

**PENGUNAAN *CAPILLARY FEEDER ASSAY*
DALAM PENENTUAN ASPIRIN *INTAKE* TERHADAP
EKSPRESI GEN *sod1* DAN *sod2* *Drosophila*
*melanogaster***

**THE USE *CAPILLARY FEEDER ASSAY* TO
DETERMINE THE ASPIRIN *INTAKE* ON THE
EXPRESSION OF *sod1* AND *sod2* GENES IN
*Drosophila melanogaster***

**AKRAM FAHMI SHAHAB SAIN
N011 19 1094**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**PENGGUNAAN *CAPILLARY FEEDER ASSAY*
DALAM PENENTUAN *ASPIRIN INTAKE* TERHADAP
EKSPRESI GEN *sod1* DAN *sod2* *Drosophila*
*melanogaster***

**THE USE *CAPILLARY FEEDER ASSAY* TO
DETERMINE THE *ASPIRIN INTAKE* ON THE
EXPRESSION OF *sod1* AND *sod2* GENES IN
*Drosophila melanogaster***

**AKRAM FAHMI SHAHAB SAIN
N011 19 1094**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**PENGGUNAAN CAPILLARY FEEDER ASSAY DALAM PENENTUAN
ASPIRIN INTAKE TERHADAP EKSPRESI GEN *sod1* DAN *sod2*
*Drosophila melanogaster***

**THE USE CAPILLARY FEEDER ASSAY TO DETERMINE THE ASPIRIN
INTAKE ON THE EXPRESSION OF *sod1* AND *sod2* GENES IN
*Drosophila melanogaster***

SKRIPSI

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

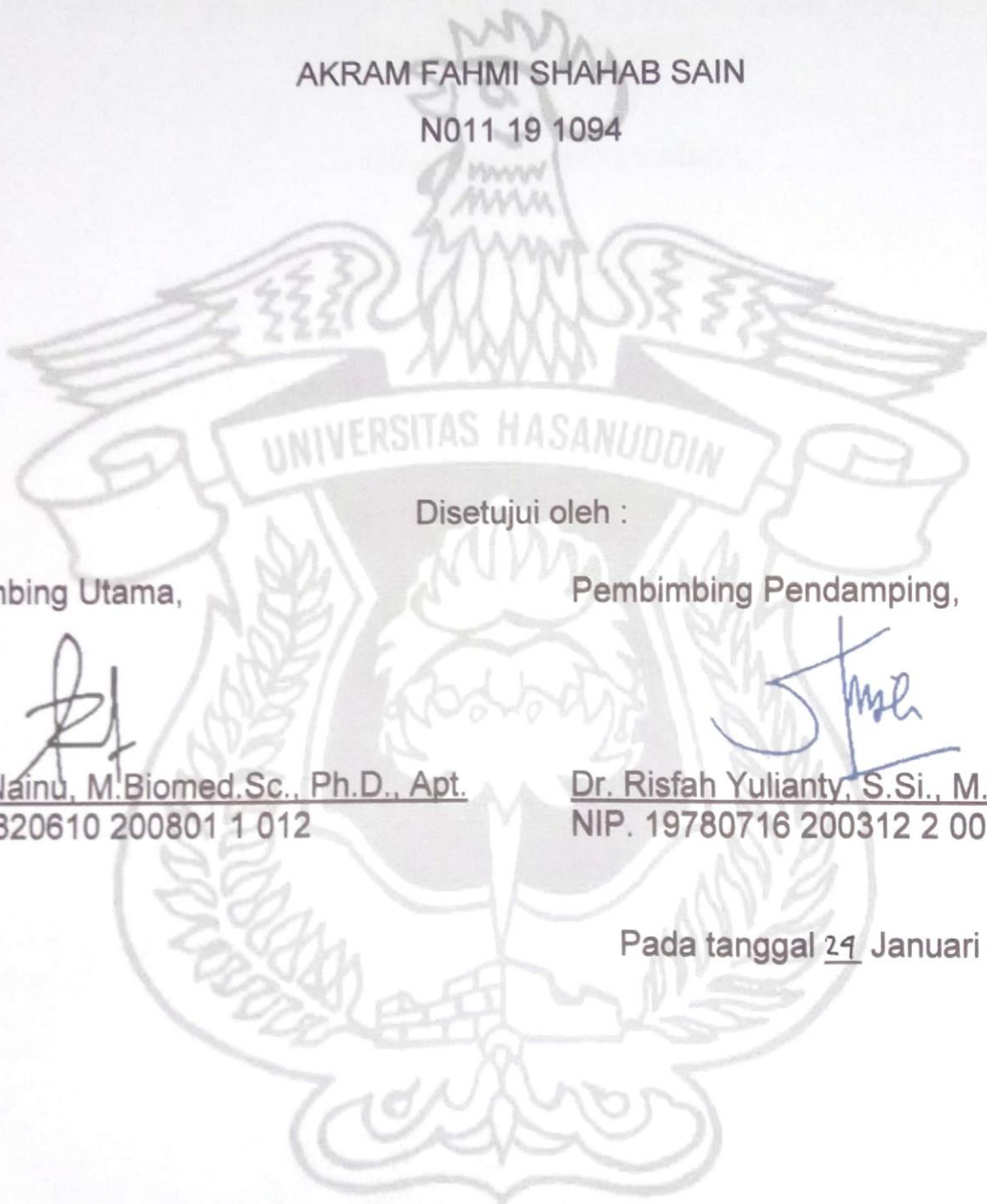
**AKRAM FAHMI SHAHAB SAIN
N011 19 1094**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

PENGGUNAAN *CAPILLARY FEEDER* ASSAY DALAM PENENTUAN
ASPIRIN INTAKE TERHADAP EKSPRESI GEN *sod1* DAN *sod2*
Drosophila melanogaster

AKRAM FAHMI SHAHAB SAIN

N011 19 1094



Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'F. Nainu'.

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

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'R. Yulianty'.

Dr. Risfah Yulianty, S.Si., M.Si., Apt.
NIP. 19780716 200312 2 001

Pada tanggal 21 Januari 2023

SKRIPSI
PENGGUNAAN CAPILLARY FEEDER ASSAY DALAM PENENTUAN
ASPIRIN INTAKE TERHADAP EKSPRESI GEN *sod1* DAN *sod2*
Drosophila melanogaster

THE USE CAPILLARY FEEDER ASSAY TO DETERMINE THE ASPIRIN
INTAKE ON THE EXPRESSION OF *sod1* AND *sod2* GENES IN
Drosophila melanogaster

Disusun dan diajukan oleh :


AKRAM FAHMI SHAHAB SAIN
N011 19 1094


Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
pada tanggal __ Januari 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


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


Dr. Risfah Yulianty, S. Si., M.Si., Apt
NIP. 19780716 200312 2 001

Ketua Program Studi,



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 : Akram Fahmi Shahab Sain
NIM : N011191094
Program Studi : Farmasi
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul "Penggunaan *Capillary Feeder Assay* Dalam Penentuan Aspirin *Intake* Terhadap Ekspresi Gen *sod1* Dan *sod2* *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, 24 Januari 2023



Yang Menyatakan

AKRAM FAHMI SHAHAB SAIN

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhanahu wa ta'ala atas berkat, rahmat, dan petunjuk-Nya, sehingga skripsi ini dapat diselesaikan. Dalam pembuatan skripsi penulis tidak terlepas bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Untuk itu, penulis akan menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Firzan Nainu, S.Si., M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt. selaku pembimbing utama yang telah membimbing, memberikan arahan dan motivasi, serta telah meluangkan waktu kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan masa studinya selama di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
2. Ibu Dr. Risfah Yulianty, S.Si., M.Si., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah membimbing, memberikan masukan serta saran dan telah meluangkan waktu kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
3. Bapak Muh. Nur Amir, S.Si., M.Si., Apt. dan 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. 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.

5. Kedua orang tua penulis, Ibu Risyah Rahmi Dali dan Bapak Muhammad Sain, serta saudari Alfiyah dan Adeeva selaku adik penulis atas doa, perhatian, kasih sayang, dukungan baik secara moril maupun materil, dan selalu sabar dalam menghadapi penulis untuk mencapai kesuksesannya.
6. Teman-teman UFRG, terutama terutama Jo, Kia, Ansal, Kaiz, Ila, Tami, kak Try, dan kak Asbah yang selalu memberikan ilmu, bantuan, dan selalu kompak dalam menyelesaikan penelitian ini.
7. Hikma Yanti selaku support sistem penulis yang telah memberikan dukungan dan doa kepada penulis dalam menyusun skripsi ini.
8. Teman-teman angkatan 2019 (DEX19EN), yang telah memberikan banyak kenangan, dukungan, dan pengalaman yang tidak terlupakan selama menjadi mahasiswi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
9. Semua pihak yang telah membantu yang tidak sempat disebutkan namanya satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan masukan yang membangun dari berbagai pihak. Semoga karya ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya ilmu farmasi. Aamiin.

Makassar, 24 Januari 2023


Akram Fahmi Shahab Sain

ABSTRAK

Akram Fahmi Shahab Sain. Penggunaan *Capillary Feeder Assay* Dalam Penentuan Aspirin *Intake* Terhadap Ekspresi Gen *sod1* Dan *sod2* *Drosophila melanogaster* (dibimbing oleh Firzan Nainu dan Risfah Yulianty)

Penuaan ialah proses yang terjadi secara berangsur dan mengakibatkan perubahan secara kumulatif serta berakhir dengan kematian. Proses penuaan terjadi karena adanya radikal bebas. Untuk mengatasi hal tersebut bisa dicegah dengan penggunaan antioksidan dengan cara menghancurkan dan menurunkan kadar oksidan dalam sel, mencegah ROS untuk mencapai targetnya, membatasi penyebaran oksidan, dan menggagalkan *stress oksidatif* sehingga dapat menghambat penuaan. Salah satu antioksidan yang dapat mencegah *stress oksidatif* yaitu enzim *superoksida dismutase* (SOD). Gen *sod1* dan *sod2* yang ada pada manusia homolog dengan *sod1* dan *sod2* pada *D. melanogaster*. Aspirin dapat menunjukkan efek perlindungan yang sangat baik terhadap *stress oksidatif*. Penelitian ini bertujuan untuk mengukur aspirin *intake* yang mempengaruhi ekspresi gen *sod1* dan *sod2* pada *Drosophila melanogaster*. Penelitian dilakukan dengan menggunakan *capillary feeder assay* pada lalat jantan jenis Oregon-R dan pengukuran ekspresi gen *sod1* dan *sod2* menggunakan metode RT-qPCR. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aspirin *intake* tertinggi dan terendah pada kelompok 5 μM sebesar 0,0028 μg dan 0,0004 μg . Pada kelompok aspirin 50 μM , sebesar 0,0268 μg dan 0,0037 μg . Pada kelompok aspirin 500 μM , sebesar 0,3189 μg dan 0,0613 μg . Terjadi peningkatan jumlah aspirin pada kelompok aspirin 50 μM sekitar 85,7% dari kelompok aspirin 5 μM dan pada kelompok 500 μM meningkat sekitar 86,1% dari kelompok aspirin 50 μM . Dengan demikian hasil pengukuran ekspresi gen yang diperoleh selama 14 hari masih belum mampu memberikan efek meningkatkan ekspresi gen *sod1* dan *sod2* secara signifikan.

Kata Kunci : Aspirin, Penuaan, *Drosophila melanogaster*, *Capillary Feeder Assay*, *sod1*, *sod2*

ABSTRACT

Akram Fahmi Shahab Sain. The Use Capillary Feeder Assay To Determine The Aspirin Intake On The Expression Of *sod1* And *sod2* Genes In *Drosophila melanogaster* (supervised by Firzan Nainu and Risfah Yulianty).

Aging is a process that occurs gradually and results in cumulative changes and ends in death. The aging process occurs due to the presence of free radicals. To overcome this, it can be prevented by using antioxidants by destroying and reducing levels of oxidants in cells, preventing ROS from reaching their targets, limiting the spread of oxidants, and thwarting oxidative stress so that it can inhibit aging. One of the antioxidants that can prevent oxidative stress is the enzyme *superoxide dismutase* (SOD). The *sod1* and *sod2* genes present in humans are homologous to *sod1* and *sod2* in *D. melanogaster*. Aspirin can show a very good protective effect against oxidative stress. This study aims to measure aspirin intake which affects the expression of *sod1* and *sod2* genes in *Drosophila melanogaster*. The study was conducted using a capillary feeder assay on Oregon-R male flies and measuring the expression of the *sod1* and *sod2* genes using the RT-qPCR method. The results showed that the highest and lowest aspirin intakes in the 5 μM group were 0.0028 μg and 0.0004 μg . In the 50 μM aspirin group, it was 0.0268 μg and 0.0037 μg . In the 500 μM aspirin group, it was 0.3189 μg and 0.0613 μg . There was an increase in the amount of aspirin in the 50 μM aspirin group by about 85.7% from the 5 μM aspirin group and in the 500 μM group it increased by about 86.1% from the 50 μM aspirin group. Thus the results of measuring gene expression obtained for 14 days were still unable to significantly increase the expression of the *sod1* and *sod2* genes.

Keywords : Aspirin, Aging, *Drosophila melanogaster*, Capillary Feeder Assay, *sod1*, *sod2*.

DAFTAR ISI

	halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	VII
ABSTRAK	IX
ABSTRACT	X
DAFTAR ISI	XI
DAFTAR TABEL	XIII
DAFTAR GAMBAR	XIV
DAFTAR LAMPIRAN	XV
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1. Latar Belakang	1
I.2. Rumusan Masalah	3
I.3. Tujuan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1. Deskripsi Penuaan	5
II.2. <i>Stress Oksidatif</i> dan Antioksidan Endogen	7
II.3. Aspirin	10
II.4. <i>Drosophila melanogaster</i>	11
II.5. <i>Capillary Feeder Assay</i> (CAFE)	13
II.6. <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	14
BAB III METODE KERJA	17
III.1. Alat dan Bahan	17

III.2. Metode Kerja	17
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	23
IV.1. Pengamatan Uji Survival <i>Drosophila melanogaster</i>	23
IV.2. Hasil Pengukuran Volume <i>Intake</i>	24
IV.3. Pemeriksaan Analisis Ekspresi Gen Antioksidan Endogen pada <i>Drosophila melanogaster</i>	26
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 masing-masing gen	22
2. Hasil pengukuran volume <i>intake</i> pakan cair <i>D. melanogaster</i> yang diukur selama 14 hari	25
3. Pengukuran aspirin <i>intake D. melanogaster</i> selama 14 hari	26

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Mekanisme yang menyebabkan dan menghambat penuaan seluler	6
2. Peran dan letak enzim superoksida dismutase	9
3. Struktur aspirin	10
4. Siklus hidup <i>D. melanogaster</i>	12
5. Level ekspresi <i>sod1</i> pada <i>D. melanogaster</i>	13
6. Level ekspresi <i>sod2</i> pada <i>D. melanogaster</i>	13
7. <i>Capillary Feeder</i>	14
8. Proses dan komponen reaksi PCR	16
9. Grafik survival <i>D. melanogaster</i> dengan pemberian aspirin	23
10. Grafik ekspresi gen <i>sod1</i> <i>D. melanogaster</i>	27
11. Grafik ekspresi gen <i>sod2</i> <i>D. melanogaster</i>	28
12. Perangkaian alat metode CAFE	39
13. Pemilihan <i>D. melanogaster</i> jantan berusia 4-7 hari	39
14. Pembuatan larutan sukrosa dan aspirin	40
15. Proses <i>D. melanogaster</i> memakan aspirin	40
16. Pengukuran aspirin <i>intake</i>	41
17. Tahap isolasi RNA	41
18. Rangkaian alat PCR	42

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema Kerja	34
2. Perhitungan	34
3. Gambar Penelitian	37
4. Hasil Pengukuran Volume <i>Intake</i>	43
5. Hasil Analisis Statistik	44

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Penuaan ialah proses yang terjadi secara berangsur dan mengakibatkan perubahan secara kumulatif serta berakhir dengan kematian. Kata "menua" biasanya memberikan perasaan yang tidak menyenangkan bagi sebagian besar orang, karena banyaknya masalah dan penyakit yang berhubungan dengan penuaan (Primasari, 2018).

Salah satu faktor yang dapat menyebabkan penuaan yaitu radikal bebas (Simanjuntak *et al.*, 2020). Dampak buruk radikal bebas dapat diatasi dengan penggunaan antioksidan yang dapat menghambat produksi ROS (*Reactive Oxygen Species*). Antioksidan akan menghancurkan dan menurunkan kadar oksidan dalam sel, mencegah ROS untuk mencapai targetnya, membatasi penyebaran oksidan, dan menggagalkan *stress oksidatif* sehingga dapat menghambat penuaan (Angelia *et al.*, 2022).

Salah satu antioksidan yang dapat mencegah *stress oksidatif* yaitu enzim *superoksida dismutase* (SOD). Enzim ini bekerja dengan cara mengkatalisasi pembuangan anion superoksida secara efisien. Hingga saat ini berdasarkan aspek biokimia dan molekuler pada mamalia

mempunyai jenis *superoksida dismutase* yaitu gen *sod1* dan *sod2* (Simanjuntak dan Zulham 2020).

Aspirin atau *acetylsalicylic acid* merupakan salah satu jenis OAINS (Obat Anti Inflamasi Non-Steroid) dari golongan salisilat yang memberikan efek analgetika, antipiretik, dan antiinflamasi, serta antikoagulan (Alfina *et al.*, 2022). Aspirin dapat menunjukkan efek perlindungan yang sangat baik terhadap *stress oksidatif* (Chen *et al.*, 2020). Gen *sod1* dan *sod2* yang ada pada manusia homolog dengan *sod1* dan *sod2* pada *D. melanogaster* (Mirzoyan *et al.*, 2019). Berdasarkan hasil penelitian Iqbal (2021) bahwa aspirin dapat meningkatkan gen *sod2* akan tetapi tidak meningkatkan gen *sod1* pada *D. melanogaster*.

Penggunaan *D. melanogaster* sangat cocok untuk mempelajari penuaan karena telah diaplikasikan secara luas untuk menjelaskan berbagai fenomena biologis penting yang juga terdapat pada manusia. Pemanfaatan *D. melanogaster* dan pengembangannya dalam mempelajari berbagai fenomena biologi. Pemanfaatan tersebut dari studi morfogenesis seluler hingga studi perilaku dan penuaan. Hampir 75% gen yang berkaitan dengan penyakit manusia memiliki homologi fungsional dengan gen-gen yang ada pada *D. melanogaster* (Fatmawati *et al.*, 2022; Nainu, 2018).

Aspirin dapat meningkatkan masa hidup dari organisme model seperti *D. melanogaster*. Akan tetapi belum diketahui berapa jumlah aspirin

intake kepada *D. melanogaster*. Aspirin *intake* bisa diukur dengan metode *capillary feeder assay* (CAFE assay). CAFE assay memungkinkan untuk secara langsung mengukur asupan makanan *D.melanogaster*. Pada uji ini, lalat memakan pakan cair yang disediakan dalam kapiler kaca yang ditempatkan di dalam vial (Diegelmann *et al.*, 2017). Metode ini juga merupakan metode untuk memahami fisiologi dan pengaturan nafsu makan yang diperlukan untuk mengatasi suatu masalah biomedis seperti gangguan makanan, dan memantau pemberian obat secara oral (Ja *et al.*, 2007).

Akan tetapi hingga saat ini belum diketahui berapa banyak aspirin *intake* yang dapat meningkatkan masa hidup dari *D. melanogaster*. Terkait hal tersebut, maka penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui presentase aspirin sebagai anti-aging terhadap ekspresi gen *sod1* dan *sod2* pada *D. melanogaster*.

I.2 Rumusan Masalah

Dari latar belakang tersebut, adapun rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu:

1. Berapa banyak aspirin *intake* yang dapat dikonsumsi *D. melanogaster* dengan menggunakan *capillary feeder assay*?
2. Apakah jumlah aspirin *intake* yang diukur dapat mempengaruhi ekspresi gen *sod1* dan *sod2* pada *D. melanogaster* ?

I.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui banyaknya aspirin *intake* yang dapat mempengaruhi ekspresi gen *sod1* dan *sod2* pada *D. melanogaster* dengan menggunakan *capillary feeder assay*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Deskripsi Umum Penuan

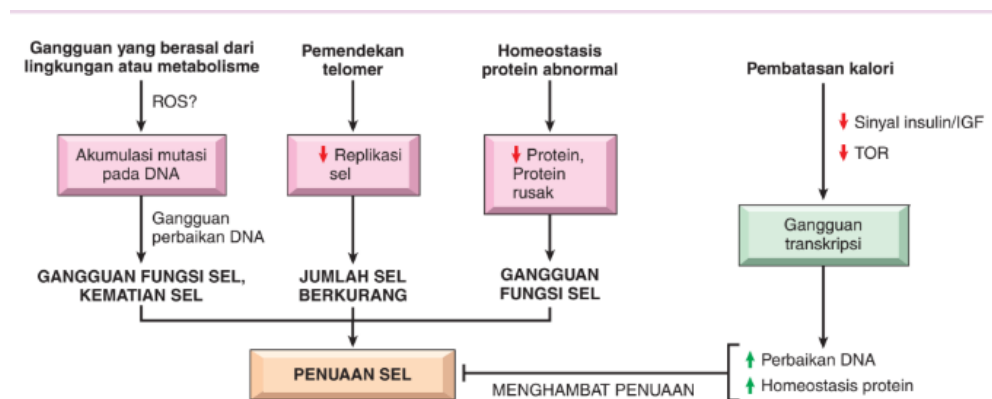
II.1.1 Pengertian Penuaan

Penuaan merupakan suatu fenotipe yang ditandai dengan suatu penurunan fungsi organ-organ tubuh, penurunan kemampuan tubuh untuk memperbaiki sel yang rusak ataupun meregenerasi sel-sel yang sudah mati. Salah satu akibat yang ditimbulkan dari proses penuaan adalah terganggunya fungsi motorik, sensorik dan lokomosi suatu organ. Proses penuaan bisa diakibatkan oleh kondisi *stress oksidatif* yang disebabkan adanya ketidakseimbangan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dengan antioksidan di dalam sel (Riska dan Mudjihartini, 2022).

Penuaan merupakan perubahan degeneratif secara progresif atau semakin tua. Penuaan tidak bisa di hindari bagi setiap makhluk hidup. Faktor ini bisa saja dialami oleh makhluk hidup yang bisa merespon stres baik dari faktor internal maupun eksternal sehingga dapat meningkatkan risiko terkena banyaknya penyakit. Karena hal tersebut akan menyebabkan kematian. Selain itu, ada terdapat faktor eksternal seperti gaya hidup, kualitas lingkungan hidup dan lingkungan sosial juga merupakan peran penting dalam proses penuaan (Firaz, 2017).

II.1.2 Mekanisme Penuaan

Salah satu penemuan yang paling penting mengenai sel bukan hanya sekedar konsekuensi sel yang kehabisan tenaga, namun melibatkan mekanisme regulasi oleh sekelompok gen (Kumar *et al.*, 2019).



Gambar 1. Mekanisme yang menyebabkan dan menghambat penuaan seluler (Kumar *et al.*, 2019).

Penuaan sel merupakan hasil dari progresif masa hidup dan aktivitas fungsional sel. Berbagai abnormalitas menyebabkan penuaan (Kumar *et al.*, 2019):

- Akumulasi mutasi DNA.

Berbagai defek metabolik seiring berjalannya waktu dapat menimbulkan kerusakan DNA pada inti sel dan mitokondria. ROS oleh toksin dan paparan radiasi berkontribusi terhadap kerusakan DNA yang terkait dengan proses penuaan. Walaupun sebagian besar perbaikan DNA diperbaiki oleh enzim-enzim reparasi DNA, sebagian tidak dapat diperbaiki

dan terakumulasi akibat kemampuan memperbaiki sel meningkat seiring bertambahnya sel. Akumulasi mutasi DNA inti sel dan mitokondria akhirnya menurunkan aktivitas fungsional dan kesintasan sel.

- Penurunan replikasi seluler.

Sel normal (selain sel punca) memiliki kapasitas replikasi yang terbatas dan setelah beberapa kali pembelahan, sel tersebut beristirahat pada kondisi terminal tak terbatas, yang dikenal sebagai penuaan replikasi. Sel pada anak-anak memiliki kapasitas lebih banyak untuk melakukan replikasi dibandingkan dengan sel orang yang lebih tua. Sebaliknya, sel pasien dengan sindrom Werner, suatu penyakit langka yang ditandai oleh penuaan dini, menunjukkan penurunan masa hidup secara *in vitro*.

II.2 Stress Oksidatif dan Antioksidan Endogen

II.2.1 Stress Oksidatif

Stress oksidatif bila jumlahnya dalam tubuh berlebih, keadaan ini akan menyebabkan terjadinya kerusakan oksidatif pada tingkat sel, jaringan hingga organ tubuh yang akan mempercepat terjadinya proses penuaan. *Stress oksidatif* dapat merusak oksidatif lipid, *stress oksidatif* bisa dideteksi dengan terjadinya peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) dalam sel. *Stress oksidatif* yang meningkat terjadi karena produksi

ROS yang berlebihan tanpa adanya kompensasi aktivitas enzim antioksidan (Simanjuntak dan Zulham, 2020).

Stress oksidatif bisa juga diartikan sebagai ketidak seimbangan pembentukan dan penghilangan radikal bebas (ROS & RNS) akibat produksi yang berlebihan atau terjadi gangguan pada sel untuk menetralkan radikal bebas yang ada. Radikal bebas adalah atom atau molekul yang bersifat sangat reaktif akibat adanya elektron yang tidak berpasangan pada kulit terluarnya (Riska dan Mudjihartini, 2022).

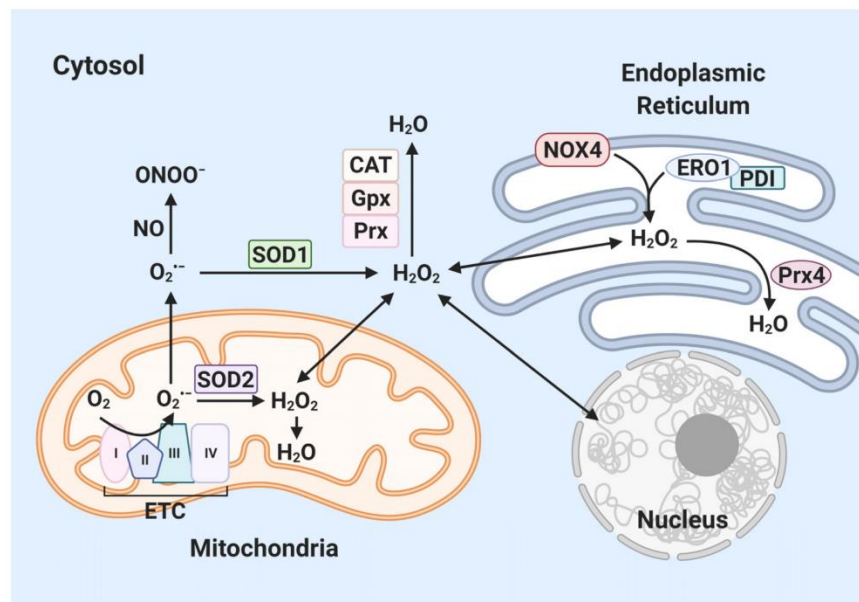
Efek *stress oksidatif* pada protein dapat bersifat *reversibel* dan *ireversibel*. Modifikasi protein ireversibel terutama berupa karbonilasi protein dan nitrosasi tirosin yang mengakibatkan kerusakan oksidatif yang sering digunakan sebagai biomarker untuk evaluasi *stress oksidatif* pada penuaan dan penyakit (Handajani, 2019)

II.2.2 Antioksidan Endogen

Antioksidan endogen digunakan dalam mekanisme perlawanan tubuh terhadap radikal bebas. Akan tetapi terjadi ketidakseimbangan jumlah radikal bebas dan kapasitas antioksidan endogen di dalam tubuh, maka tubuh memerlukan asupan antioksidan eksogen seperti makanan (Simanjuntak dan Zulham, 2020).

Antioksidan berfungsi untuk menambahkan atau menghilangkan satu elektron untuk menetralkan ROS, sehingga radikal bebas akan stabil dan

menghambat proses oksidasi. Antioksidan enzimatik terdiri dari *superoksida dismutase* (SOD), *katalase* dan *glutation peroksidase* (GSH peroksidase). Antioksidan bekerja untuk menstabilkan H_2O_2 . *Superoksida dismutase* (SOD) mengkatalisis anion superoksida menjadi H_2O_2 yang merupakan ROS yang kurang reaktif. Hidrogen peroksida ini kemudian oleh *katalase* dan GSH *peroksidase* akan diuraikan menjadi H_2O dan O_2 (Andarina dan Djauhari, 2017).



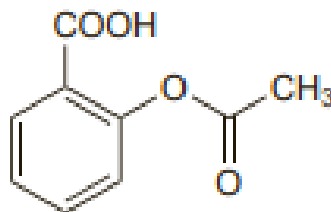
Gambar 2. Peran dan letak enzim *superoksida dismutase* (Lee and Song, 2021).

Superoksida dismutase merupakan enzim yang mengandung logam. Pada tubuh manusia mempunyai dua bentuk enzim itu yaitu tembaga-zinc SOD yang terdapat pada sitoplasma, dan mangan SOD pada membran mitokondria. Mekanisme kerja utama SOD adalah mengkonversi anion superoksida menjadi hidrogen peroksida yang tidak terlalu reaktif,

kemudian bersama-sama dengan katalase akan mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen (Andarina dan Djauhari, 2017).

II.3 Aspirin

Aspirin atau asam salisilat adalah suatu asam organik sederhana dengan pKa 3,0. Akibatnya aspirin cepat diserap dari lambung dan usus halus bagian atas menghasilkan kadar plasma puncak 1-2 jam. Aspirin juga diserap secara utuh dan cepat dihidrolisis menjadi asam asetat dan salisilat oleh esterase di jaringan dan darah (waktu-paruh serum sekitar 15 menit). Salisilat akan terikat secara nonlinier ke albumin. Alkalinisasi urin meningkatkan laju ekskresi salisilat bebas dan konjugat-konjugatnya yang larut air (Katzung *et al.*, 2014).



Gambar 3. Struktur aspirin (Lee and Song, 2021).

Aspirin atau *acetylsalicylic acid* merupakan salah satu jenis OAINS (Obat Anti Inflamasi Non-Steroid) dari golongan salisilat yang memberikan efek analgetika, antipiretik, dan antiinflamasi, serta antikoagulan (Alfina *et al.*, 2022). Aspirin dapat menunjukkan efek perlindungan yang sangat baik terhadap *stress oksidatif* (Chen *et al.*, 2020).

II.4 *Drosophila melanogaster*

II.4.1 Klasifikasi *Drosophila melanogaster*

Adapun klasifikasi dari *Drosophila melanogaster* sebagai berikut (Gullan and Cranston, 2014):

Kingdom : Animalia

Filum : Arthropoda

Kelas : Insecta

Ordo : Diptera

Famili : Drosophiladae

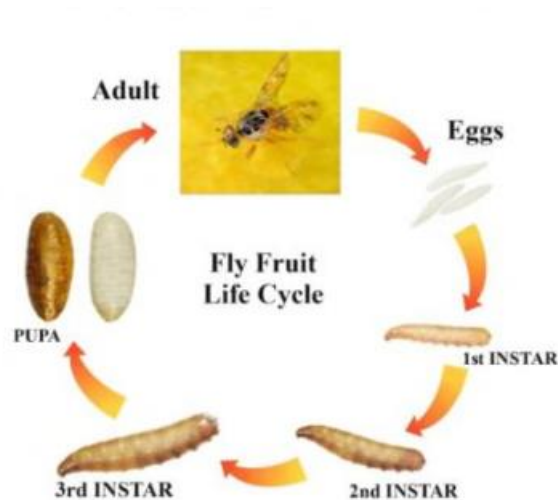
Genus : *Drosophila*

Spesies: *Drosophila melanogaster*

Morfologi *Drosophila melanogaster* tipe normal memiliki mata yang berwarna merah, ukuran sayap yang cukup panjang dan berwarna transparan, bagian tubuh yang berwarna kuning kecokelatan dengan cincin berwarna hitam pada bagian belakang tubuh, dan memiliki ukuran tubuh sekitar 3 sampai 5 mm (Hotimah *et al.*, 2017).

II.4.2 Siklus Hidup *Drosophila melanogaster*

Siklus hidup *D. melanogaster* mengalami perkembangan sempurna yang mempunyai 4 fase metamorphosis yaitu telur, larva (larva instar pertama, larva instar kedua dan larva instar ketiga), pupa dan imago (lalat dewasa) (Azhar *et al.*, 2021).

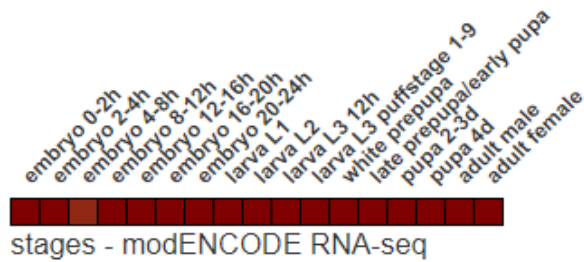


Gambar 4. Siklus hidup *D. melanogaster* (Azhar et al., 2021).

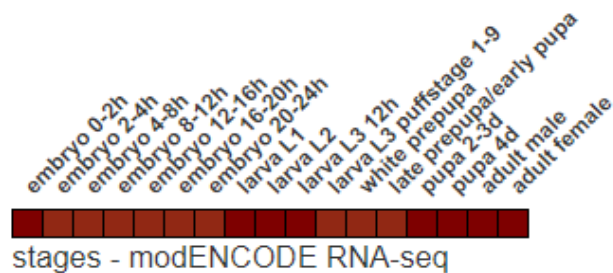
D. melanogaster memiliki masa hidup sekitar 2-3 bulan, dimana usia tersebut relatif sangat singkat dibandingkan dengan tikus, mencit, kelinci ataupun manusia. Pada fase embrio *D. melanogaster* dapat berkembang menjadi larva instar pertama dalam waktu satu hari kemudian berkembang menjadi larva instar kedua dan larva instar ketiga berturut-turut dalam waktu satu dan dua hari. Kemudian larva instar ketiga berubah menjadi pupa setelah kurang lebih lima hari, lalat akan keluar dari cangkang pupa yang selanjutnya disebut lalat dewasa (Nainu, 2018).

II.4.3 Level Ekspresi Gen *sod1* dan *sod2* pada *D.melanogaster*

Warna pada pita menunjukkan tingkat ekspresi RNA menggunakan sampel seluruh organisme bisa dilihat pada gambar 5 dan gambar 6 semakin pekat warnanya semakin tinggi tingkat ekspresi RNA.



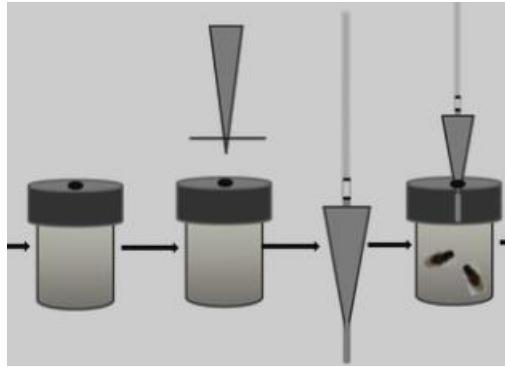
Gambar 5. Level ekspresi *sod1* pada *D. melanogaster* (FlyBase).



Gambar 6. Level ekspresi *sod2* pada *D. melanogaster* (FlyBase).

II.5 Capillary Feeder (CAFE)

Uji CAFE adalah salah satu dari beberapa paradigma perilaku yang digunakan untuk mengukur asupan makan *D. melanogaster*. Uji CAFE sangat cocok untuk mengikuti asupan makanan dari sumber makanan cair di bawah kondisi makan tegak. Uji CAFE paling banyak digunakan di bidang penelitian metabolisme dan rasa di *D. melanogaster*, memiliki banyak aplikasi dalam menguji peran suplemen makanan dan obat-obatan pada perilaku makan, dan bisa juga digunakan untuk menyelidiki respons dosis terhadap sumber makanan tertentu. Pengujian ini juga memungkinkan peneliti untuk menyelidiki peran sistem penguatan pada perilaku makan (Diegelmann *et al.*, 2017).



Gambar 7. Capillary Feeder (Sun et al., 2013).

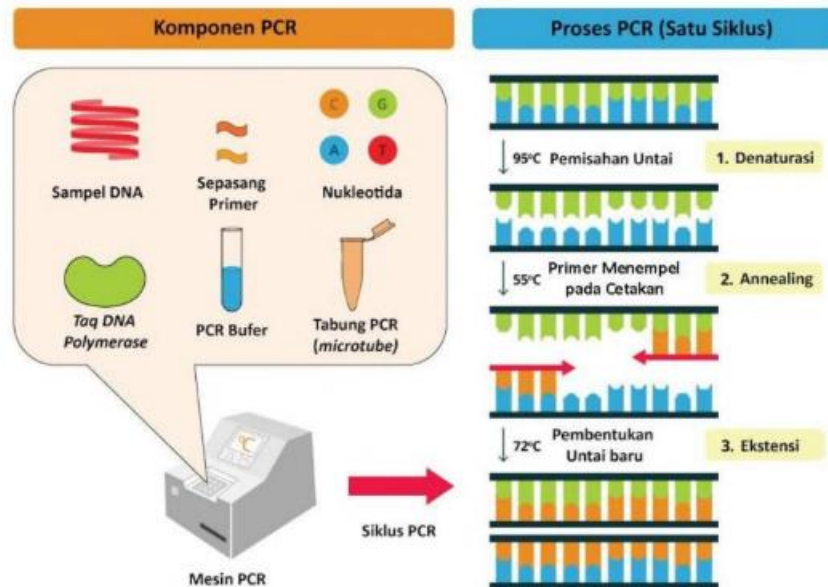
CAFE adalah sebuah pengujian yang memungkinkan kuantisasi yang tepat dan berkelanjutan dari konsumsi aktual pada masing-masing *D. Melanogaster*. Di CAFE, lalat akan mengonsumsi makanan cair dari mikrokapiler kaca bertingkat. Turunnya meniskus dapat terlihat jelas dan memungkinkan pengukuran konsumsi yang berkelanjutan serta tidak ambigu. Metode ini meniadakan kebutuhan akan penanda makanan dan bahan pendukung yang umum digunakan, seperti tepung jagung dan agar-agar. Hal ini dikarenakan kapiler bisa diganti sesuai kebutuhan, dengan gangguan minimal pada hewan, dimungkinkan untuk memantau konsumsi secara *real-time* untuk periode mulai dari menit hingga seluruh umur (Ja et al., 2007).

II.6 Polymerase Chain Reaction (PCR)

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan salah satu teknik amplifikasi asam nukleat *in vitro* yang paling banyak dipelajari dan digunakan secara luas. PCR digunakan untuk menggandakan jumlah molekul DNA pada target tertentu dengan menganalisis molekul DNA baru

yang berkomplemen dengan molekul DNA target melalui enzim dan oligonukleotida sebagai primer dalam suatu *thermocycle*. Enzim yang digunakan sebagai pencetak rangkaian molekul DNA yang baru dikenal disebut enzim *polimerase*. Proses PCR didahului dengan *reverse transcriptase* terhadap molekul mRNA sehingga diperoleh molekul *complementary DNA* (cDNA). Molekul cDNA digunakan dalam proses PCR, pada tahap proses PCR digunakan sebagai pengamplifikasi RNA. Tahap ini dikenal sebagai proses RT-PCR (Widayat *et al.*, 2019).

Proses PCR merupakan proses siklus berulang meliputi tahap denaturasi, pemisahan kedua untai DNA menggunakan temperatur tinggi. DNA akan terdenaturasi pada temperatur 90-97 °C. Proses denaturasi optimum terjadi pada temperatur 95 °C selama 30 detik. Proses *annealing* (penempelan primer pada pita DNA yang sesuai) pada temperatur 55-60 oC selama 30 detik. Proses ekstensi oleh enzim DNA polimerase pada temperatur 72 °C dalam waktu yang disesuaikan dengan panjang atau pendeknya ukuran DNA yang diharapkan sebagai produk amplifikasi. Umumnya waktu yang digunakan pada proses ekstensi pada PCR yaitu 2-3 menit (Joshi dan Deshpande, 2010).



Gambar 8. Proses dan komponen reaksi PCR (Kusnadi dan Arumingtyas, 2020).

Dengan pengembangan teknik PCR, penggandaan untai DNA dalam jumlah banyak sesuai dengan yang diinginkan dapat diwujudkan dengan mudah. PCR memungkinkan sekuens DNA yang ditargetkan secara specific untuk disalin dan/atau dimodifikasi dengan cara yang tertentu. Reaksi ini berpotensi mengamplifikasi satu molekul DNA menjadi lebih dari 1 miliar molekul dalam waktu kurang dari 2 jam (Kusnadi dan Arumingtyas, 2020).