

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN KAFEIN TERHADAP
EKSPRESI GEN *dpt* DAN *cat* PADA MODEL
AUTOINFLAMASI *Drosophila melanogaster***

**THE EFFECT OF CAFFEINE ON *dpt* AND *cat* GENE
EXPRESSION IN *Drosophila melanogaster*
AUTOINFLAMMATORY MODEL**

Disusun dan diajukan oleh

**MEGA MUSTOFATUN TUMADA WAODE
N011 18 1368**



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

**PENGARUH PEMBERIAN KAFEIN TERHADAP EKSPRESI GEN *dpt* DAN
cat PADA MODEL AUTOINFLAMASI *Drosophila melanogaster***

**THE EFFECT OF CAFFEINE ON *dpt* AND *cat* GENE EXPRESSION IN
Drosophila melanogaster AUTOINFLAMMATORY MODEL**

SKRIPSI

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

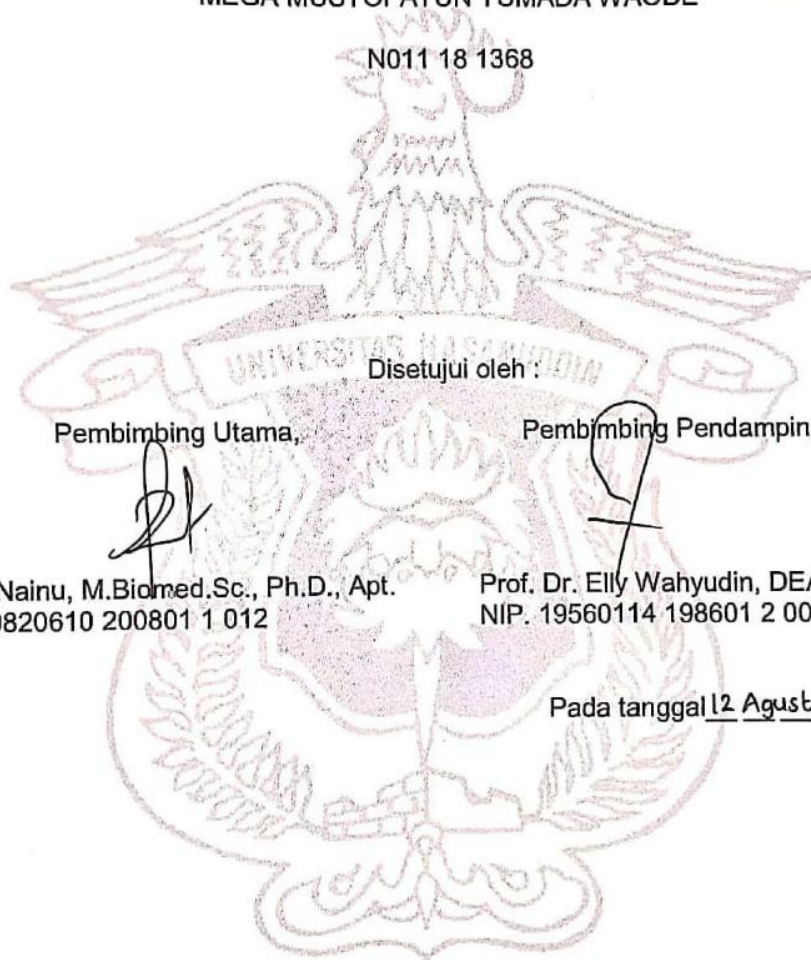
**MEGA MUSTOFATUN TUMADA WAODE
N011 18 1368**

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

PENGARUH PEMBERIAN KAFEIN TERHADAP EKSPRESI GEN *dpt* DAN
cat PADA MODEL AUTOINFLAMASI *Drosophila melanogaster*

MEGA MUSTOFATUN TUMADA WAODE

N011 18 1368



Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

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

Prof. Dr. Ely Wahyudin, DEA., Apt.
NIP. 19560114 198601 2 001

Pada tanggal 12 Agustus 2022

LEMBAR PENGESAHAN

PENGARUH PEMBERIAN KAFEIN TERHADAP EKSPRESI GEN *dpt* DAN *cat* PADA MODEL AUTOINFLAMASI *Drosophila melanogaster*

THE EFFECT OF CAFFEINE ON *dpt* AND *cat* GENE EXPRESSION IN *Drosophila melanogaster* AUTOINFLAMMATORY MODEL

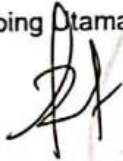
Disusun dan diajukan oleh :

MEGA MUSTOFATUN TUMADA WAODE
N011 18 1368

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin pada tanggal 12 Agustus 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,



Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt.
NIP. 19560114 198601 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 : Mega Mustofatun Tumada Waode
NIM : N011181368
Program Studi : Farmasi
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul "Pengaruh Pemberian Kafein Terhadap Ekspresi Gen *dpt* dan *cat* pada Model Autoinflamasi *Drosophila melanogaster*" adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila dikemudian hari Skripsi karya saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 12 Agustus 2022

Yang Menyatakan

Mega Mustofatun Tumada Waode



UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah rabbi'alamin, segala Puji bagi Allah SWT atas segala nikmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini. Salawat dan salam tidak lupa selalu tercurahkan kepada nabi besar Muhammad *shallallahu 'alaihi wa sallam* beserta keluarga, sahabat dan para pengikutnya yang insyaaAllah selalu istiqomah dijalannya hingga yaumul akhir *Aamiin Yarabba'alaamin*.

Dalam proses penyusunan skripsi ini, penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini tidak akan berjalan dengan baik tanpa adanya arahan, bantuan, dukungan, motivasi dan sumbangan pemikiran dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan banyak terima kasih yang sebesar-besarnya kepada yang terhormat :

1. Bapak Firzan Nainu, S.Si., M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt. selaku pembimbing utama yang telah membimbing, memberikan arahan dan motivasi, yang telah meluangkan waktu kepada penulis, memberi petunjuk dan saran dengan segala pemikirannya yang telah membantu sejak perencanaan penelitian hingga selesainya penyusunan skripsi ini.
2. Ibu Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah membimbing, memberikan masukan serta saran dan telah meluangkan waktu kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
3. Ibu Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt dan Bapak Anshar Saud, S.Si., M.Farm., Apt. selaku tim penguji yang telah meluangkan waktu untuk

memberikan saran dan masukan yang membangun kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.

4. Bapak Ismail, S.Si., M.Si., Apt. selaku penasehat akademik atas segala perhatian, nasihat, saran, dan bantuannya selama penulis duduk dibangku perkuliahan.
5. Dekan, Wakil Dekan, seluruh staf dosen dan pegawai Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas ilmu, bantuan, dan fasilitas yang diberikan kepada penulis selama menempuh studi hingga menyelesaikan skripsi ini.
6. Kedua orang tua tercinta, Ibu Wa Ode Zaliha dan Bapak Laode Toma atas kasih sayang yang tak terhingga, segala do'a yang terus mengalir dan segala pengorbanan yang telah diberikan dalam bentuk dukungan, nasehat, motivasi, materi, perhatian, arahan, kesabaran dan menjadi orang tua yang sangat luar biasa bagi penulis.
7. Kakak-kakak tersayang, Briptu. La Ode Abdul Malik, S.Sos., Letda.Tek. La Ode Anto Sa'ban, S.Tr.Han., Wa Ode Azmani Asyura, S.pd., Wa Ode Zatma Ramadhan, S.kep.,Ns., Muh. Untung Toha, dan La Ode Thalib Muharram yang telah memberikan banyak dukungan, semangat, arahan dan nasehat kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
8. Teman-teman UFRG, terutama Nurfadillah Asfa dan Asbah yang telah memberikan banyak bantuan dan dukungan, Sindy Akliana, kak Reski Amalia Rosa, dan kak Nur Rahma Rumata yang selalu memberikan ilmu, bantuan dan arahnya, serta tim UFRGempi Andi Zaldy Fazrul R,


Ahmad Shayful Widyanto, Muh. Nur Usri Yusra A, dan Muh. Khadafi Anugrah Pratama yang telah memberikan dukungan, bantuan dan selalu kompak dalam menyelesaikan penelitian ini.

9. My Support System, Yudi Saputra S.E. yang selalu memberikan banyak-banyak dukungan, nasehat, motivasi, arahan dan semangat, serta selalu ada dalam keadaan apapun kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
10. Teman-teman angkatan 2018 (GEMFIBROZIL), yang telah memberikan banyak kenangan, kebersamaan, kekompakan, dan cerita indah yang tidak akan terlupakan selama menjadi mahasiswi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
11. Teman-teman GNL, terutama Nurul Fariska yang selalu memberikan banyak semangat serta dukungan, Jesica Alvianti, Nanda Floren Dadang, Andi Anita Zahra, Andi Putri Adiba Syafira M, Ninse Parenden, Indira Kadir, Anisa Habibie P, dan Seile Baharudin yang telah memberikan banyak semangat dan dukungan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini, serta banyak kenangan indah yang tidak terlupakan.
12. Teman-teman Kost Pondok Putri Amelia, Asbah, Asra, Yindriani Moghuri, Kak Husnul Khatima, Kak Adila, Fifi, Karin, Kak Dwi yang telah memberikan banyak semangat, dukungan, banyak canda tawa dan nasehat kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
13. Terima kasih kepada diri sendiri, karena telah mampu berjuang melewati

masa-masa sulit, melewati banyak tekanan, kuat menghadapi banyak rintangan dan mengatasi mood yang berubah-ubah, selalu siap dan tegar dalam keadaan apapun, dan terima kasih banyak-banyak kepada diri sendiri karena sudah bertahan sampai sejauh ini, sudah melewati semua ini, selalu bersyukur sudah mencapai salah satu dari impian besar didalam hidup.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan masukan yang membangun demi memperbaiki segala kekurangan dan kelemahan dalam skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi kita semua terutama untuk para peneliti selanjutnya dan para pembaca, serta dapat berkontribusi dibidang kesehatan khususnya bidang kefarmasian *Aamiin ya rabbal'alaminn*.

Makassar, 12 Agustus 2022



Mega Mustofatun Tumada Waode

ABSTRAK

MEGA MUSTOFATUN TUMADA WAODE. Pengaruh Pemberian Kafein Terhadap Ekspresi Gen *dpt* dan *cat* Pada Model Autoinflamasi *Drosophila melanogaster* (dibimbing oleh Firzan Nainu dan Elly Wahyudin).

Autoinflamasi merupakan penyakit yang menyebabkan peradangan terjadi secara terus menerus yang disebabkan oleh aktivasi secara berulang pada sistem kekebalan tubuh bawaan. Autoinflamasi dapat disebabkan oleh terjadinya peningkatan produksi sitokin proinflamasi secara berlebihan dan peningkatan produksi dari *Reactive Oxygen Species* (ROS). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian kafein terhadap ekspresi gen *dpt* dan *cat* pada model autoinflamasi *Drosophila melanogaster*. Pada penelitian ini digunakan lima kelompok uji, diantaranya kontrol tanpa perlakuan, pemberian kafein dengan konsentrasi 0,08 mM, 0,016 mM, 0,0032 mM dan 0,00064 mM. Pengujian ini dilakukan dengan melihat ekspresi gen *dpt* dan *cat* dari *D.melanogaster* jenis mutan PGRP-LB jantan dengan menggunakan metode RTq-PCR. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian kafein dapat menurunkan ekspresi gen *dpt* secara signifikan pada semua konsentrasi, serta dapat meningkatkan ekspresi gen *cat* secara signifikan pada konsentrasi 0,0032 mM. Kesimpulan pada penelitian ini yaitu kafein dapat berpengaruh pada level ekspresi gen yakni dapat menurunkan ekspresi gen *dpt* dan dapat meningkatkan ekspresi gen *cat* pada *Drosophila melanogaster*.

Kata Kunci : Kafein, Autoinflamasi, *Drosophila melanogaster*, *dpt*, *cat*.

ABSTRACT

MEGA MUSTOFATUN TUMADA WAODE. *Effect of Caffeine Administration on the Expression Autoinflammation in of Model Drosophila melanogaster (supervised by Firzan Nainu and Elly Wahyudin).*

Autoinflammation is a disease that causes inflammation to occur continuously caused by repeated activation of the innate immune system. Autoinflammation can be caused by an excessive increase in the production of proinflammatory cytokines and increased production of *Reactive Oxygen Species* (ROS). The aim of this study was to determine the effect of caffeine administration on the expression of *Drosophila melanogaster* gene expression of *Drosophila in* autoinflammation model *melanogaster*. In this study, five test groups were used, including control without treatment, giving caffeine with a concentration of 0.08 mM, 0.016 mM, 0.0032 mM and 0.00064 mM. This test was carried out by looking at the expression of the reproducible and cat genes *mutant* PGRP - LB of *male* *D.melanogaster* using the RTq-PCR method. The results showed that the administration of caffeine could significantly reduce the expression of the *vet* at all concentrations, and it could significantly increase the expression of the *cat* at a concentration of 0.0032 mM. The conclusion of this study is that caffeine can affect the level of gene expression, namely it can decrease the expression of *melanogaster* and can increase the expression of the *paint* in *Drosophila melanogaster*.

Keywords : Caffeine, Autoinflammation, *Drosophila melanogaster*, *dpt*, *cat*.

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	4
I.3 Tujuan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Autoinflamasi	5
II.1.1 Defenisi Autoinflamasi	5
II.1.2 Mekanisme/Patofisiologi	6
II. 2 Stres Oksidatif	7
II.3 Antioksidan Endogen	9
II.4 AMP (<i>Antimicrobial Peptides</i>)	11
II.5 Kafein	12
II.6 <i>Drosophila melanogaster</i>	14
II.6.1 Deskripsi	14

II.6.2 Mutan PGRP-LB <i>Drosophila melanogaster</i>	14
II.6.3 Siklus Hidup	15
II.7 <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	16
II.8 Data Ekspresi Gen pada <i>Drosophila melanogaster</i>	18
BAB III. METODE PENELITIAN	20
III.1 Alat dan Bahan	20
III.2 Metode Kerja	20
III.2.1 Preparasi Sampel	20
III.2.2 Penyiapan Hewan Uji (<i>Drosophila melanogaster</i>)	21
III.2.3 Pembuatan Pakan <i>Drosophila melanogaster</i>	21
III.2.4 Penyiapan Sampel RNA	22
III.2.5 Analisis Ekspresi Gen	23
III.2.6 Analisis Data	24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	25
IV.1 Pemeriksaan Analisis Ekspresi Gen <i>Diptericin</i> pada <i>Drosophila melanogaster</i>	25
IV.2 Pemeriksaan Analisis Ekspresi Gen Antioksidan Endogen <i>Catalase</i> pada <i>Drosophila melanogaster</i>	27
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	30
V.1 Kesimpulan	30
V.2 Saran	30
DAFTAR PUSTAKA	31
LAMPIRAN	35

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Sekuens primer masing-masing gen	24
2. Hasil <i>one-way anova</i> ekspresi gen <i>dpt</i>	38
3. Hasil uji lanjutan <i>dunnett</i> ekspresi gen <i>dpt</i>	38
4. Hasil <i>one-way anova</i> ekspresi gen <i>cat</i>	38
5. Hasil uji lanjutan <i>dunnett</i> ekspresi gen <i>cat</i>	38

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Mekanisme autoinflamasi	6
2. Stres oksidatif : ketidakseimbangan antioksidan dan radikal bebas	8
3. Mekanisme kerja antioksidan endogen	10
4. Aktivasi <i>Antimicrobial Peptides</i> (AMP)	12
5. Rumus struktur kafein	13
6. Siklus hidup <i>D. melanogaster</i>	15
7. Prinsip kerja <i>reverse transcription quantitative real-time PCR</i> (RT-qPCR)	17
8. Profil ekspresi gen <i>dpt</i> pada <i>D. melanogaster</i>	18
9. Profil ekspresi gen <i>cat</i> pada <i>D. melanogaster</i>	19
10. Grafik ekspresi gen <i>dpt</i>	25
11. Grafik ekspresi gen <i>cat</i>	28
12. Pembuatan pakan	39
13. Pemisahan lalat jantan	39
14. Melarutkan Sampel Kafein	39
15. Isolasi RNA	39
16. <i>Running real time PCR</i>	39

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Preparasi Sampel	35
2. Penyiapan Hewan Uji	35
3. Pembuatan Pakan	35
4. Penyiapan Pakan Pengujian	36
5. Penyiapan Sampel RNA	36
6. Analisis Ekspresi Gen	37
7. Data Statistik	38
8. Gambar Penelitian	39

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Autoinflamasi merupakan penyakit yang menyebabkan peradangan terjadi secara terus menerus akibat aktivasi secara berulang pada sistem kekebalan tubuh bawaan (Haar *et al.*, 2016). Peradangan yang terjadi secara terus menerus dapat berimplikasi dengan berbagai penyakit seperti gangguan piogenik, penyakit granulomatosa, penyakit vaskulitis, dan gangguan metabolik seperti gout dan diabetes mellitus tipe 2 (Haar *et al.*, 2016 ; Kastner *et al.*, 2010). Salah satu penyebab utama autoinflamasi yaitu terjadi mutasi pada gen yang secara langsung mengatur sitokin proinflamasi, utamanya (IL)-1 β sehingga memicu produksi sitokin yang berlebihan (Kastner *et al.*, 2010). Sitokin diproduksi untuk mengatur dan mempengaruhi respon imun seperti misalnya respon inflamasi. Produksi sitokin yang berlebihan dapat memicu terjadinya respon inflamasi (Kany *et al.*, 2019).

Sitokin proinflamasi dapat menginduksi produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Khansari *et al.*, 2009). ROS diproduksi secara teratur di dalam tubuh, khususnya di mitokondria selama proses respirasi dan metabolisme (Barboza *et al.*, 2017). Namun, produksi ROS yang berlebihan di dalam tubuh dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada berbagai biomolekul seperti DNA, protein, dan lipid sehingga mengakibatkan terjadinya

kerusakan sel, dan akhirnya kematian sel (Irazabal and Torres, 2020 ; Arulselvan *et al.*, 2016). Selain itu, peningkatan ROS di dalam sel juga dapat menyebabkan pelepasan sitokin pro-inflamasi (misalnya TNF- α , IL-1 β , IL-6) yang selanjutnya dapat memicu terjadinya respon inflamasi (Liu *et al.*, 2020).

Di dalam tubuh terdapat antioksidan endogen yang bekerja efektif dalam menangkal dan menetralkan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Antioksidan endogen terdiri dari antioksidan enzimatik salah satunya yaitu catalase (cat). Antioksidan enzimatik ini memiliki efek perlindungan yang efektif terhadap oksidatif aktif seperti ROS. Katalase dapat menetralkan hidrogen peroksida seperti ROS dengan cara menguraikannya menjadi molekul oksigen dan air (He *et al.*, 2017). Peningkatan ROS didalam sel juga dapat memicu produksi AMP (*Antimicrobial Peptides*). AMP adalah sistem imun yang ada pada *Drosophila melanogaster*, salah satunya yaitu Dipterisin (Dpt). Salah satu tanda dari inflamasi yaitu terjadi hiperaktivasi pada jalur NF- κ B yang homolog dengan relish yang ada pada *Drosophila melanogaster*. Terjadinya hiperaktivasi pada jalur NF- κ B dapat memicu peningkatan produksi AMP yang berlebihan (Kounatidis *et al.*, 2017).

Untuk mengatasi peningkatan produksi ROS secara berlebihan, dibutuhkan antioksidan eksogen. Salah satu sumber antioksidan yang berasal dari tumbuhan yaitu kafein. Kafein memiliki berbagai sifat farmakologis, salah satunya yaitu sebagai antioksidan (Kolahdouzan and Hamadeh, 2017). Dimana senyawa antioksidan yang ada dalam kafein

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Autoinflamasi

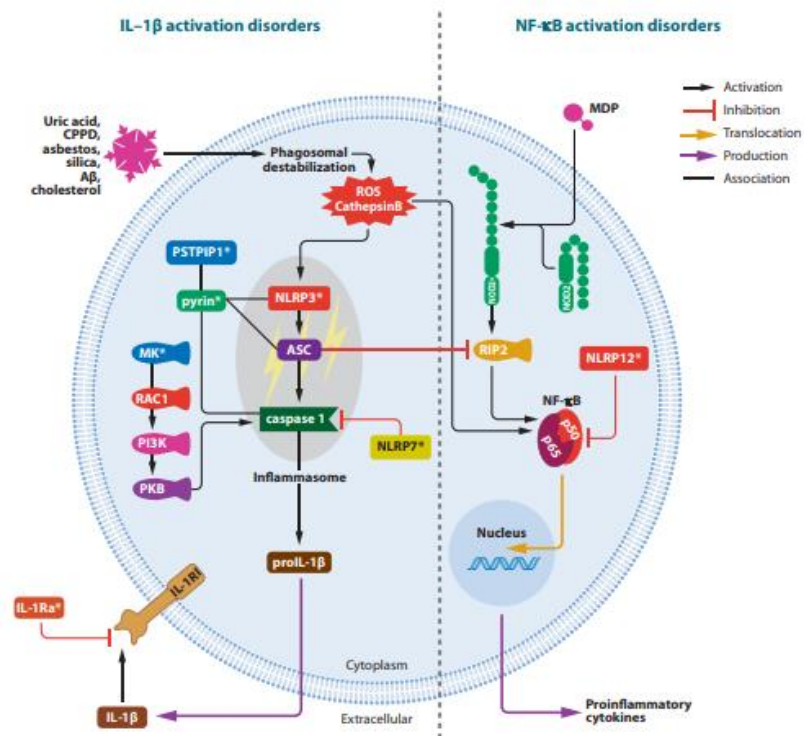
II.1.1 Defenisi Autoinflamasi

Inflamasi atau peradangan merupakan respon alami tubuh terhadap rangsangan dari beberapa faktor seperti infeksi, cedera, dan toksin (Liu *et al.*, 2020). Namun peradangan yang terjadi secara berlebihan dan tidak terkontrol dapat menyebabkan gangguan fungsi normal pada jaringan sel sehingga dapat mengakibatkan berbagai penyakit (Danilov *et al.*, 2015).

Autoinflamasi merupakan penyakit yang menyebabkan peradangan terjadi secara terus menerus yang disebabkan oleh aktivasi secara berulang pada sistem kekebalan tubuh bawaan (Haar *et al.*, 2016). Autoinflamasi merupakan kondisi klinis yang ditandai dengan terjadinya peningkatan inflamasi yang abnormal (Cicarelli *et al.*, 2014). Kondisi ini dapat menyebabkan peradangan sistemik yang dapat mengakibatkan kerusakan pada berbagai organ (Haar *et al.*, 2016). Peradangan yang terjadi secara terus menerus dapat berimplikasi dengan berbagai penyakit seperti gangguan piogenik, penyakit granulomatosa, penyakit vaskulitis, dan gangguan metabolik seperti gout dan diabetes mellitus tipe 2 (Haar *et al.*, 2016 ; Kastner *et al.*, 2010).

II.1.2 Mekanisme/Patofisiologi

Salah satu penyebab utama autoinflamasi yaitu disebabkan oleh mutasi pada gen yang secara langsung mengatur sitokin proinflamasi, sehingga memicu produksi sitokin yang berlebihan (Kastner *et al*, 2010). Selain itu, peningkatan produksi dari *Reactive Oxygen Species* (ROS) di dalam sel juga dapat menyebabkan pelepasan sitokin pro-inflamasi. yang selanjutnya dapat memicu terjadinya respon inflamasi (Liu *et al.*, 2020).



Gambar 1. Mekanisme autoinflamasi (Masters *et al.*, 2009).

Mekanisme terjadinya autoinflamasi dapat disebabkan oleh gangguan aktivasi NF- κ B dan gangguan aktivasi IL-1 β . Produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) akan mengaktivasi NF- κ B. Pada kondisi autoinflamasi, terjadi

mutasi pada NLRP12 yang merupakan regulator negatif dari NF- κ B. Mutasi pada NLRP12 akan menyebabkan terjadinya overaktivasi NF- κ B, sehingga akan menghasilkan produksi sitokin proinflamasi secara berlebihan. Selain itu, pada kondisi autoinflamasi terjadi mutasi pada NLRP7 yang merupakan regulator negatif dari produksi IL-1 β . Sehingga apabila terjadi mutasi pada NLRP7, akan menyebabkan produksi IL-1 β secara berlebihan. Sitokin diproduksi untuk mengontrol aktivasi sistem imun bawaan, sehingga apabila terjadi gangguan pada reseptor sitokin akan menyebabkan terjadinya autoinflamasi (Masters *et al.*, 2009).

II. 2 Stres Oksidatif

Stres oksidatif didefinisikan sebagai suatu kondisi dimana terjadi ketidakseimbangan antara produksi dan eliminasi dari *Reactive Oxygen Species* (ROS) atau penurunan sistem pertahanan antioksidan bawaan tubuh untuk menetralkan atau memperbaikinya sehingga mengakibatkan peningkatan kadar ROS yang berlebihan (Ligouri *et al.*, 2018 ; Kattoor *et al.*, 2017). Stres oksidatif muncul dari peningkatan kadar ROS atau dari penurunan kemampuan perlindungan antioksidan, yang ditandai dengan berkurangnya kapasitas antioksidan endogen untuk melawan serangan oksidatif. Kerusakan akibat radikal bebas dalam stres oksidatif telah dikonfirmasi sebagai kontributor patogenesis dan patofisiologi pada banyak masalah kesehatan (Pisoschi and Pop, 2015).

Reactive Oxygen Species (ROS) diproduksi secara teratur di dalam tubuh, khususnya di mitokondria selama proses respirasi dan metabolisme (Barboza *et al.*, 2017). ROS diproduksi secara teratur sebagai respons terhadap isyarat fisiologis yang bertindak sebagai molekul pensinyalan penting untuk mengatur proses seperti pembelahan sel, fungsi kekebalan, autophagy, dan peradangan. Namun, produksi ROS yang tidak terkontrol menghasilkan kondisi stres oksidatif yang dapat merusak fungsi seluler dan berkontribusi pada berbagai penyakit (Ma, 2013).

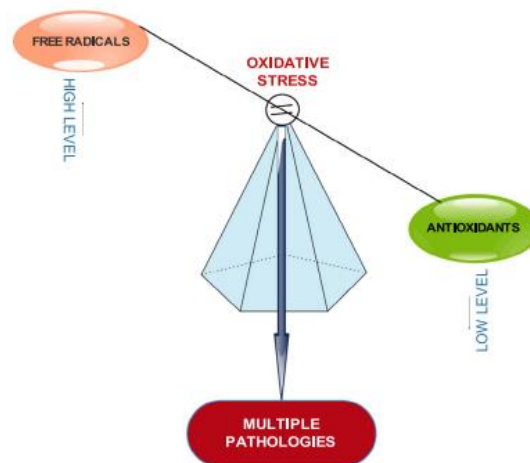


Fig. 1. Oxidative stress: Imbalance between free radicals and antioxidants.

Gambar 2. Stres oksidatif : ketidakseimbangan antioksidan dan radikal bebas (Ighodaro and Akinloye, 2017).

Pada kondisi stres oksidatif terjadi ketidakseimbangan antara tingkat antioksidan dan radikal bebas (oksidan). Hal ini terjadi ketika produksi ROS melebihi tingkat yang dapat diatasi oleh pertahanan antioksidan alami tubuh (Ighodaro and Akinloye, 2017). Terjadinya ketidakseimbangan ini dapat

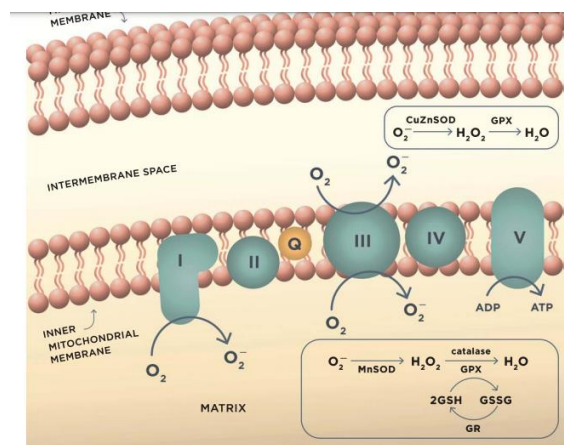
menyebabkan peningkatan kadar ROS yang berlebihan di dalam tubuh, yang selanjutnya dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada berbagai biomolekul seperti DNA, protein, dan lipid sehingga mengakibatkan terjadinya kerusakan sel, dan akhirnya kematian sel yang mengarah ke berbagai kondisi penyakit (Irazabal and Torres, 2020 ; Arulsevan *et al.*, 2016).

II.3 Antioksidan Endogen

Tubuh memiliki enzim antioksidan yang dapat menetralkan kelebihan jumlah *Reactive Oxygen Species* (ROS). Di dalam tubuh terdapat antioksidan endogen yang bekerja efektif dalam menangkal dan menetralsir ROS (He *et al.*, 2017). Antioksidan endogen terdiri dari antioksidan enzimatik yaitu katalase (CAT), superoksida dismutase (SOD), glutathione peroxidases (GPX), dan glutathion reductase (GRx) (Galasso *et al.*, 2021). Katalase merupakan antioksidan endogen yang memiliki efek perlindungan yang efektif terhadap oksidatif aktif seperti ROS. Katalase adalah antioksidan enzimatik yang mengandung heme yang berfungsi mengkatalisis hydrogen peroksida (H_2O_2) menjadi molekul oksigen (O_2) dan air (H_2O) sehingga mengurangi risiko pembentukan radikal bebas (He *et al.*, 2017 ; Abolaji *et al.*, 2018).

Katalase bekerja sangat efisien karena dapat memecah jutaan molekul hidrogen peroksida dalam satu detik. Hidrogen peroksida dalam konsentrasi rendah cenderung mengatur beberapa proses fisiologis seperti pensinyalan

dalam proliferasi sel, kematian sel, metabolisme karbohidrat, fungsi mitokondria, dan aktivasi trombosit, namun pada konsentrasi tinggi dapat merusak sel. Oleh karena itu, kemampuan katalase secara efektif dapat membatasi konsentrasi H_2O_2 dalam sel untuk digunakan dalam proses fisiologis (Ighodaro and Akinloye, 2017).

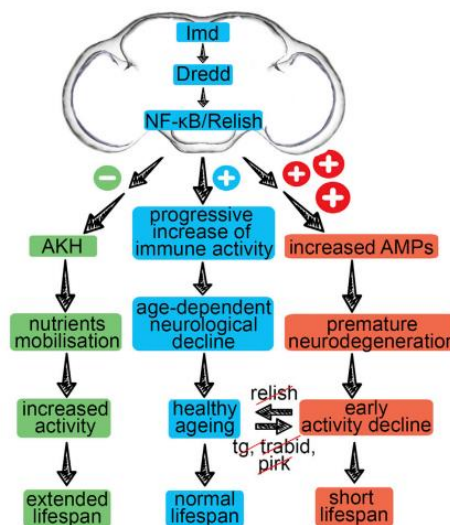


Gambar 3. Mekanisme kerja antioksidan endogen (Tonnie and Trushina, 2017).

Fungsi utama katalase adalah dismutasi hydrogen peroksida (H_2O_2) menjadi oksigen (O_2) dan air (H_2O). Karena kemampuannya untuk memodulasi kadar hidrogen peroksida (H_2O_2), katalase terlibat dalam banyak proses yang berkaitan dengan hidrogen peroksida. H_2O_2 memediasi efek toksik pada komponen seluler karena kemampuannya untuk membentuk ROS, oleh sebab itu katalase berperan penting dalam melindungi sel terhadap efek toksik seluler yang disebabkan oleh ROS (Galasso *et al.*, 2021).

II.4 AMP (Antimicrobial Peptides)

Sistem imun pada *Drosophila melanogaster* ditandai dengan sintesis dan sekresi dari AMP (*Antimicrobial Peptides*) melalui aktivasi dua jalur persinyalan NF- κ B yakni Toll dan IMD. Persinyalan pada jalur Toll diaktivasi oleh jamur dan bakteri gram positif, sedangkan persinyalan pada jalur IMD diaktivasi oleh bakteri gram negatif (Ozakman *et al.*, 2021). Kedua jalur ini memiliki kesamaan dengan jalur Toll dan jalur *tumor necrosis factor* (TNF) pada mamalia yang masing-masing mengontrol ekspresi AMP yakni drosomislin dan dipterisin (Prakash *et al.*, 2021).



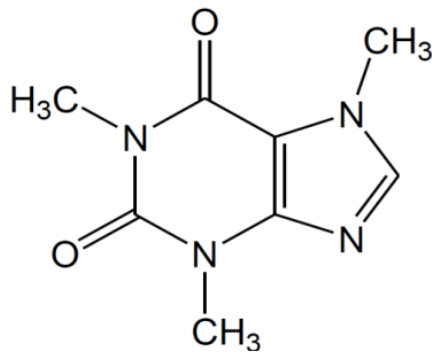
Gambar 4. Aktivasi *Antimicrobial Peptides* (AMP) (Buchon *et al.*, 2014).

AMP (*Antimicrobial Peptides*) adalah sistem imun yang ada pada *Drosophila melanogaster*, salah satunya yaitu Dipterisin (Dpt). Salah satu tanda dari inflamasi yaitu terjadi hiperaktivasi pada jalur NF- κ B yang homolog dengan relish yang ada pada *Drosophila melanogaster*. Terjadinya

hiperaktivasi pada jalur NF- κ B dapat memicu peningkatan produksi AMP (Kounatidis *et al.*, 2017).

II.5 Kafein

Kafein (1,3,7-trimethylxanthine) merupakan salah satu senyawa yang ditemukan dalam berbagai jenis makanan dan minuman yang banyak dikonsumsi sehari-hari. Secara alami senyawa kafein terdapat pada daun, biji atau buah dari berbagai jenis tumbuhan. Sumber kafein yang paling banyak terdapat pada kopi, biji kakka, kacang kola dan daun teh (Abebe Belay, 2011).



Gambar 5. Rumus struktur kafein (Abebe Belay, 2011).

Salah satu sumber antioksidan yang berasal dari tumbuhan yaitu kafein. Kafein memiliki berbagai sifat farmakologis, salah satunya yaitu sebagai antioksidan (Kolahdouzan and Hamadeh, 2017). Dimana senyawa antioksidan yang ada dalam kafein memiliki potensi perlindungan sel

terhadap stress oksidatif yang disebabkan oleh ROS (Carelli-Alinovi *et al.*, 2016).

Efek antioksidan kafein terutama didasarkan pada dampaknya terhadap regulator antioksidan endogen yakni mengatur tingkat *Reactive Oxygen Species* (ROS) dengan cara meningkatkan produksi antioksidan endogen (Ikram *et al.*, 2020). Ketika kadar ROS meningkat dan mengancam proses homeostatik tubuh, antioksidan endogen diaktifkan. Antioksidan endogen juga akan bekerja sama dengan antioksidan eksogen untuk menurunkan kadar ROS (Aguilar *et al.*, 2016).

II.6 *Drosophila melanogaster*

II.6.1 Deskripsi

Lalat buah *Drosophila melanogaster* merupakan salah satu organisme model yang dapat digunakan dalam studi genetika. Penggunaannya sebagai organisme model dalam riset genetika telah diaplikasikan secara luas untuk menjelaskan berbagai fenomena biologis yang terdapat pada manusia. *Drosophila melanogaster* sangat berpotensi digunakan sebagai organisme model karena memiliki kemiripan genetik sekitar 75% dengan manusia. Sebagai organisme model, *D.melanogaster* memiliki beberapa keuntungan yaitu sangat mudah dipelihara, membutuhkan biaya pemeliharaan yang rendah, memiliki reproduksi yang cepat, memiliki waktu hidup yang relatif singkat, dan dapat dibuat dalam bentuk mutan. *D. melanogaster* merupakan

hewan invertebrata dengan ukuran tubuh sekitar 3 mm. *D. melanogaster* dapat digunakan untuk mempelajari mekanisme penyusunan gen, pengaturan aktivitas dan fungsi gen, serta pola mutasi pada organisme eukariotik. Oleh karena itu, *Drosophila melanogaster* memiliki potensi sebagai organisme model dalam riset mekanisme penyakit dan penemuan obat (Nainu, 2018).