

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KAFEIN TERHADAP
Staphylococcus aureus MENGGUNAKAN LALAT
BUAH (*Drosophila melanogaster*)**

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF CAFFEINE
AGAINST *Staphylococcus aureus* USING FRUIT
FLY (*Drosophila melanogaster*)**

**DEVHY MEGA UTAMI
N011 19 1063**



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

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KAFEIN TERHADAP *Staphylococcus aureus* MENGGUNAKAN LALAT BUAH (*Drosophila melanogaster*)

ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF CAFFEINE AGAINST *Staphylococcus aureus* USING FRUIT FLY (*Drosophila melanogaster*)

SKRIPSI

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

**DEVHY MEGA UTAMI
N011 19 1063**

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

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KAFEIN TERHADAP *Staphylococcus aureus* MENGGUNAKAN LALAT BUAH (*Drosophila melanogaster*)

DEVHY MEGA UTAMI

N011 19 1063

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,



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

NIP. 19820610 200801 1 012

Pembimbing Pendamping,



Prof. Dr. Sartini, M.Si., Apt.

NIP. 19611111 198703 2 001

Pada tanggal 20 Januari 2023

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KAFEIN TERHADAP *Staphylococcus aureus* MENGGUNAKAN LALAT BUAH (*Drosophila melanogaster*)

ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF CAFFEINE AGAINST
Staphylococcus aureus USING FRUIT FLY (*Drosophila melanogaster*)

Disusun dan diajukan oleh :

DEVHY MEGA UTAMI

N011 19 1063

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin pada tanggal 20 Januari 2023 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. Sartini, M.Si., Apt.
NIP. 19611111 198703 2 001

Ketua Program Studi S1 Farmasi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin

Nurhasni Hasan, S.Si, M.Si, M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 19880416 201012 2 009

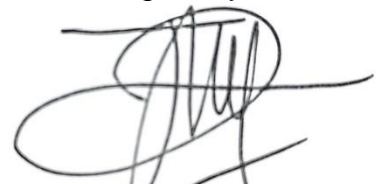
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

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

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

Makassar, 20 Januari 2023

Yang Menyatakan



Devhy Mega Utami
N011 19 1063

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 dan Ibu Prof. Dr. Sartini, M.Si., Apt. selaku pembimbing pendamping 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. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt dan Nur Indayanti, S.Si., M.Si. selaku tim penguji yang telah meluangkan waktu untuk memberikan saran dan masukan yang membangun kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
3. Ibu Dra. Ermina Pakki, M.Si., Apt. selaku dosen pembimbing akademik penulis atas segala ilmu dan arahan selama penulis menjalani studi.
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, Bapak Arifin Arsyad, S.E. dan Ibu Nur Debbyanti A., S.E., serta saudara Muh. Rafli Syaputra 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 seperjuangan, sehati, sejiwa, yakni Dede, Annisa, Bethania, Fahriza, Fitriani, Kania, Rizkya, Shabrina, Ummu, Mahfud, Mufliha, Mutiara, dan Venturini yang selalu memberikan dukungan dan semangat, serta tempat meluangkan berbagi keluh-kesah, suka maupun duka selama proses perkuliahan dan dalam penyusunan skripsi ini.
7. Keluarga besar *Unhas Fly Research Group* (UFRG), Annisa, Fahriza, Rizkya, Mufliha, Kak Tryadi, Akram, Jonathan, Kak Asbah, kak Avi, kak Fadil dan Kak Endo yang selalu memberikan ilmu, bantuan, dan arahan dalam menyelesaikan penelitian ini.
8. Teman-teman Korps Asisten Biofarmasi dan Farmakologi-Toksikologi, atas segala dukungan, ilmu, dan bantuan yang telah banyak diberikan kepada penulis. Terkhusus laboran tercinta Ibu Syamsiah atas nasihat, arahan, serta motivasi yang diberikan kepada penulis selama penulis melakukan penelitian dan menjalani studi,
9. Teman-teman angkatan 2019 (DEX19EN), yang telah memberikan banyak kenangan, dukungan, dan pengalaman yang tidak terlupakan selama menjadi mahasiswi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

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, 20 Januari 2023



Devhy Mega Utami

ABSTRAK

DEVHY MEGA UTAMI. Uji Aktivitas Antibakteri Kafein Terhadap *Staphylococcus aureus* Menggunakan Lalat Buah (*Drosophila melanogaster*) (dibimbing oleh Firzan Nainu dan Sartini)

Tercatat 5-60% infeksi di seluruh dunia dapat menyebabkan kematian, salah satu penyebab infeksi ialah *Staphylococcus aureus*. *S. aureus* adalah mikroorganisme yang tinggal di kulit dan saluran pernapasan. Akan tetapi, beberapa lini pertama infeksi *S. aureus* telah mengalami resisten, seperti sefalosporin dan juga penisilin. Oleh karena itu, diperlukan senyawa antibakteri baru untuk menangani kasus ini. Salah satu senyawa yang dapat dijadikan senyawa antibakteri adalah kafein. Telah terbukti secara *in-vitro* kafein dapat menghambat *S.aureus* dengan nilai hambat minimunnya yaitu 125 ppm. Sehingga tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antibakteri senyawa kafein terhadap *Staphylococcus aureus* pada model *Drosophila melanogaster*. Pengujian dilakukan dengan melihat hasil survival serta ekspresi gen *Drosomycin* menggunakan metode RT-qPCR dari *D. melanogaster* jenis Oregon R. Hasil uji fenotip menunjukkan bahwa pemberian kafein dengan konsentrasi 0,08%, 0,016% dan 0,0032% dapat mempengaruhi masa hidup dari *Drosophila*. Pada uji analisis ekspresi gen, pemberian kafein dengan konsentrasi 0,016% dapat menginduksi ekspresi gen *drs* secara signifikan, namun tidak pada konsentrasi 0,08% dan 0,0032%. Kesimpulan pada penelitian ini yaitu kafein dapat dijadikan senyawa antibakteri, akan tetapi pada konsentrasi 0,016% dapat dijadikan antibakteri dan juga immunostimulan.

Kata Kunci : *Drosophila melanogaster*, *Drosomycin*, Infeksi, Kafein, *Staphylococcus aureus*,

ABSTRACT

DEVHY MEGA UTAMI. Caffeine Antibacterial Activity Test Against *Staphylococcus aureus* Using Fruit Flies (*Drosophila melanogaster*) (supervised by Firzan Nainu and Sartini)

It is recorded that 5-60% of infections worldwide can cause death, one of the causes of infection is *Staphylococcus aureus*. A *S. aureus* is a microorganism that lives on the skin and respiratory tract. However, some of the first lines of *S. aureus* infection have developed resistance, such as cephalosporins as well as penicillins. Therefore, new antibacterial compounds are needed to treat this case. One of the compounds that can be used as antibacterial compounds is caffeine. It has been proven in-vitro that caffeine can inhibit *S.aureus* with a minimum inhibitory value of 125 ppm. So the purpose of this study was to determine the antibacterial activity of caffeine compounds against *Staphylococcus aureus* in the *Drosophila melanogaster* model. Tests were carried out by looking at the survival results and Drosomycin gene expression using the RT-qPCR method from *D. melanogaster* Oregon R species. The phenotypic test results showed that administration of caffeine at concentrations of 0.08%, 0.016% and 0.0032% could affect the life span of *Drosophila*. In the gene expression analysis test, giving caffeine at a concentration of 0.016% could significantly induce expression of the *drs* gene, but not at concentrations of 0.08% and 0.0032%. The conclusion in this study is that caffeine can be used as an antibacterial compound, but at a concentration of 0.016% it can be used as an antibacterial and also an immunostimulant.

Keywords: Caffeine, *Drosophila melanogaster*, *Drosomycin*, Infection, *Staphylococcus aureus*.

DAFTAR ISI

UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1. Latar Belakang	1
I.2. Rumusan Masalah	3
I.3. Tujuan Penelitian	3
BAB II TINJUAN PUSTAKA	4
II.1. Infeksi	4
II.1.1. Definisi Infeksi	4
II.1.2. Patogenitas Infeksi	5
II.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	6
II.2.1. Definisi	6
II.2.2. Klasifikasi	6
II.2.3. Morfologi <i>Staphylococcus aureus</i>	7
II.2.4. Pengobatan Infeksi <i>S.aureus</i>	8
II.3. Kafein	8
II.4. <i>Drosophila melanogaster</i>	10
II.4.1. Deskripsi <i>Drosophila melanogaster</i>	10

II.4.2. Taksonomi <i>Drosophila melanogaster</i>	10
II.4.3. Siklus Hidup	11
II.4.4. Imunitas dari <i>Drosophila melanogaster</i>	12
II.4.5. Ekspresi Gen <i>Drosomycin</i>	15
II.5. Polymerase Chain Reaction (PCR)	15
BAB III METODE KERJA	15
III.1. Alat dan Bahan	15
III.2.1. Preparasi Sampel	15
III.2.2. Penyiapan Hewan Uji (<i>Drosophila melanogaster</i>)	16
III.2.3. Pembuatan Pakan <i>Drosophila melanogaster</i>	16
III.2.4. Uji Model Infeksi <i>Staphylococcus aureus</i> Menggunakan <i>Drosophila melanogaster</i>	17
III.2.5. Pengujian Survival Dengan atau Tanpa Pemberian Kafein	17
III.2.6. Penyiapan Sampel RNA	17
III.2.7. Analisis Ekspresi Gen	19
III.2.8. Analisis Data	20
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	21
VI.1. Pengamatan Uji Survival <i>Drosophila melanogaster</i>	21
VI.2. Pemeriksaan Analisis Ekspresi Gen <i>Drosomycin</i> pada <i>Drosophila melanogaster</i>	22
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	25
V.1. Kesimpulan	25
V.2. Saran	25
DAFTAR PUSTAKA	26

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Sekuens primer masing-masing gen	19
2. Hasil <i>one-way anova</i> ekspresi gen <i>Drs</i>	35
3. Hasil uji lanjutan <i>Tukey</i> ekspresi gen <i>drs</i>	35

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Mekanisme Umum Patogenesis Bakteri	5
2. <i>Staphylococcus aureus</i>	7
3. Struktur kafein	9
4. <i>Drosophila melanogaster</i>	10
5. Siklus hidup <i>D. melanogaster</i>	12
6. Pengenalan kekebalan agen mikroba di <i>Drosophila melanogaster</i>	14
7. Ekspresi Gen <i>Drosomycin</i>	15
8. Grafik Survival <i>D. melanogaster</i> yang telah diinfeksi dengan <i>S. aureus</i> dan diberikan Kafein sebagai pengobatan	21
9. Grafik ekspresi Gen <i>Drs</i> antara Kontrol sehat dan juga kontrol Infeksi	22
10. Ekspresi gen <i>Drs</i>	23
11. Pembuatan Pakan <i>D. melanogaster</i>	33
12. Pembuatan suspensi biakan	33
13. Pakan yang berisi lalat stok	34
14. Larva yang menghitam	34
15. Isolasi RNA	34
16. Sampel yang telah diisolasi	34
17. Proses PCR Sampel	34

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Preparasi Sampel	29
2. Penyiapan Hewan Uji	29
3. Pembuatan Pakan	29
4. Model Infeksi	30
5. Penyiapan Pakan Pengujian	30
6. Skema Kerja Uji Survival	31
9. Analisis Ekspresi Gen	32
10. Perhitungan bahan dan konsentrasi	32
11. Gambar Penelitian	33
12. Data Statistik	35

DAFTAR SINGKATAN

AMPs (*Antimicrobial peptides*)

D. melanogaster (*Drosophila melanogaster*)

Drs (*Drosomycin*)

IL6-RE (*Interleukin-6 response element*)

NF κ B (*Nuclear Factor κ B*)

PRR (*Pattern recognition receptor*)

rp49 (*Ribosome protein 49*)

RT-qPCR (*Reverse Transcription quantitative Polymerase Chain Reaction*)

S. aureus (*Staphylococcus aureus*)

TLR (*Toll-like*)

TLRs (*Toll-like receptor*)

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Infeksi dapat menimbulkan dampak epidemiologi, sehingga terjadi peningkatan pasien rawat inap yang berkepanjangan dan juga kematian yang tinggi. Tercatat 5-60% infeksi di seluruh dunia dapat menyebabkan kematian (Amelia *et al.*, 2021). Salah satu penyebab infeksi yaitu bakteri patogen, contohnya *Staphylococcus aureus* (WHO, 2017). *S. aureus* adalah mikroorganisme yang tinggal di kulit dan saluran pernapasan dengan potensi patogen yang menyebabkan berbagai infeksi kulit hingga pneumonia nekrotikans parah (Oliveira *et al.*, 2018).

Pedoman penggunaan antibiotik dalam Permenkes RI No. 28 Tahun 2021, menyatakan bahwa penanganan infeksi *S. aureus* dilakukan dengan memberikan antibiotik (Kemenkes RI, 2021). Namun, dilaporkan bahwa sejumlah besar bakteri patogen telah resisten terhadap berbagai macam antibiotik seperti golongan aminoglikosida, sefalosporin, penisilin, tetrasiklin dan ciprofloxacin (Odonkor *et al.*, 2011). Berdasarkan uraian tersebut maka diperlukan upaya untuk menemukan kandidat senyawa obat baru yang dapat berperan sebagai antibakteri. Dari sekian banyaknya kandidat senyawa obat baru ditemukan kafein sebagai senyawa antibakteri.

Kafein berasal dari sumber makanan seperti kopi dan teh (Eshimone *et al.*, 2008). Nilai yang telah dikonfirmasi bahwa aktivitas kafein yang diisolasi dari kopi dan teh dapat menghambat *S. aureus*, nilai

konsetrasi hambat minimunnya (KHM) yaitu berkisar 125 µg/ml. Telah dilaporkan bahwa Kafein juga dapat meningkatkan konsentrasi beberapa sel imunokompeten dan memperkuat aktivitas lisozim (Mohammed dan Bayati, 2009). Lisozim dapat menghancurkan dinding sel bakteri gram-positif dengan cara menghidrolis glukosamin N-Asetil (Jiang *et al.*, 2015). Efek antibakteri dari kafein kemungkinan diperoleh melalui penghambatan beberapa enzim seluler, sehingga jika enzim ini dihambat maka penggabungan adenin dan timidin juga terhambat selama sintesis DNA (Mohammed dan Bayati, 2009). Namun, hingga saat ini belum tersedia hasil pengujian *in vivo* efek antibakteri kafein terhadap *S. aureus*. Oleh karena itu penting untuk dilakukan menggunakan hewan model yang sesuai.

Salah satu hewan model yang dapat digunakan dalam pengujian *in vivo* yaitu *Drosophila melanogaster* karena mempunyai kemiripan genetik sekitar 75% dengan manusia. Selain itu, *D. melanogaster* memiliki keuntungan yaitu mudah dipelihara, tingkat reproduksi yang tinggi dan juga biaya pemeliharaan yang relatif murah (Nainu, 2018). Mekanisme imun utama yang ditemukan pada *Drosophila* melibatkan pensinyalan oleh reseptor dalam jalur Toll. Jalur toll akan mengaktifkan sintesis *Antimicrobial peptides* (AMP), salah satunya adalah *Drocomysin*. AMP akan memberikan perlindungan sistemik terhadap patogen yang dapat menyerang rongga tubuh (Huaping *et al.*, 2018).

Berdasarkan uraian di atas, maka penelitian ini dilakukan untuk melihat efek antibakteri kafein terhadap *S. aureus* menggunakan model *D. melanogaster*.

I.2 Rumusan Masalah

Apakah kafein dapat memiliki efek antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* secara *in vivo* menggunakan hewan model *Drosophila melanogaster*?

I.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui aktivitas antibakteri senyawa kafein terhadap *Staphylococcus aureus* pada model *Drosophila melanogaster*.

BAB II

TINJUAN PUSTAKA

II.1 Infeksi

II.1.1 Definisi Infeksi

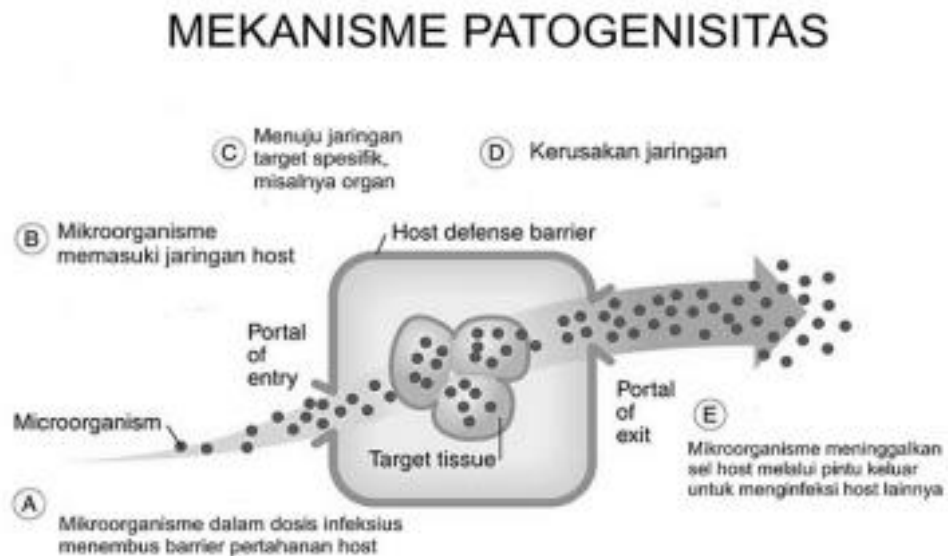
Infeksi adalah perbanyakan agen infeksi di dalam tubuh, dengan cara berkembang biak dari mikrobiota normal saluran cerna, kulit, dan sebagainya (Jawetz *et al.*, 2019). Menurut Djide dan Sartini (2016), infeksi merupakan masuknya mikroba ke dalam inang, sehingga dapat memperbanyak diri ataupun bergabung dengan inangnya. Infeksi berbeda dengan penyakit, bakteri dapat menyebabkan penyakit tergantung dari patogenitasnya. Patogenitas infeksi mencakup awal mula proses infeksi dan mekanisme timbulnya tanda ataupun gejala penyakit.

Penyakit infeksi adalah gangguan yang disebabkan oleh mikroorganisme seperti bakteri, virus, jamur, atau parasit. Infeksi dapat menimbulkan gejala klinis ataupun mungkin asimtomatik, yang dikenal sebagai *carrier* (pembawa parasit, bakteri, virus) (Joegijantoro, 2019).

Kemampuan mikroorganisme patogen untuk menyebabkan penyakit tidak hanya dipengaruhi oleh komponen yang melekat pada mikroba, tapi juga oleh kemampuan inang (*Host*) untuk melawan infeksi. Untuk dapat menyebabkan penyakit, mikroorganisme patogen harus, mendapatkan akses ke *host*; menempel di jaringan *host*, menembus atau menghindari mekanisme pertahanan tuan rumah, serta merusak *host*, baik secara langsung ataupun akumulasi limbah mikroba (Joegijantoro, 2019).

II.1.2 Patogenitas Infeksi

Patogenitas bakteri dimulai dari masuknya bakteri kedalam tubuh, bakteri akan melekat pada sel inangnya, seperti epitel. Setelah menempati tempat infeksi, bakteri akan memperbanyak diri dan menyebar secara langsung ke aliran darah melalui jaringan atau sistem limfatik. Bakteri akan menyebar luas dalam tubuh dan mencapai jaringan yang cocok untuk multiplikasinya (Djide dan Sartini, 2016).



Gambar 1. Mekanisme Umum Patogenesis Bakteri (Joegijantoro, 2019)

Patogenesis dari bakteri didasarkan pada (Joegijantoro, 2019):

- 1) Kemampuan untuk menyerang jaringan (*invasiveness*) yang meliputi mekanisme untuk kolonisasi (perlekatan dan multiplikasi awal), kemampuan untuk melawan atau mengatasi mekanisme pertahanan inang, dan produksi zat ekstraseluler.

- 2) Kemampuan memproduksi racun (*toksigenesis*). Pada tingkat kimia, ada dua jenis utama dari racun bakteri, lipopolisakarida, yang terdapat pada dinding sel bakteri Gram-negatif, dan protein, yang dilepaskan dari sel bakteri dan dapat bereaksi di jaringan *host*.

II.2 Staphylococcus aureus

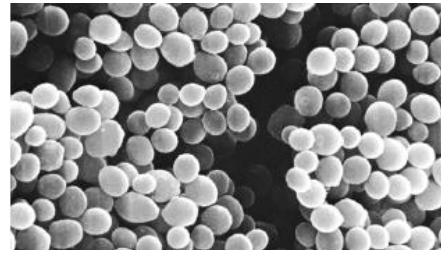
II.2.1 Definisi

Staphylococcus aureus adalah patogen berbahaya yang dapat menyebabkan banyak penyakit berbeda. Salah satu penyakit yang sering terjadi akibat *S. aureus* yaitu infeksi kulit dan infeksi pada saluran pernapasan (Otto, 2014). *S. aureus* merupakan anggota mikrobiota normal pada kulit dan selaput lendir manusia, menyebabkan nanah, pembentukan abses, berbagai infeksi piogenik, dan bahkan septikemia yang fatal. *Staphylococcus* adalah patogen yang sering menghemolisis darah, menggumpalkan plasma, dan menghasilkan berbagai enzim ekstra seluler dan toksin (Jawetz *et al.*, 2019).

II.2.2 Klasifikasi

Staphylococcus aureus memiliki klasifikasi sebagai berikut (Garrity *et al.*, 2007) :

Kingdom : Bacteria
Filum : Firmicutes
Class : Bacili
Ordo : Bacillales
Famili : Staphylococcaceae
Genus : Staphylococcus
Species : *Staphylococcus aureus*



Gambar 2. *Staphylococcus aureus*
(Jawetz et al., 2019)

II.2.3 Morfologi *Staphylococcus aureus*

S. aureus adalah bakteri Gram-positif (berwarna ungu jika dilakukan pewarnaan Gram), memiliki sel bulat yang tersusun dalam kelompok yang tidak teratur. Kokus muda dengan ukuran diameter 0.5-1.0 μm sangat bernoda Gram-positif; pada penuaan, banyak sel menjadi Gram-negatif. *Staphylococcus* bersifat nonmotil dan tidak membentuk spora (non-spora). *S. aureus* ditemukan hidup bebas di lingkungan dan membentuk paket reguler empat atau delapan kokus. Koloni mereka bisa berwarna kuning, merah, atau oranye. Micrococci jarang dikaitkan dengan penyakit (Jawetz et al., 2019; Schleifer, 2009).

S.aureus mudah tumbuh pada sebagian besar media bakteriologis dalam kondisi aerobik atau mikroaerofilik. Mereka tumbuh paling cepat pada suhu 37°C tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20–25°C). Pada media, organisme ini berwarna emas atau kuning dan pertumbuhan koloni tampak samping timbul, halus, berkilau, tembus

cahaya, dengan seluruh tepi (*entire*), diameter koloni >5mm. Organisme ini bersifat anaerob (fakultatif) (Jawetz *et al.*, 2019; Schleifer, 2009).

II.2.4 Pengobatan Infeksi *S.aureus*

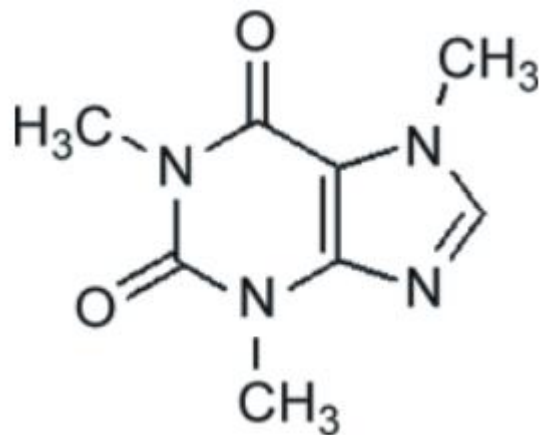
Pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri *S.aureus* dapat diobati dengan antibiotik yang tepat seperti Penisilin. Penisilin semisintetik (nafsilin atau oksasilin) diindikasikan untuk strain penghasil β -laktamase. Pada pasien dengan riwayat alergi penisilin tipe lambat, sefalosporin seperti cefazolin atau sefalotin merupakan alternatif yang dapat diterima. Data *in-vitro* dari studi eksperimental dan klinis menunjukkan bahwa vankomisin adalah obat antistaphylococcal yang kurang efektif dibandingkan β -laktam. Oleh karena itu, pemilihan vankomisin sebagai alternatif pengganti β -laktam pada pasien dengan riwayat alergi harus dipertimbangkan dengan hati-hati (lowy, 1998).

II.3 Kafein

Kafein adalah zat alami yang ditemukan di daun, biji atau buah. Kafein. Kafein memiliki waktu ekskresi yang singkat sehingga tidak menumpuk di dalam tubuh (Mumin *et al.*, 2006). Namun mengkonsumsi kafein sebanyak 100 mg tiap hari dapat menyebabkan ketergantungan. Efek lain dari kafein yaitu dapat meningkatkan denyut jantung dan berisiko terhadap penumpukan kolesterol, menyebabkan kecacatan pada anak

yang dilahirkan (Maramis, 2013). Selain itu, kafein juga dapat meningkatkan sistem imun terhadap serangan bakteri dengan meningkatkan konsentrasi beberapa sel imunokompeten dan memperkuat aktivitas lisozim (Mohammed and bayati, 2009).

Kafein 3,7-dihydro-1,3,7-trimetil-1H-purin-2,6-dion memiliki pemerian yaitu bubuk putih dan sangat pahit, dapat larut dalam air, dan dapat ditemukan pada kopi dan juga teh hijau (Mohammed and bayati, 2009; Mumin *et al.*, 2006).



Gambar 3. Struktur kafein (Mohammed and bayati, 2009)

Kafein memiliki berat molekul 194,19 gram, titik lebur 236°C, pH 6,9 (larutan 1%), berat jenis 1,2, volatilitas 0,5%, tekanan uap 760 mm Hg pada 178°C, kelarutan dalam air adalah 2,17%, densitas uap 6,7 (Mumin *et al.*, 2006).

II.4 *Drosophila melanogaster*

II.4.1 Deskripsi *Drosophila melanogaster*

Karakteristik *Drosophilla melanogaster* tipe normal dicirikan dengan mata merah, mata majemuk berbentuk bulat agak ellips dan mata tunggal. warna tubuh kuning kecoklatan dengan cincin berwarna hitam di tubuh bagian belakang. Tubuhnya berukuran kecil antara 3-5 mm. Sayap *D. melanogaster* cukup panjang dan transparan. Sungutnya (*arista*) berbentuk bulu yang digunakan sebagai indra atau perasa, dan memiliki 7-12 percabangan. *Crossvein posterior* biasanya lurus dan tidak melengkung. Toraksnya berbulu dengan warna dasar putih, sedangkan abdomennya bersegmen lima dan bergaris hitam. *Drosophila* betina berukuran lebih besar dari *Drosophila* jantan (Kardinan, 2010).

II.4.2 Taksonomi *Drosophila melanogaster*

Dalam sistematika taksonomi, lalat buah (*Drosophila melanogaster*) dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Hadi dkk., 2009):

Kingdom : Animalia
 Phylum : Arthropoda
 Subphylum : Hexapoda
 Class : Insecta
 Ordo : Diptera
 Family : Drosophilidae
 Genus : *Drosophila*

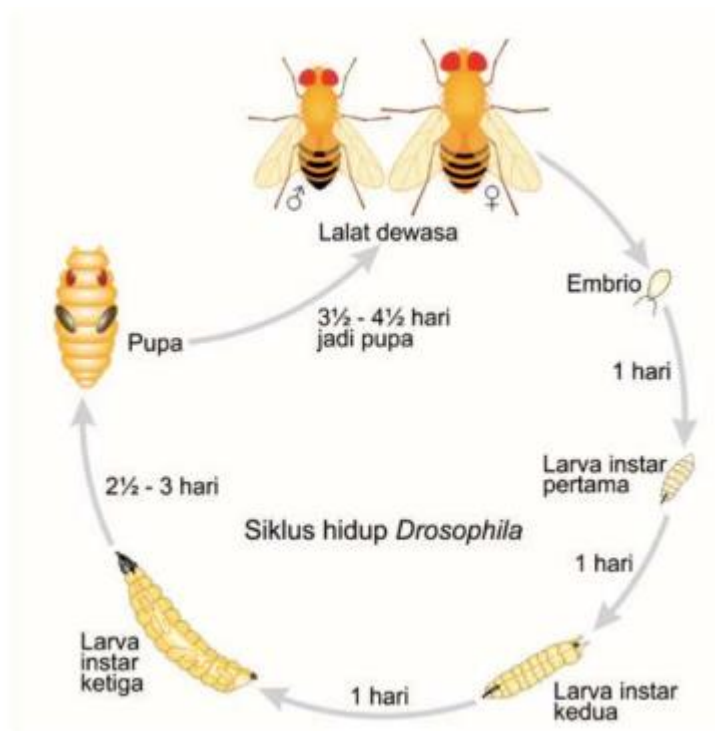


Gambar 4. *Drosophila melanogaster* (Reaume dan Sokolowski, 2006).

Spesies : *Drosophila melanogaster*

II.4.3 Siklus Hidup

Drosophila melanogaster hidup di tempat makannya, dimana lalat melakukan pembuahan telur dan oviposisi di sumber makanannya (Reaume dan Sokolowski, 2006). Masa hidup *D. melanogaster* yaitu sekitar 2-3 bulan, fase-fase tersebut terjadi dalam kurun waktu yang tidak terlalu lama. Lalat buah mengalami metamorfosis sempurna dari telur, larva, pupa dan akhirnya menjadi serangga dewasa (imago). Telur yang berumur 2-3 hari diletakkan oleh serangga betina kedalam makanannya menggunakan alat bertelurnya (ovipositor). Selain itu, telur akan menetas menjadi larva dan berkembang menjadi larva instar pertama hanya dalam sehari lalu kemudian berkembang menjadi larva instar kedua dan ketiga berturut-turut dalam waktu satu dan dua hari. Pada akhirnya, larva instar ketiga akan berubah menjadi pupa dan setelah kurang lebih lima hari (pada suhu inkubasi 25°C). Lalat dewasa akan keluar dari cangkang pupa (*pupal case*) untuk selanjutnya disebut sebagai lalat dewasa. Siklus hidup *D. melanogaster* (Kardinan, 2010; Nainu, 2018).



Gambar 5. Siklus hidup *D. melanogaster* (Nainu, 2018)

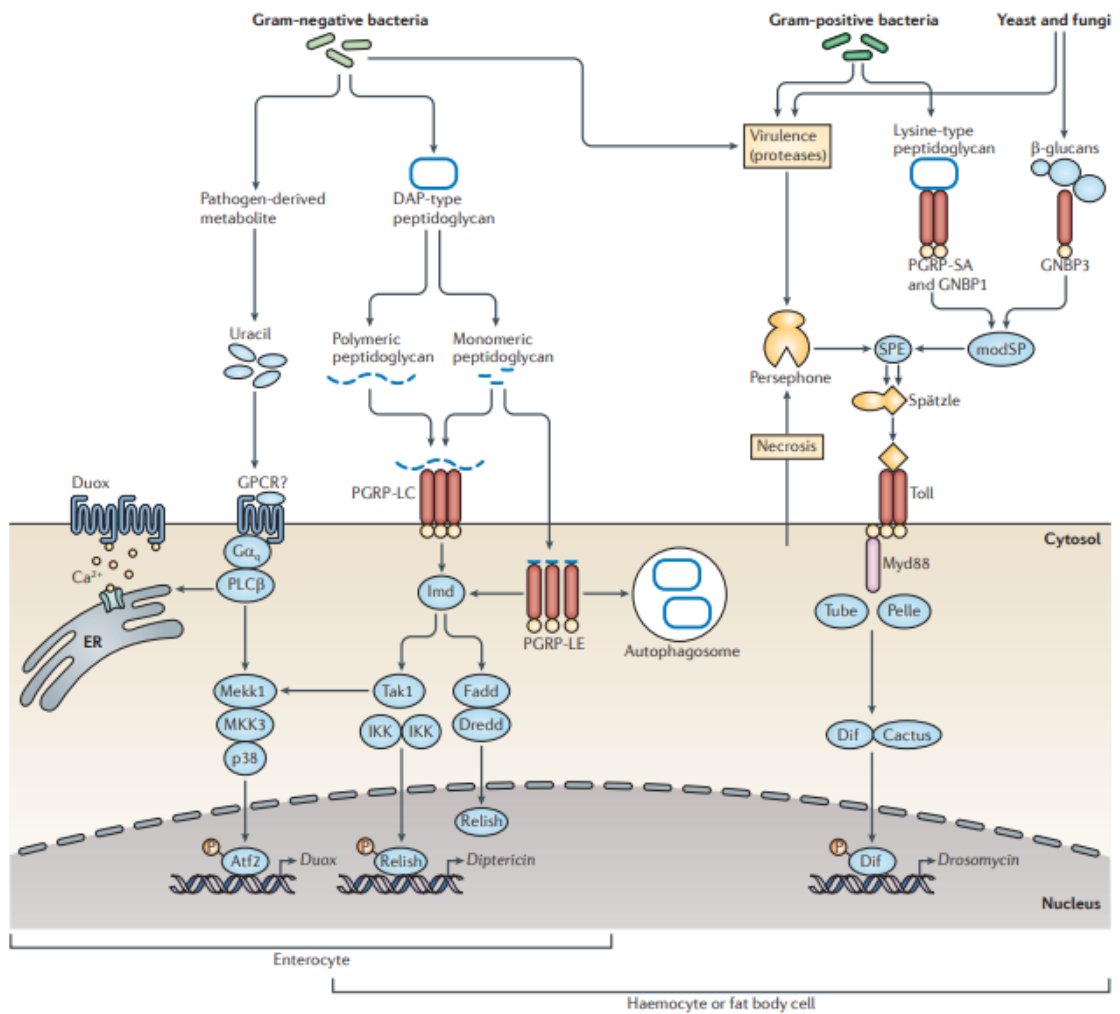
II.4.4 Imunitas dari *Drosophila melanogaster*

Lalat buah (*D. melanogaster*) adalah hewan model yang digunakan untuk mempelajari bagaimana respons fisiologis terintegrasi dengan imunitas dan bagaimana gangguan integrasi ini menyebabkan patologi. Lalat dapat digunakan untuk mempelajari beberapa penyakit seperti infeksi, karena lalat dapat terinfeksi secara alami oleh bakteri, jamur dan virus. (Buchon *et al.*, 2004). Sistem imun lalat buah sangat mirip dengan manusia sehingga dapat dijadikan sebagai hewan uji untuk menentukan mekanisme pengaturan sistem imun manusia pada tingkat seluler dan molekuler. Tidak hanya itu, lalat buah dapat dikontrol genetiknya terhadap aktivitas protein-

protein sistem imun atau pada saat proses pengenalan antigen dari patogen maupun benda asing lainnya (Nainu, 2018).

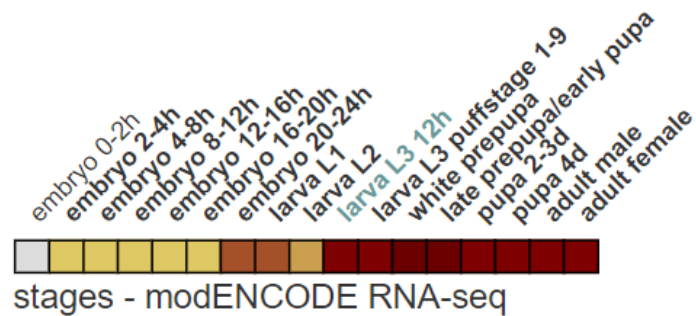
Mekanisme imun utama yang ditemukan pada manusia dan *Drosophila* melibatkan pensinyalan oleh reseptor dalam jalur Toll. Pada manusia, setelah infeksi mikroba, *Toll-like receptor* (TLRs) mengaktifkan sintesis sitokin serta molekul lain yang merangsang induksi sistem imun adaptif. Di *Drosophila*, Toll mengaktifkan sintesis *Antimicrobial peptide* (AMP) oleh lemak tubuh, fungsi yang setara dengan hati manusia dan jaringan adiposa. Karena AMP yang disintesis akan disekresikan ke dalam hemolim yang fungsinya mirip dengan darah dan akan menggenangi semua jaringan dan organ internal, AMP memberikan perlindungan sistemik terhadap patogen yang dapat menyerang rongga tubuh. Pada manusia, patogen langsung dirasakan oleh TLR, tetapi pada *Drosophila*, mereka terdeteksi oleh *Pattern Recognition Receptor* (PRR) yang beredar yang memicu kaskade protease, yang menyebabkan pembelahan protein Spätzle untuk menghasilkan ligan yang mengaktifkan pensinyalan Toll. Di *Drosophila*, jalur Toll lebih responsif terhadap infeksi oleh bakteri dan jamur Gram-positif, sedangkan jalur Imd mengaktifkan sintesis AMP sebagai respons terhadap infeksi oleh bakteri Gram-negatif. Kedua jalur tersebut, dan juga TLR manusia, memicu ekspresi gen imun dengan mengaktifkan faktor transkripsi dalam keluarga NF- κ B (Huaping *et al.*, 2018). Aktivasi toll pada akhirnya mengarah pada translokasi nuklir dari faktor transkripsi *Nuclear Factor* κ B (NF- κ B) Dif, untuk menginduksi ekspresi gen AMP seperti *Drosomycin*, serta gen target

lainnya. Aktivasi jalur Imd mengarah ke translokasi nuklir faktor transkripsi. NF- κ B Relish untuk mengaktifkan ekspresi gen AMP seperti *Diptericin* (Buchon *et al.*, 2014).



Gambar 6. Pengenalan kekebalan agen mikroba di *Drosophila melanogaster* (Buchon, 2014)

II.4.5 Ekspresi Gen *Drosomycin*



Gambar 7. Ekspresi Gen *Drosomycin* (FLyBase)

II.5 Polymerase Chain Reaction (PCR)

PCR dapat dianggap sebagai mesin fotokopi molekuler, prinsip dasar PCR adalah metode yang digunakan untuk memperoleh banyak salinan dari untai asam nukleat tertentu. *Polymerase chain reaction* (PCR) adalah dari sepotong untaian DNA di beberapa urutan besarnya, untuk menghasilkan ribuan hingga jutaan salinan urutan DNA tertentu (Joshi dan Deshpande, 2010). Kuantitatif real-time atau qRT-PCR memberikan informasi lebih dari sekadar deteksi DNA. Ini menunjukkan berapa banyak DNA atau gen tertentu yang ada dalam sampel. qRT-PCR memungkinkan deteksi dan kuantifikasi sampel PCR secara real-time, saat sedang disintesis (Garibyan dan Avashia, 2013).