

**ANALISIS EKSPRESI GEN *pepck* DAN *srl* PADA  
MODEL DIABETES *Drosophila melanogaster***

**ANALYSIS OF *pepck* AND *srl* GENE EXPRESSION IN  
*Drosophila melanogaster* DIABETES MODEL**

**JIHAN ATIQA PERMATASARI  
N011201005**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**ANALISIS EKSPRESI GEN *pepck* DAN *srl* PADA  
MODEL DIABETES *Drosophila melanogaster***

**ANALYSIS OF *pepck* AND *srl* GENE EXPRESSION IN  
*Drosophila melanogaster* DIABETES MODEL**

**JIHAN ATIQA PERMATASARI  
N011201005**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**ANALISIS EKSPRESI GEN *pepck* DAN *srl* PADA MODEL DIABETES  
*Drosophila melanogaster***

**ANALYSIS OF *pepck* AND *srl* GENE EXPRESSION IN *Drosophila*  
*melanogaster* DIABETES MODEL**

**SKRIPSI**

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

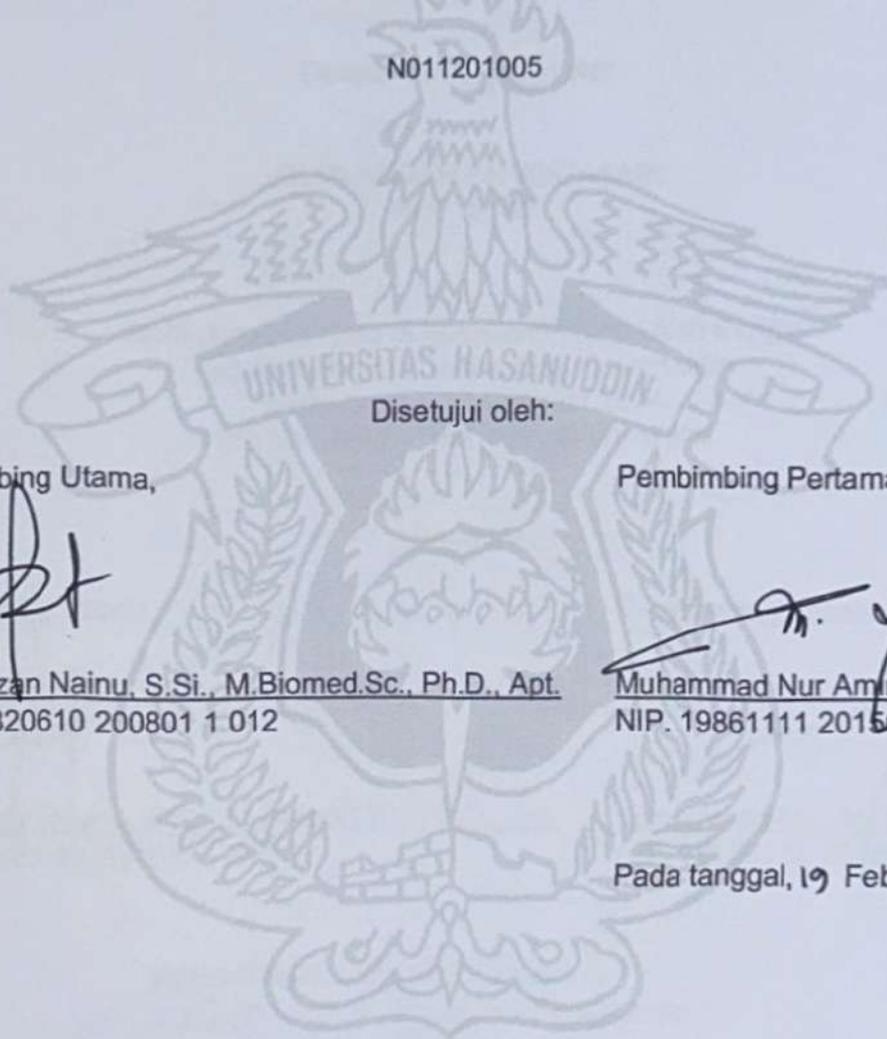
**JIHAN ATIQA PERMATASARI  
N011201005**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

ANALISIS EKSPRESI GEN *pepck* DAN *srf* PADA MODEL DIABETES  
*Drosophila melanogaster*

JIHAN ATIQA PERMATASARI

N011201005



Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

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

Pembimbing Pertama,

Muhammad Nur Amr, S.Si., M.Si., Apt.  
NIP. 19861111 201504 1 001

Pada tanggal, 19 Februari 2024

**SKRIPSI**  
**ANALISIS EKSPRESI GEN *pepck* DAN *srl* PADA MODEL DIABETES**  
***Drosophila melanogaster***

**ANALYSIS OF *pepck* AND *srl* GENE EXPRESSION IN *Drosophila***  
***melanogaster* DIABETES MODEL**

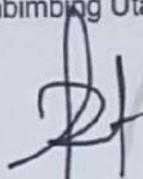
Disusun dan diajukan oleh :

**JIHAN ATIQA PERMATASARI**  
**N011201005**

telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin  
pada tanggal 13 Februari 2024  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

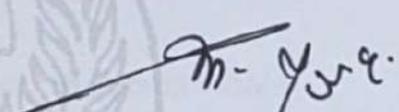
Menyetujui,

Pembimbing Utama,



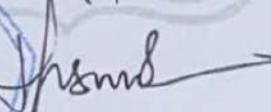
Prof. Firzan Nainu, S.Si., M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt.  
NIP. 19820610 200801 1 012

Pembimbing Pertama,



Muhammad Nur Amir, S.Si., M.Si., Apt.  
NIP. 19861111 201504 1 001

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 di bawah ini:

Nama : Jihan Atiqah Permatasari

NIM : N011201005

Program Studi : Farmasi

Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa skripsi dengan judul "Analisis Ekspresi Gen *pepck* dan *srl* pada Model Diabetes *Drosophila melanogaster*" adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila di kemudian 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, 16 Februari 2024

Yang menyatakan



*Jihan Atiqah Permatasari*

Jihan Atiqah Permatasari

## UCAPAN TERIMA KASIH

Bismillahirrahmanirrahim, segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhanahu wa ta'ala atas berkat, rahmat, dan kehidupan hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Tidak ada persembahan terbaik yang dapat penulis berikan selain ucapan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dan mendukung penulis dalam penyelesaian skripsi ini. Maka pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan banyak terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Firzan Nainu, S.Si., M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt. selaku pembimbing utama yang telah membimbing, memberikan arahan, motivasi, dan meluangkan waktunya serta fasilitas kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Bapak Muhammad Nur Amir, S.Si., M.Si., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing, memberikan arahan, saran, dan motivasi kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
3. Bapak Usmar, 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. Ibu Prof. Dr. Sartini, M.Si., Apt. selaku dosen pembimbing akademik penulis atas segala ilmu dan arahan selama penulis menempuh studi.

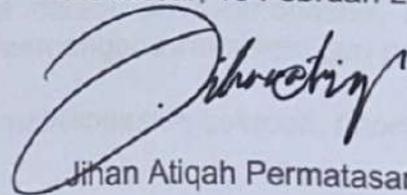
5. Dekan dan Wakil Dekan, serta seluruh staf dosen dan pegawai Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan kontribusi dalam pengembangan serta peningkatan mutu dan kualitas serta fasilitas yang diberikan sehingga bisa digunakan dalam penelitian ini.
6. Kedua orang tua penulis Ayahanda Dr. Darwis Lannai., S.E., M.M., Ak., CA., ACPA dan Ibunda Yusniar, S.E yang selalu memberi dukungan dalam segala aspek termasuk moral dan materil kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan perkuliahan ini.
7. Keluarga besar Bapak Lannai dan Bapak Mattinetta yang selalu memberi dukungan dan doa untuk penulis.
8. Teman-teman UFRG, terutama Nadiyah, Firdaus, Aizia, Adit, Ilham, Gimas, Hiday, Ismi, Kak Widya, Kak Avi, Kak Dewita, Kak Tenri, Kak Acul, Kak Nadil, dan Kak Mukarram yang telah memberikan ilmu dan bantuan dalam menyelesaikan penelitian ini.
9. Teman-teman korps Asisten Biofar khususnya “HE20 BIOFAR”, Gusni, Tari, Afia, Nadiyah, Maung, Hiday, Ame, Musda, Rayya, Nurfi, Atisa, Mashur, Ilham, dan Alm. Fail yang menjadi teman seperjuangan serta tempat berbagi keluh kesah selama proses perkuliahan.
10. Teman-teman satu bimbingan khususnya Nadiyah dan Ismi yang saling membantu dan menyemangati selama penelitian.
11. Teman-teman PT, Aliyyah, Inna, Gusni, Tari, Suge, Aqilah, Mira, Catlyea, Novi, Irsad, Firdaus, dan Adit yang selalu mendengar cerita penulis,

memberikan dukungan, doa, dan bantuan kepada penulis selama perkuliahan hingga penyusunan skripsi ini.

12. Teman-teman angkatan 2020 (HE20IN) yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu, kalian sangat berarti dalam perjalanan kuliah penulis.
13. Semua pihak yang telah membantu namun tidak sempat disebutkan namanya satu persatu.

Penulis menyadari skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan masukan yang membangun dari berbagai pihak. Semoga karya ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan dipergunakan sebaik baiknya.

Makassar, 16 Februari 2024



Jihan Atiqah Permatasari

## ABSTRAK

**JIHAN ATIQA PERMATASARI.** *Analisis Ekspresi Gen pepck dan srl pada Model Diabetes Drosophila melanogaster* (dibimbing oleh Firzan Nainu dan Muhammad Nur Amir).

Di Indonesia, kasus diabetes mellitus (DM) sebesar 11,3% dan diperkirakan terus meningkat apabila tidak ditangani dengan baik. DM merupakan suatu kondisi kelainan metabolisme pada tubuh yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa dalam darah. Peningkatan kasus tersebut menyebabkan berkembangnya riset mengenai model hewan diabetes, salah satunya penggunaan *Drosophila melanogaster*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui analisis ekspresi gen *pepck* dan *srl* pada model diabetes *Drosophila melanogaster*. Penelitian ini diawali dengan membuat model diabetes melalui variasi pakan diet tinggi gula (DTG) dengan 4 konsentrasi sukrosa yang berbeda, yaitu kontrol (4,5%), DTG 1 (15%), DTG 2 (24,5%), dan DTG 3 (34,2%). Kemudian, penelitian ini dilakukan pengukuran panjang dan berat badan larva, uji kadar glukosa, serta analisis ekspresi gen *pepck* dan *srl* dari masing-masing kelompok. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa peningkatan kadar sukrosa akan menurunkan panjang dan berat badan larva, meningkatkan kadar glukosa dalam *D. melanogaster*, serta memengaruhi ekspresi gen *srl*, tetapi tidak memengaruhi ekspresi gen *pepck*.

Kata kunci : Diabetes mellitus, *Drosophila melanogaster*, sukrosa, *pepck*, *srl*

## ABSTRACT

**JIHAN ATIQA PERMATASARI.** Analysis of *pepck* and *srl* Gene Expression in *Drosophila melanogaster* Diabetes Model (supervised by Firzan Nainu and Muhammad Nur Amir).

In Indonesia, the prevalence of diabetes mellitus (DM) is 11.3% and is expected to continue the increase if not handled properly. DM is a condition of metabolic disorders in the body characterized by high levels of glucose in the blood. The increase in cases has led to the development of research on animal models of diabetes, one of which is the use *Drosophila melanogaster*. This study aims to analyze the expression analysis of *pepck* and *srl* genes in *Drosophila melanogaster* diabetes model. The research began by creating a diabetic model through high sugar diet (HSD) feed variations with 4 different sucrose concentrations, namely control (4,5%), HSD 1 (15%), HSD 2 (24,5%), and HSD 3 (34,2%). Then, this research measured the length and body weight of the larvae, glucose test, and analyzed the expression of *pepck* and *srl* genes from each group. The results obtained indicate that an increase in sucrose concentration will decrease the length and body weight of larvae, increase glucose levels in the *D. melanogaster*, and affect the expression of the *srl* gene, but it does not affect the expression of the *pepck* gene.

**Keywords:** Diabetes mellitus, *Drosophila melanogaster*, sucrose, *pepck*, *srl*

## DAFTAR ISI

	halaman
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	vi
UCAPAN TERIMA KASIH	vii
ABSTRAK	x
ABSTRACT	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	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Diabetes Mellitus	5
II.1.1 Definisi	5
II.1.2 Klasifikasi dan patofisiologi	5
II.2 Drosophila melanogaster	7
II.2.1 Deskripsi Drosophila melanogaster	7
II.2.2 Taksonomi Drosophila melanogaster	8
II.2.3 Siklus hidup Drosophila melanogaster	8
II.2.4 Metabolisme glukosa pada Drosophila melanogaster	9
II.3 Gen	11
II.3.1 Gen pepck	11
II.3.2 Gen srl	12
II.4 Polymerase Chain Reaction (PCR)	13
BAB III METODE KERJA	16
III.1 Alat dan Bahan	16
III.2 Metode Kerja	16
III.2.1 Penyiapan hewan uji (Drosophila melanogaster)	16

III.2.2 Pembuatan pakan dan penyiapan hewan model diabetes <i>Drosophila melanogaster</i>	17
III.2.3 Uji Kadar Glukosa pada <i>Drosophila melanogaster</i>	18
III.2.4 Pengukuran Panjang dan Berat Badan Larva	18
III.2.5 Penyiapan sampel RNA	19
III.2.6 Analisis ekspresi gen	20
III.3 Analisis Data dan Penarikan Kesimpulan	21
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	22
IV.1 Uji Kadar Glukosa pada <i>D. melanogaster</i>	22
IV.2 Pengukuran Panjang dan Berat Badan Larva	23
IV.3 Pemeriksaan Analisis Ekspresi Gen	25
IV.3.1 Uji ekspresi gen <i>pepck</i>	25
IV.3.1 Uji ekspresi gen <i>srl</i>	26
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	28
V.1 Kesimpulan	28
V.2 Saran	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	33

## DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Komposisi pakan <i>Drosophila melanogaster</i>	17
2. Sekuens primer masing-masing gen	21
3. Hasil uji kadar glukosa pada <i>D. melanogaster</i>	34
4. Hasil <i>one-way anova</i> uji kadar glukosa pada <i>D. melanogaster</i>	34
5. Hasil uji lanjutan <i>Tukey</i> uji kadar glukosa pada <i>D. melanogaster</i>	34
6. Hasil pengukuran panjang badan larva	34
7. Hasil <i>one-way anova</i> pengukuran panjang badan larva	34
8. Hasil uji lanjutan <i>Tukey</i> pengukuran panjang badan larva	35
9. Hasil pengukuran berat badan larva	35
10. Hasil <i>one-way anova</i> pengukuran berat badan larva	35
11. Hasil uji lanjutan <i>Tukey</i> pengukuran berat badan larva	35
12. Hasil <i>one-way anova</i> ekspresi gen <i>pepck</i>	35
13. Hasil uji lanjutan <i>Tukey</i> ekspresi gen <i>pepck</i>	35
14. Hasil <i>one-way anova</i> ekspresi gen <i>srl</i>	35
15. Hasil uji lanjutan <i>Tukey</i> ekspresi gen <i>srl</i>	36

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Siklus hidup lalat buah <i>D. melanogaster</i>	9
2. Data ekspresi gen <i>pepck</i>	12
3. Jalur insulin-TOR	13
4. Data ekspresi gen <i>srl</i>	13
5. Komponen dan proses PCR	15
6. Grafik uji kadar glukosa yang telah diberikan pakan sukrosa dengan berbagai konsentrasi	22
7. Grafik uji ukuran panjang dan berat badan larva yang telah diberikan pakan sukrosa dengan berbagai konsentrasi	24
8. Hasil ekspresi gen <i>pepck</i> yang telah diberikan pakan sukrosa dengan berbagai konsentrasi	25
9. Hasil ekspresi gen <i>srl</i> yang telah diberikan pakan sukrosa dengan berbagai konsentrasi	26
10. Pembuatan pakan	37
11. Pengukuran panjang badan larva	37
12. Pengukuran berat badan larva	37
13. Uji kadar glukosa pada <i>D. melanogaster</i>	37
14. Isolasi RNA	37
15. Pengujian ekspresi gen	37

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema kerja perlakuan uji	33
2. Skema kerja analisis ekspresi gen	33
3. Data statistik	34
4. Dokumentasi	37

# BAB I

## PENDAHULUAN

### I.1 Latar Belakang

Pada tahun 2021, *International Diabetes Federation* (IDF) menyatakan bahwa terdapat sekitar 537 juta jiwa dengan umur 20-79 tahun yang menderita diabetes (Boyko *et al.*, 2021). Jumlah ini diperkirakan terus meningkat hingga lebih dari 1,31 miliar jiwa pada tahun 2050 apabila kondisinya tidak ditangani dengan baik (Ong, 2021). Akibat dari banyaknya kasus tersebut menyebabkan diabetes termasuk penyakit dengan pertumbuhan paling cepat (Boyko *et al.*, 2021). Pada wilayah Asia Tenggara, Indonesia berada pada peringkat ke-3 dengan jumlah kasus penderita diabetes sebesar 11,3% (Resti & Widya, 2022). Adapun jenis diabetes yang banyak terdapat di Indonesia, yaitu diabetes mellitus tipe 2 dengan jumlah kasus sebesar 90% dari semua kasus diabetes (Fadilla *et al.*, 2023).

Diabetes mellitus (DM) merupakan suatu kondisi adanya kelainan metabolisme pada tubuh yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa dalam darah (hiperglikemia) akibat kekurangan insulin, resistensi insulin, ataupun keduanya (Hardianto, 2020). Kadar glukosa darah yang terus meningkat dan tidak ditangani dengan baik dapat menyebabkan komplikasi penyakit yang lain, seperti nefropati diabetik, neuropati diabetik, retinopati diabetik, ketoasidosis diabetik, hingga kematian (Renaldi *et al.*, 2022). Diabetes mellitus terbagi menjadi 2 tipe, yaitu tipe 1 dan tipe 2. Diabetes mellitus tipe 1 terjadi

akibat hasil dari reaksi autoimun pada protein sel beta pankreas sehingga insulin tidak dapat diproduksi, sedangkan diabetes mellitus tipe 2 terjadi akibat faktor genetik yang berhubungan dengan gangguan sekresi insulin, resistensi insulin serta faktor lingkungan yang berhubungan dengan obesitas, olahraga, stress, dan penuaan (Lestari *et al.*, 2021).

Penggunaan hewan coba *Drosophila melanogaster* (*D. melanogaster*) sangat sesuai sebagai model diabetes karena hewan ini memiliki *insulin producing cells* (IPCs) yang secara fungsional memiliki kemiripan dengan pankreas pada manusia. IPCs pada *D. melanogaster* memproduksi molekul yang dikenal sebagai *Drosophila insulin-like peptides* (DILP) yang prinsip kerjanya serupa dengan insulin yang diproduksi oleh sel beta pankreas pada manusia. Oleh karena itu, pemberian pakan diet tinggi gula (DTG) akan berpengaruh terhadap produksi DILP sehingga kadar glukosa dalam cairan tubuh (*hemolymph*) *D. melanogaster* akan meningkat (Nainu, 2018; Baenas & Anika, 2022).

Terdapat berbagai gen pada *D. melanogaster* yang berkaitan dengan pengujian diabetes mellitus yang berhubungan dengan metabolisme dari *D. melanogaster*, dua di antaranya gen yang mengkode *phosphoenolpyruvate carboxykinase* (*pepck*) dan *spargel* (*srl*). Gen *pepck* ini berperan dalam proses glukoneogenesis sehingga berperan utama dalam regulasi homeostasis glukosa (Onken *et al.*, 2020). Gen *srl* berperan dalam penggunaan oksigen di mitokondria sehingga mengatur produksi ATP dan protein pada matriks mitokondria dalam jalur insulin-TOR (Mukherjee & Atanu, 2013).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Musselman *et al.* (2011), ekspresi gen *pepck* berpengaruh terhadap pemberian pakan DTG pada larva dari induk yang diberikan pakan kontrol. Hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan bahwa ekspresi gen *pepck* akan meningkat saat diberikan pakan DTG dalam jangka waktu yang lama. Meskipun penelitian tersebut telah berhasil menganalisis gen *pepck*, tetapi saat ini belum terdapat penelitian yang melakukan analisis ekspresi gen *pepck* pada larva *D. melanogaster* yang pemberian pakan DTG dimulai dari induk hingga larvanya (Musselman *et al.*, 2011).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Baenas *et al.* (2016), ekspresi gen PGC-1 $\alpha$  yang homolog dengan gen *srl* pada lalat buah berpengaruh terhadap kadar glukosa. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa penurunan kadar glukosa akan meningkatkan ekspresi gen *srl* pada lalat dewasa jenis *w<sup>1118</sup>* (Baenas *et al.*, 2016). Lalat jenis *w<sup>1118</sup>* merupakan salah satu lalat tipe liar yang mengalami degenerasi retina sehingga memiliki mata yang berwarna putih (Ferreiro *et al.*, 2018). Namun, saat ini belum terdapat penelitian yang melakukan analisis ekspresi gen *srl* pada larva *D. melanogaster* jenis Canton S.

Oleh karena itu, pada penelitian ini penulis akan melihat pengaruh ekspresi gen *pepck* dan *srl* pada model diabetes pada hewan uji *Drosophila melanogaster*.

## **I.2 Rumusan masalah**

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah bagaimana profil ekspresi gen *pepck* dan *srl* pada model diabetes *Drosophila melanogaster*?

### **I.3 Tujuan penelitian**

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui profil ekspresi gen *pepck* dan *srl* pada model diabetes *Drosophila melanogaster*.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **II.1 Diabetes Mellitus**

##### **II.1.1 Definisi**

Diabetes mellitus (DM) merupakan suatu penyakit metabolik yang ditandai dengan tingginya kadar gula darah atau hiperglikemia akibat kelainan sekresi insulin, kerja insulin, ataupun keduanya. Gejala dari DM, yaitu polidipsia, poliuria, polifagia, penurunan berat badan, dan penglihatan yang kabur. Penyakit ini apabila tidak terkontrol akan menyebabkan penderita pingsan, koma, hingga kematian akibat ketoasidosis (Kharroubi & Hisham, 2015).

##### **II.1.2 Klasifikasi dan patofisiologi**

###### **II.1.2.1 Diabetes mellitus tipe 1 (DMT1)**

Kasus DMT1 sebesar 5-10% dari seluruh kasus diabetes. DMT1 terjadi akibat kelainan autoimun yang ditandai dengan hancurnya sel  $\beta$  pankreas yang dimediasi sel T sehingga terjadinya defisiensi insulin dan hiperglikemia. Selain itu, DMT1 dipengaruhi oleh faktor genetik dan lingkungan. Perkembangan autoimun pada sel  $\beta$  pankreas paling cepat terjadi pada bayi dan anak-anak, sedangkan pada orang dewasa perkembangannya bertahap (Banday *et al.*, 2020).

### **II.1.2.2 Diabetes mellitus tipe 2 (DMT2)**

Kasus DMT2 sebesar 90-95% dari seluruh kasus diabetes. DMT2 terjadi akibat resistensi insulin dan disfungsi sel  $\beta$  pankreas. Resistensi insulin terjadi akibat terganggunya jalur seluler sehingga respons dan sensitivitas sel-sel di dalam tubuh akan menurun. Adapun penurunan sensitivitas insulin akan memicu terjadinya hiperfungsi sel  $\beta$  pankreas sehingga akan meningkatkan kadar insulin dalam sirkulasi (hiperinsulinemia) yang dapat mencegah terjadinya hiperglikemia, tetapi apabila kondisi ini terus berlangsung mengakibatkan tubuh tidak mampu menyeimbangkan penurunan sensitivitas insulin secara memadai sehingga terjadinya defisiensi insulin. Hal tersebut mengakibatkan terjadinya hiperglikemia (Banday *et al.*, 2020).

Namun, perkembangan DMT2 berkembang sangat lambat. Adapun patogenesis DMT2 sering dikaitkan dengan penambahan usia, obesitas, riwayat keluarga diabetes, kurangnya aktivitas fisik, dan gaya hidup (Banday *et al.*, 2020).

### **II.1.2.3 Diabetes mellitus gestasional (DMG)**

DMG merupakan salah satu jenis diabetes akibat intoleransi glukosa yang didiagnosis sejak awal atau selama kehamilan, biasanya terjadi pada trimester kedua atau ketiga. Adapun risiko GDM ini akan meningkat seiring dengan bertambahnya usia, obesitas, riwayat gangguan toleransi glukosa sebelumnya, serta faktor kehamilan sebelumnya dengan bayi besar (Banday *et al.*, 2020).

#### **II.1.2.4 Diabetes mellitus tipe lain**

Diabetes mellitus tipe lain ini berhubungan dengan berbagai kondisi, seperti cacat monogenik pada sel  $\beta$  pankreas, kelainan genetik pada kerja insulin, endokrinopati, patologi eksokrin pankreas, dan mutasi gen (Banday *et al.*, 2020).

### **II.2 *Drosophila melanogaster***

#### **II.2.1 Deskripsi *Drosophila melanogaster***

Lalat buah dengan nama latin *Drosophila melanogaster* termasuk salah satu serangga yang memiliki peran penting pada ilmu genetika serta menjadi model hewan coba di laboratorium karena ukurannya yang kecil, mempunyai siklus hidup yang pendek, jumlah keturunan yang dihasilkan sangat banyak, dan biaya perawatannya yang murah. *D. melanogaster* dengan tipe normal memiliki karakteristik berupa mata yang berwarna merah, berbentuk bulat agak elips dengan ukuran yang relatif lebih kecil, tubuh yang berwarna kuning kecokelatan dengan cincin berwarna hitam di tubuh bagian belakang serta ukuran tubuhnya berkisar antara 3-5 mm, sayap dari *D. melanogaster* memiliki ukuran yang cukup panjang dan transparan. Posisi sayapnya dimulai dari bagian toraks, vena tepi sayap (*costal vein*) memiliki dua bagian yang terpotong dekat dengan tubuhnya. Pada umumnya, aristanya berbentuk rambut dan memiliki 7-12 percabangan serta *crossvein posterior* yang berbentuk lurus dan tidak melengkung. Toraksnya memiliki bulu dengan ukuran yang bervariasi berupa ada yang panjang dan pendek, sedangkan

abdomennya bersegmen lima dan bergaris berwarna hitam (Hotimah *et al.*, 2017).

Saat ini, jenis lalat *wild type* yang melalui proses rekayasa genetik telah banyak ditemukan, salah satunya adalah jenis *Canton S*. Jenis ini pertama kali ditemukan oleh Briges dari lalat liar yang dikumpulkan dari Canton, Ohio pada tahun 1920-an. Kemudian, jenis *Canton S* ini memperoleh peningkatan penggunaan setelah dilakukan pengujian pertama oleh Seymour Benzer pada tahun 1967. Adapun ciri utama dari jenis *Canton S* adalah sensitif terhadap oksidan (Qiu *et al.*, 2017; Pomatto *et al.*, 2018).

### **II.2.2 Taksonomi *Drosophila melanogaster***

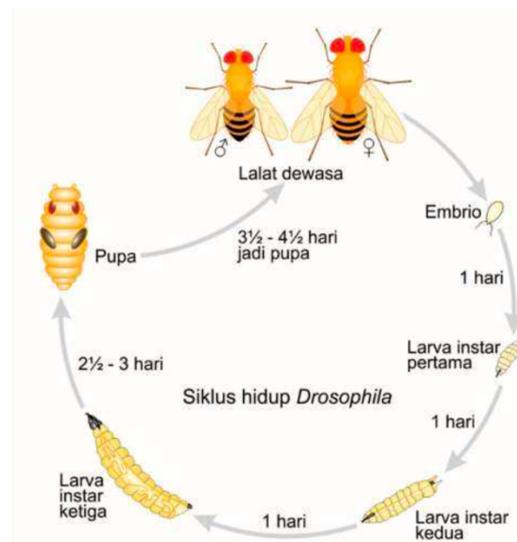
Taksonomi dari *D. melanogaster*, yaitu (Petra *et al.*, 2020):

Kingdom : Animalia  
Phylum : Arthropoda  
Class : Insecta  
Order : Diptera  
Family : Drosophilidae  
Genus : *Drosophila*  
Subgenus : Sophophora  
Species : *Drosophila melanogaster*

### **II.2.3 Siklus hidup *Drosophila melanogaster***

Masa hidup *D. melanogaster* sekitar 2-3 bulan yang diawali dengan fase embrio, fase remaja (larva), dan fase dewasa melalui proses yang disebut dengan metamorfosis. Adapun embrio *D. melanogaster* berkembang menjadi

larva instar pertama (*1<sup>st</sup> instar larvae*) hanya dalam sehari lalu berkembang menjadi larva instar kedua (*2<sup>nd</sup> instar larvae*) dalam waktu sehari kemudian berkembang menjadi larva instar ketiga (*3<sup>rd</sup> instar larvae*) dalam waktu dua hari. Selanjutnya, larva instar ketiga berubah menjadi pupa sekitar 2-3 hari pada suhu 25°C lalu lalat dewasa akan keluar dari cangkang pupa (*pupal case*) yang selanjutnya disebut dengan lalat dewasa setelah 3-5 hari. Adapun siklus hidup *D. melanogaster* dapat dilihat pada **Gambar 1** (Nainu, 2018).



**Gambar 1.** Siklus hidup lalat buah *D. melanogaster* (Nainu, 2018)

#### II.2.4 Metabolisme glukosa pada *Drosophila melanogaster*

Glukosa merupakan sumber energi yang beredar di *hemolymph* dan dimetabolisme melalui jalur glikolitik, siklus asam trikarboksilat (TCA), dan fosforilasi oksidatif untuk menghasilkan ATP. Piruvat mitokondria *D. melanogaster* akan mentransfer piruvat yang dihasilkan dalam glikolisis ke dalam mitokondria untuk katabolisme piruvat dalam siklus TCA yang secara sederhana diinduksi oleh pemberian gula. Peningkatan ketersediaan gula

makanan, seperti terjadi pada kondisi DTG akan meningkatkan kadar glukosa dalam tubuh (Chaterjee & Nobert, 2021).

Adapun perbedaan jenis gula yang umum bersirkulasi pada *D. melanogaster* dengan mamalia. Pada mamalia, glukosa adalah gula utama yang bersirkulasi, sedangkan trehalosa adalah gula yang banyak terdapat di *D. melanogaster*. Trehalosa pada *hemolymph* digunakan untuk memenuhi kebutuhan energi otot-otot terbang pada *D. melanogaster*. Oleh karena itu, kadar gula yang bersirkulasi pada *D. melanogaster* akan meningkat seiring dengan peningkatan kandungan gula pada makanan dan kelebihan energi dari makanan akan disimpan dalam bentuk glikogen. Pada larva, glikogen ditemukan di dinding otot dan lemak tubuh yang akan disalurkan saat larva kelaparan untuk mempertahankan kadar gula yang bersirkulasi, tetapi glikogen dari lemak tubuh larva saat berpuasa akan dicegah setelah tahap pupa dan disimpan untuk digunakan selama proses metamorfosis (Chaterjee & Nobert, 2021).

Pada *D. melanogaster*, air liur dikeluarkan untuk mencairkan dan mencerna makanannya. Air liur ini mengandung enzim pencernaan, seperti amilase dan sukrase. Enzim amilase digunakan untuk menghidrolisis pati menjadi disakarida dan enzim sukrase digunakan untuk menghidrolisis sukrosa menjadi monosakarida glukosa dan fruktosa. Pada bagian tengah usus *D. melanogaster*, protein transpor akan memindahkan monosakarida ke *hemolymph* dan konsentrasi glukosa akan tetap rendah dengan mengubahnya menjadi trehalosa (Szyszka & Giovanni, 2018).

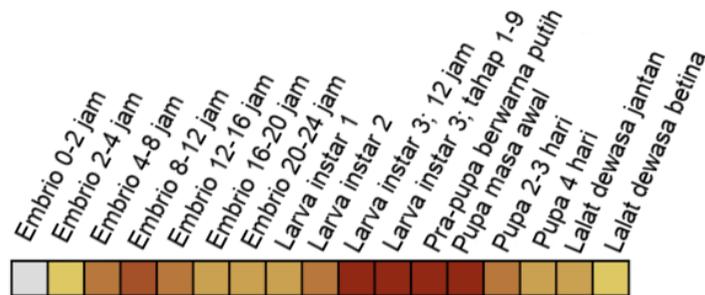
## II.3 Gen

### II.3.1 Gen *pepck*

*Phosphoenolpyruvate carboxykinase (pepck)* akan mengkatalis laju glukoneogenesis sehingga berperan dalam homeostatik glukosa. Pada mamalia, *pepck* terbagi menjadi dua, yaitu *pepck-C* atau *pepck-1* yang terdapat pada sitosol dan *pepck-M* atau *pepck-2* yang terdapat di mitokondria, tetapi *pepck-M* yang memiliki peran yang lebih besar dalam regulasi metabolisme (Onken *et al.*, 2020).

Jalur pensinyalan yang diinduksi insulin (IIS) adalah sistem yang berfungsi untuk mengontrol pertumbuhan, metabolisme, dan diferensiasi pada hewan. Mediator transkripsi IIS yang paling terkenal adalah dFOXO yang berfungsi untuk mengatur glukoneogenesis melalui aktivasi ekspresi *pepck* sehingga dapat menjelaskan peningkatan kadar glukosa pada *hemolymph* yang diamati pada larva ataupun lalat dewasa (Mattila & Ville, 2017).

Salah satu gejala dari diabetes mellitus adalah polifagia yang berarti sering lapar (Kharroubi & Hisham, 2015). Salah satu gen yang dapat memberikan informasi mengenai tanda kelaparan adalah gen *pepck* dengan mekanisme dFOXO akan merangsang ekspresi gen yang mengkode protein glukoneogenesis untuk memasok sel dengan glukosa dan asam amino agar kebutuhan nutrisi dan energi pada sel terpenuhi (Tauber *et al.*, 2020). Oleh karena itu, gen *pepck* ini dapat menjelaskan mengenai kondisi diabetes pada *D. melanogaster*.

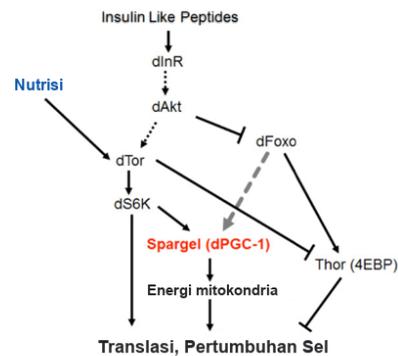


Gambar 2. Data ekspresi gen *pepck* (FlyBase)

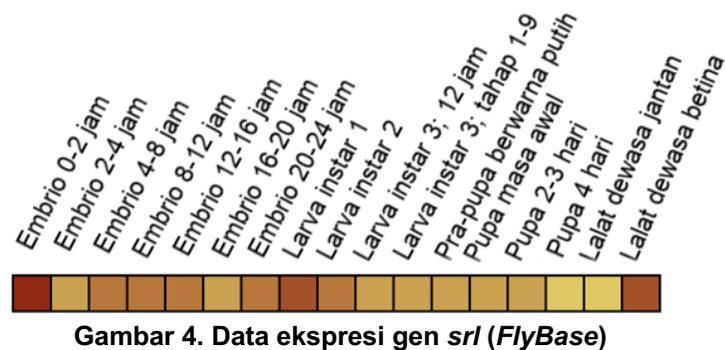
### II.3.2 Gen *srl*

Gen *spargel* (*srl*) pada *D. melanogaster* homolog dengan *peroxysome proliferator-activating receptor gamma coactivator -1 $\alpha$*  (PGC-1 $\alpha$ ). PGC-1 $\alpha$  merupakan koaktivator utama pada mamalia yang berperan dalam homeostatik energi, glukoneogenesis, oksidasi asam lemak, dan pengaturan toleransi termal. Kesamaan PGC-1 $\alpha$  dengan *srl* terletak pada RNA *recognition motif* (RRM) dan *serine-arginine repeat* (RS). Pada *D. melanogaster*, *srl* berfungsi pada jalur insulin-TOR. Jalur insulin-TOR dapat dilihat pada **Gambar 3** yang menjelaskan bahwa *srl* berperan pada bagian akhir jalur insulin-TOR sehingga akan memengaruhi pertumbuhan dan poliferasi organisme serta menurunkan fungsi dari mitokondria. (Mukherjee & Atanu, 2013).

Diabetes mellitus menyebabkan tidak terjadinya metabolisme mitokondria sebagai respons terhadap glukosa sehingga glukosa tidak dapat meningkatkan sintesis ATP untuk cadangan energi (Haythorne *et al.*, 2019). Adapun gen yang dapat menjelaskan mengenai energi mitokondria yang berpengaruh terhadap pertumbuhan sel pada *D. melanogaster* adalah gen *srl* (Mukherjee & Atanu, 2013). Oleh karena itu, gen *srl* ini dapat menjelaskan mengenai kondisi diabetes pada *D. melanogaster*.



Gambar 3. Jalur insulin-TOR (Mukherjee & Atanu, 2013)



Gambar 4. Data ekspresi gen *srl* (FlyBase)

#### II.4 Polymerase Chain Reaction (PCR)

*Polymerase Chain Reaction* (PCR) merupakan salah satu metode dengan menggunakan teknik enzimatik yang berfungsi untuk mereplikasi DNA yang berukuran pendek dengan bantuan suatu primer DNA secara *in vitro*. Metode PCR ini pertama kali dikenalkan oleh Karry Mullis beserta rekan-rekannya pada tahun 1983 (Kusnadi & Esti, 2020).

Seiring dengan kemajuan teknologi terdapat berbagai jenis PCR, salah satunya *real time Reverse Transcription–Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR). RT-PCR merupakan metode PCR yang digunakan untuk memperkuat, mengisolasi, ataupun mengidentifikasi urutan RNA dari suatu sel ataupun jaringan. Prinsip dari RT-PCR adalah mengubah RNA menjadi cDNA dengan

menggunakan enzim *reverse transcriptase* sehingga banyak digunakan untuk menentukan ekspresi dari suatu gen (Rahman *et al.*, 2013).

RT-PCR termasuk alat yang sederhana, murah, sensitif, dan spesifik untuk menentukan ekspresi gen. *Real time* PCR merupakan metode kuantitatif untuk menentukan jumlah salinan dari templat PCR, seperti DNA atau cDNA yang terdiri dari *probe-based* dan *intercalator-based*. Prinsip dasar dari *real time* RT-PCR adalah isolasi total RNA, *reverse transcription*, dan PCR. *Reverse Transcription* melibatkan sintesis DNA dari RNA dengan menggunakan DNA polimerase yang bergantung pada RNA. PCR akan mengamplifikasi satu atau beberapa salinan DNA sehingga menghasilkan ribuan hingga jutaan rangkaian DNA tertentu (Mo *et al.*, 2012).

Pada proses PCR terbagi menjadi tiga tahap yang terjadi pada 20 sampai 30 siklus, yaitu (1) denaturasi templat DNA (*denaturation*); (2) penempelan primer pada templat (*annealing*); dan (3) pemanjangan primer (*extension*) (Rahman *et al.*, 2013).

#### 1. Denaturasi

Tahap denaturasi DNA terjadi pada suhu sekitar 94<sup>0</sup>C-96<sup>0</sup>C selama 5 menit. Tahap ini terjadi proses pemecahan ikatan hidrogen yang menghubungkan untai ganda DNA menjadi untai tunggal serta terjadinya proses pengaktifan *Taq polymerase* (Rahman *et al.*, 2013).

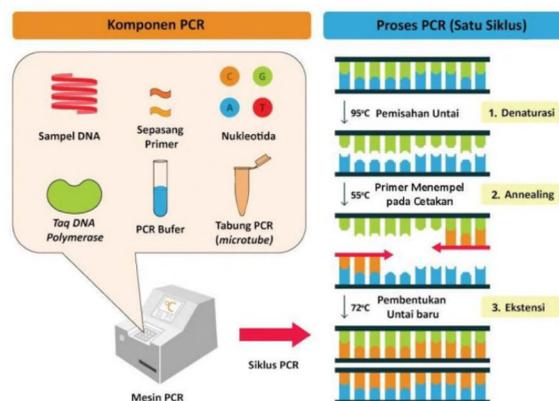
#### 2. Annealing

Tahap annealing terjadi pada suhu sekitar 50<sup>0</sup>C-60<sup>0</sup>C selama 1-2 menit yang bergantung pada primer yang digunakan. Tahap ini terjadi penurunan

suhu untuk penempelan primer pada untai tunggal DNA. Oleh karena itu, suhu sangat berperan pada tahap ini karena suhu yang salah akan menyebabkan primer tidak menempel pada DNA templat (Rahman *et al.*, 2013).

### 3. Ekstensi

Tahap ekstensi terjadi pada suhu yang bergantung pada DNA *polymerase*, tetapi tahap ini digunakan *Taq polymerase* sehingga suhunya sekitar 75°C. Pada tahap ini, DNA *polymerase* akan menyambungkan antara primer dengan DNA templat yang bekerja sepanjang untai DNA (Rahman *et al.*, 2013).



**Gambar 5. Komponen dan proses PCR (Kusnadi & Esti, 2020)**