*, 2019).

II.1.3 Mekanisme penuaan

Mekanisme penuaan secara molekuler dapat dikategorikan menjadi beberapa kelompok, yaitu :

1. Kerusakan dan perbaikan DNA

Beberapa faktor yang dapat menyebabkan kerusakan DNA yaitu kesalahan replikasi, stres intrinsik akibat ROS dan stres intrinsik seperti sinar UV dan cahaya. Sebagian besar kerusakan DNA dapat dideteksi dan diperbaiki melalui DNA *Damage Response* (DDR) yang melibatkan pensinyalan ATM dan p53. Namun, kerusakan yang lebih kompleks tidak dapat diperbaiki dan menyebabkan terjadinya akumulasi sehingga terjadi apoptosis, penuaan seluler hingga kanker (McAuley *et al.*, 2017).

2. Pemendekan telomer

Urutan DNA berulang yang melindungi ujung kromosom linear merupakan fungsi dari telomer. Pada sel somatik manusia, telomer memendek pada setiap pembelahan sel. Telomer yang pendek akan memicu terjadinya penuaan replikatif. Beberapa penelitian terkait mekanisme pemendekan telomer dengan penuaan telah dilaporkan diantaranya karena adanya pemendekan telomer bersama dengan terjadinya kerusakan mitokondria, dan individu dengan telomer pendek memiliki resiko aterosklerosis yang lebih tinggi. Laju pemendekan telomer dapat dipengaruhi oleh adanya stres oksidatif dan spesies radikal bebas (McAuley *et al.*, 2017).

3. Kehilangan protein homeostasis

Protein homeostasis berperan penting dalam fungsi seluler karena berperan dalam sintesis protein, pelipatan dan pelapisan tulang. Kerusakan protein dapat terjadi karena adanya peningkatan protein teroksidasi seiring bertambahnya usia. Hal ini akan menyebabkan kerusakan oksidatif terhadap protein (McAuley *et al.*, 2017).

4. Jalur degradasi protein

Jalur utama degradasi protein dibagi menjadi sistem autofagi dan sistem proteasome. Kedua sistem ini dapat menyebabkan hilangnya protein yang rusak oleh 20 sroteasom atau ubiquitin/proteasome system atau UPS. Namun, efisiensi UPS akan menurun seiring dengan bertambahnya usia yang menyebabkan terjadinya penumpukan protein yang rusak (McAuley *et al.*, 2017).

5. Kerusakan mitokondria dan ROS

Beberapa penelitian mengungkapkan hubungan antara peningkatan kadar ROS dan disfungsi mitokondria dengan usia dan penyakit. Salah satunya yaitu mekanisme hubungan antara disfungsi penanganan kalsium dan peningkatan produksi ROS oleh mitokondria karena adanya peningkatan kadar natrium sitosol yang terlihat pada kardiomyosit tua (McAuley *et al.*, 2017).

II.2 Kurkumin

Kurkumin merupakan senyawa yang sangat *pleiotropic* yang dapat berinteraksi dengan banyak molekul target (Zhou *et al.*, 2011). Pada beberapa studi ditemukan bahwa efek kurkumin dapat melindungi sel terhadap stres oksidatif pada beberapa pengujian dengan menginduksikan H₂O₂ diperoleh bahwa kurkumin dapat mencegah kerusakan sel dan meningkatkan kelangsungan hidup sel hewan coba, terutama pada sel DNA dan apoptosis (Abrahams *et al.*, 2019).

Pada suatu penelitian diperoleh bahwa kurkumin berfungsi sebagai agen anti-inflamasi dan antioksidan (Deogade and Ghate, 2015). Kurkumin dengan 0,01% b/b menghasilkan peningkatan kesehatan dan masa hidup lalat buah (Evangelakou *et al.*, 2019). Fungsi tersebut dikarenakan kurkumin memiliki gugus hidroksil dan metoksi (Rahman and Biswas, 2009). Senyawa ini memungkinkan regulasi negatif interleukin proinflamasi (IL-1,2,6,8, dan 12), sitokin (Tumor Necrosis Factor-alpha atau TNF-alpha), monosit chemoattractant protein dengan menyebabkan down-regulation dari jalur persinyalan *Janus kinase and signal transducer and activator of transcription* (JAK/STAT). Disebutkan juga bahwa kurkumin mengatur respons inflamasi dengan menurunkan aktivitas enzim oksida nitrat sintase, siklooksigenase-2 (COX-2), lipoksigenase, dan xantin oksidase, dengan demikian kurkumin dapat menekan aktivasi NF-kB (Rahman dan Biswas, 2009).

Kurkumin dinyatakan menunjukkan efektivitasnya dengan menghambat proliferasi sel inflamasi, metastasis, dan angiogenesis melalui berbagai target molekuler (Shehzad *et al.*,2013). Studi skala besar telah menunjukkan bahwa peradangan mengubah jalur pensinyalan, hal ini berhubungan dengan peningkatan biomarker inflamasi, peroksida lipid, dan radikal bebas. Peradangan akut dan kronis merupakan faktor risiko penting untuk penyakit kardiovaskular dan penyakit neurodegeneratif. Kurkumin dianggap efektif pada patogenesis target molekuler dengan tujuan pencegahan dan pengobatan penyakit. Disebutkan bahwa modulasi target molekuler yang berperan dalam proses pembentukan penyakit ini dapat tercapai. Telah terbukti, misalnya, bahwa perkembangan tumor dapat ditekan dengan menekan jalur sinyal sel kanker (Devassy *et al.*,2015).

Kurkumin dianggap efektif dalam hal penuaan dengan cara mencegah perubahan protein sel yang terjadi karena penuaan. Oleh karena itu, diindikasikan bahwa kurkumin dapat membantu mempertahankan homeostasis protein dan efektif dalam pencegahan penyakit terkait penuaan (Monroy *et al.*,2013). Selain itu, kurkumin memiliki sifat anti radikal bebas yang berasal dari oksigen. Dengan demikian, kurkumin dapat berfungsi sebagai agen neuroprotektif potensial (Nabiuni *et al.*,2011).

II.3 *Drosophila melanogaster*

Drosophila melanogaster merupakan salah satu jenis hewan uji yang sering digunakan dalam penelitian. *Drosophila* memiliki tubuh yang mirip dengan serangga lain yaitu tersegmentasi. Beberapa segmen membentuk

kepala, 3 segmen membentuk dada dan 8 segmen membentuk abdomen (Verma and Singh, 2020).

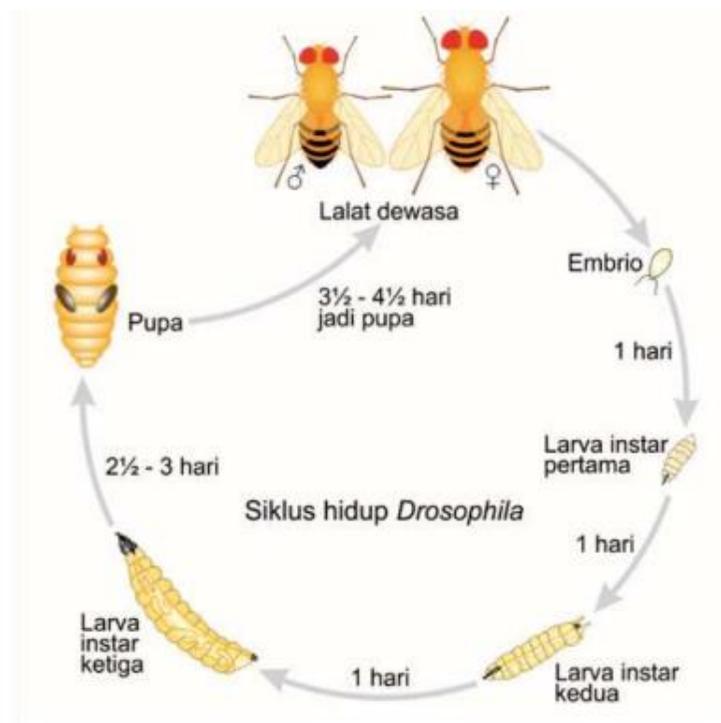
Drosophila melanogaster memiliki cincin hitam melintang pada abdomen. Untuk membedakan jenis kelamin lalat, dapat dilihat adanya bercak hitam pada bagian ujung abdomen lalat jantan sedangkan lalat betina hanya memiliki cincin hitam tanpa adanya bercak pada ujung abdomen. Lalat jantan memiliki *sex combs* dan deretan bulu gelap di tarsus kaki pertama. Lalat jantan juga memiliki sekelompok rambut runcing yang mengelilingi anus dan alat kelamin (Verma and Singh, 2020).

Klasifikasi *D. melanogaster* sebagai berikut :

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

D. melanogaster memiliki siklus hidup yang terdiri dari beberapa tahapan, diantaranya embryogenesis, tiga fase larva, fase pupa, dan fase dewasa. Waktu yang diperlukan untuk perkembangan lengkap yaitu 8-9 hari pada suhu 25°C. Lalat betina mampu bertelur hingga sekitar 400 telur. Telur dengan panjang sekitar 0,5 mm akan menetas setelah 20-22 jam pada suhu 25°C. Larva instar pertama (*first instar*) yang dihasilkan kemudian tumbuh sekitar 3

hari sambil berganti kulit menjadi larva instar kedua (*second instar*) dan ketiga (*third instar*), masing-masing sekitar 24 dan 48 jam setelah eksklusi. Larva kemudian mengalami metamorfosis selama 4 hari pada suhu 25°C dengan membungkus puparium yang tidak bergerak. Setelah proses metamorfosis, lalat baru akan muncul (Verma and Singh, 2020).



Gambar 1. Siklus hidup *Drosophila melanogaster* (Nainu, 2018)

D. melanogaster merupakan organisme model yang banyak digunakan dalam penelitian karena memiliki banyak keunggulan, diantaranya masa hidup yang pendek (berkisar umur 2-3 bulan), pemeliharaan yang mudah, efektif dalam penelitian genetik dengan kemudahan untuk melakukan manipulasi genetik sehingga sangat baik digunakan dalam penelitian terkait penuaan (Sun *et al.*, 2013).

Selain itu, *D. melanogaster* telah terbukti dapat digunakan dalam penelitian terkait *aging* karena memiliki umur yang relatif singkat dibandingkan hewan uji lain (Nainu, 2018). *D. melanogaster* juga memiliki kemiripan dengan manusia dalam berbagai jalur metabolisme utama, termasuk jalur modulasi penuaan potensial seperti stres oksidatif, perbaikan DNA, dan pensinyalan insulin (Jafari, 2010).

Dalam penelitian terkait penuaan dengan *D. melanogaster*, parameter yang dapat diuji yaitu dengan pengamatan masa hidup serta melalui pendekatan genetik. Pengamatan ini dipilih untuk mengidentifikasi mekanisme fisiologis dari penuaan dengan analisis terhadap fenotip yang memengaruhi masa hidup dan respon perilaku lalat (Rath, 2017).

II.4 Reactive Oxygen Species (ROS)

Setiap sel dalam tubuh memiliki proses metabolisme yang menghasilkan radikal bebas dan ditandai dengan pembentukan reactive oxygen species (ROS). Radikal bebas dapat terbentuk karena dipicu oleh adanya stressor seperti sinar ultraviolet, radiasi, serta aktivitas fisik. Radikal bebas dapat memicu terbentuknya stres oksidatif. Stres oksidatif adalah ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan di mana jumlah radikal bebas lebih besar dibandingkan dengan antioksidan. Stres oksidatif berhubungan erat dengan proses inflamasi sistemik, proliferasi sel endotel, apoptosis serta vasokonstriksi. Stres oksidatif memiliki peran dalam terjadinya berbagai penyakit khususnya penyakit degeneratif seperti kanker dan diabetes mellitus (Theodora *et al.*, 2017).

Radikal bebas dikenal dengan istilah yang cukup populer di kalangan tenaga kesehatan profesional. Beberapa tahun terakhir, istilah tersebut semakin sering digunakan dan mulai menyita perhatian publik, khususnya masyarakat yang memiliki kepedulian pada kesehatan. Beberapa penelitian mengungkapkan peran dari stres oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas dalam berbagai macam penyakit yang sangat berbahaya, seperti penyakit yang berhubungan dengan kardiovaskular dan penyakit degeneratif (Tchouya, 2014).

Radikal bebas dibentuk dari atom atau molekul yang mempunyai elektron yang tidak berpasangan. Elektron yang tidak berpasangan sangat reaktif kemudian akan menangkap atau mengambil elektron dari senyawa lain seperti lipid, protein, karbohidrat, dan DNA untuk menetralkan diri. Radikal bebas dapat masuk ke dalam tubuh manusia dan menyerang sel-sel yang sehat dan menyebabkan sel-sel tersebut kehilangan fungsi dan strukturnya. Radikal bebas diketahui dapat menyebabkan penyakit degeneratif penuaan sebagai faktor utama penyebab kanker, gangguan kardiovaskular dan diabetes (Liochev, 2013; Radojkovic, 2012).

II.5 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga dapat menghambat kerusakan sel. Secara kimiawi senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi elektron sedangkan secara biologis antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkal atau meredam dampak negatif

oksidan dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat dihambat (Sayuti *et al.*, 2015).

Antioksidan secara alami telah diproduksi dalam tubuh untuk mengimbangi jumlah oksidan yang telah masuk ke dalam tubuh namun dikarenakan jumlah oksigen yang masuk melebihi batas kemampuan dari antioksidan alami tubuh, maka diperlukan antioksidan lain yang berasal dari luar tubuh. Antioksidan yang berasal dari luar tubuh dapat diperoleh dalam bentuk sintetik maupun berasal dari bahan alam. Antioksidan sintetik sudah banyak digunakan seperti *buthylated hydroxytoluene* (BHT), *buthylated hidroksianisol* (BHA), dan *ters-buthyl hydroquinone* (TBHQ) secara efektif dapat menghambat oksidasi. Namun, penggunaan antioksidan sintesis dapat menyebabkan racun dalam tubuh dan bersifat karsinogenik saat digunakan secara berlebihan sehingga dibutuhkan alternatif antioksidan lain yang aman digunakan (Wulansari, 2018).

Proses perusakan sel dapat dihentikan dengan adanya antioksidan dengan cara memberikan elektron kepada radikal bebas. Antioksidan akan menetralkan radikal bebas sehingga tidak mempunyai kemampuan lagi mencuri elektron dari sel dan DNA. Mekanisme antioksidan dalam menghambat oksidasi atau menghentikan reaksi berantai radikal bebas dari lemak yang teroksidasi, dapat disebabkan oleh empat macam mekanisme reaksi yaitu pelepasan hidrogen dari antioksidan, pelepasan elektron dari antioksidan, adisi asam lemak ke cincin aromatik pada antioksidan dan

pembentuk senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan (Sayuti *et al.*, 2015).

II.5.1 Jenis-jenis Antioksidan

Antioksidan berdasarkan mekanisme kerjanya dapat dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu:

1. Antioksidan Primer (Antioksidan Endogen)

Antioksidan primer disebut juga antioksidan endogen yaitu suatu senyawa yang bekerja dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru, atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi molekul yang kurang reaktif. Antioksidan primer meliputi enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, glutathion peroksidase (GSH-PX) dan glutathion reduktase (GSH-R). Enzim tersebut bekerja dengan cara melindungi jaringan dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas, oksigen seperti anion superoksida (O_2^-), radikal hidroksil (OH) dan hidrogen peroksida (H_2O_2) (Winarsi, 2007).

2. Antioksidan Sekunder (Antioksidan Eksogen)

Antioksidan sekunder disebut juga antioksidan non-enzimatis. Antioksidan non-enzimatis banyak ditemukan dalam sayuran dan buah-buahan. Komponen yang bersifat antioksidan dalam sayuran dan buah-buahan meliputi vitamin C, vitamin E, β -karoten, flavonoid, isoflavon, flavon, antosianin, katekin dan isokatekin. Kerja sistem antioksidan non-enzimatis yaitu dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas.

Akibatnya, radikal bebas tidak akan bereaksi dengan komponen seluler (Winarsi, 2007).

3. Antioksidan Tersier

Antioksidan tersier meliputi sistem enzim *DNA-Repair* dan metionin sulfoksida reduktase. Enzim-enzim ini berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat reaktivitas radikal bebas. Kerusakan DNA yang terinduksi senyawa radikal bebas dicirikan oleh rusaknya *Single* dan *Double strand* baik gugus non-basa maupun basa (Winarsi, 2007).

II.5.2 Fungsi Antioksidan

Fungsi utama antioksidan adalah untuk memperkecil terjadinya proses oksidasi baik dalam makanan maupun dalam tubuh. Antioksidan dalam makanan berfungsi menghambat oksidasi dari lemak dan minyak, memperkecil terjadinya proses kerusakan dalam makanan, memperpanjang masa pemakaian dalam industri makanan, meningkatkan stabilitas lemak yang terkandung dalam makanan serta mencegah hilangnya kualitas sensori dan nutrisi, sedangkan antioksidan dalam tubuh dapat menghambat proses oksidasi yang terjadi secara terus-menerus yang dapat menimbulkan berbagai penyakit degeneratif dan penuaan dini (Sayuti *et al.*, 2015).

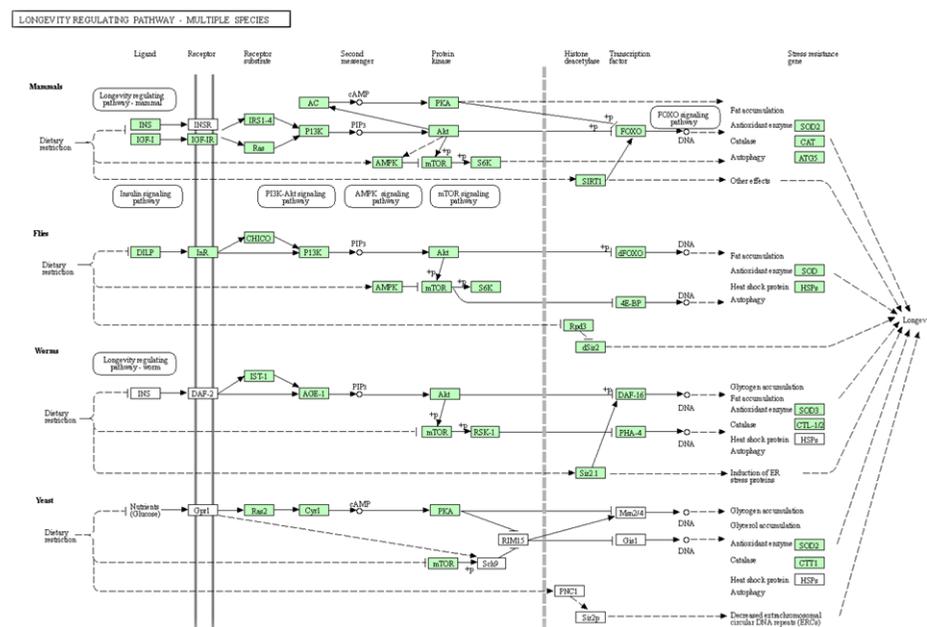
II.6 Gen

II.6.1 *Cat*

Salah satu enzim antioksidan terpenting yang terdapat pada hampir semua organisme *aerobic* yaitu katalase (*Cat*). Enzim katalase bekerja dengan cara memecah dua molekul hidrogen peroksida menjadi satu molekul oksigen dan dua molekul air melalui (Nandi *et al.*, 2019).

Gen yang mengkode enzim katalase adalah gen *cat* yang ditempatkan pada kromosom 11 pada manusia (Nandi *et al.*, 2019), dan pada kromosom 3L pada *D. melanogaster*. Beberapa penelitian melaporkan bahwa gen *cat* memiliki efek yang baik pada penuaan, peningkatan ekspresi gen *cat* dapat menyebabkan peningkatan umur (Hall *et al.*, 2019).

Jalur persinyalan dari gen *cat* yang berhubungan dalam proses anti aging yaitu sebagai berikut :



Gambar 2. Signaling pathway gen *cat* terkait penuaan (Flybase)

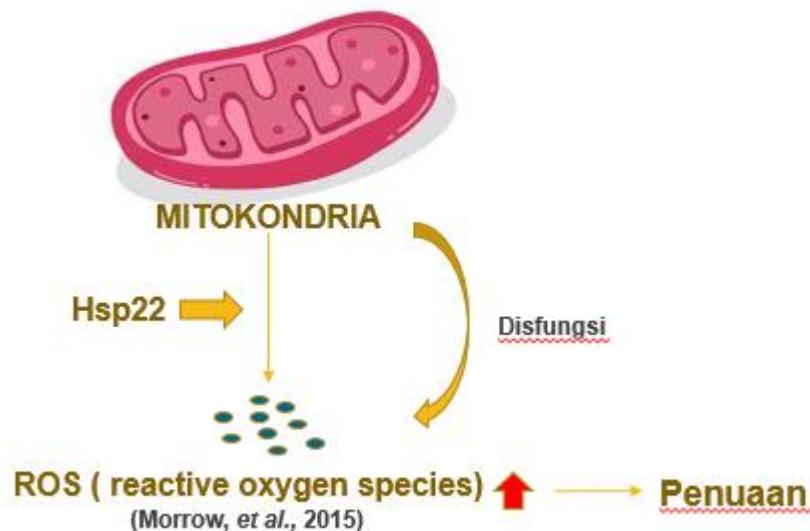
Pembatasan kalori dan penurunan regulasi genetik IIS (*Insulin/Insulin like growth factor signaling*) dan TOR (*Target of Rapamycin*) secara substansial dapat meningkatkan masa hidup pada organisme model. Pada cacing, lalat, dan mamalia *dietary restriction* mengurangi pensinyalan IIS/TOR, menonaktifkan kaskade pensinyalan intraseluler PI3k/Akt/TOR, dan mengaktifkan faktor transkripsi antipenuaan *family* FOXO. Faktor transkripsi ini kemudian akan mentransaktivasi gen yang terlibat dalam resistensi terhadap stres oksidatif, metabolisme energi, perbaikan kerusakan DNA, metabolisme glukosa, autofagi, dan perlindungan protein pendamping (*Flybase*).

II.6.2 Hsp22

Salah satu gen yang berfungsi untuk menurunkan stres oksidatif adalah *hsps* (*heat shock proteins*). Respon *hsps* dapat menghasilkan toleransi stres dan perlindungan dari kerusakan molekuler yang diinduksi stres. Salah satu jenis *hsps* adalah *hsp22*. Penelitian terkait gen untuk peningkatan rentang hidup di *Drosophila melanogaster* telah berkorelasi dengan peningkatan ekspresi *hsp22* pada lalat dewasa (Bhole *et al.*, 2004). Ekspresi berlebih dari *hsp22* dapat dengan jelas memperpanjang rentang hidup *D. melanogaster* sebesar 15% (Gruenewald *et al.*, 2009).

Mitokondria terlibat dalam banyak proses seluler utama dan oleh karena itu perlu adanya kontrol kualitas protein (PQC) yang baik. Tiga jenis mekanisme tersedia untuk memastikan integritas protein mitokondria: spesies oksigen reaktif yang diurai oleh enzim antioksidan, pelipatan/degradasi protein

oleh molekul pendamping dan protease, dan pembersihan mitokondria yang rusak oleh mitofag. *Hsp22* adalah bagian dari sumbu pendamping molekul dari PQC dan dicirikan oleh lokalisasi intramitokondria dan ekspresi preferensial selama penuaan. Sebagai biomarker stres, tingkat ekspresinya selama penuaan telah terbukti sebagian memprediksi sisa umur lalat. Hal tersebut dikarenakan ekspresi berlebih dari protein *heat shock* kecil ini meningkatkan umur dan ketahanan terhadap stres, *Hsp22* kemungkinan besar memiliki efek positif pada integritas mitokondria. Dengan demikian, *Hsp22* terlibat dalam respons protein mitokondria lalat (Morrow *et al.*, 2000).



Gambar 3. Signaling pathway gen *Hsp22* terkait penuaan (Morrow *et al.*, 2000)

Aktivasi *Hsp22* dapat meningkatkan ketahanan terhadap stres dan rentang kesehatan makhluk hidup dengan mekanisme mencegah kerusakan protein di mitokondria. Metabolisme mitokondria yang berkurang telah dikaitkan dengan ekspresi *Hsp22* menunjukkan bahwa sHSP ini juga dapat

mempengaruhi pensinyalan mitokondria-ke-inti melalui penurunan produksi ROS (Tower et al., 2014).

Hsp22 adalah salah satu dari sedikit sHSP yang ditemukan di dalam mitokondria secara independen dari lingkungan seluler bersama dengan sHSP mitokondria tanaman (Waters, 2013) dan *C. elegans Hsp17* (Ezemaduka et al., 2014). Situasi pada mamalia berbeda karena semua sHSP terutama terletak di sitoplasma dan berpindah ke organel yang berbeda (Nakagawa et al., 2001).