

**ANALISIS EKSPRESI GEN *totA* DAN *hsp22* PADA
MODEL DIABETES *Drosophila melanogaster***

**ANALYSIS OF *totA* AND *hsp22* GENE EXPRESSION
IN *Drosophila melanogaster* DIABETES MODEL**

**NADIYAH ARIFAH
N011201081**



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

**ANALISIS EKSPRESI GEN *totA* DAN *hsp22* PADA
MODEL DIABETES *Drosophila melanogaster***

**ANALYSIS OF *totA* AND *hsp22* GENE EXPRESSION
IN *Drosophila melanogaster* DIABETES MODEL**

**NADIYAH ARIFAH
N011201081**



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

**ANALISIS EKSPRESI GEN *totA* DAN *hsp22* PADA MODEL DIABETES
*Drosophila melanogaster***

**ANALYSIS OF *totA* AND *hsp22* GENE EXPRESSION IN
Drosophila melanogaster DIABETES MODEL**

SKRIPSI

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

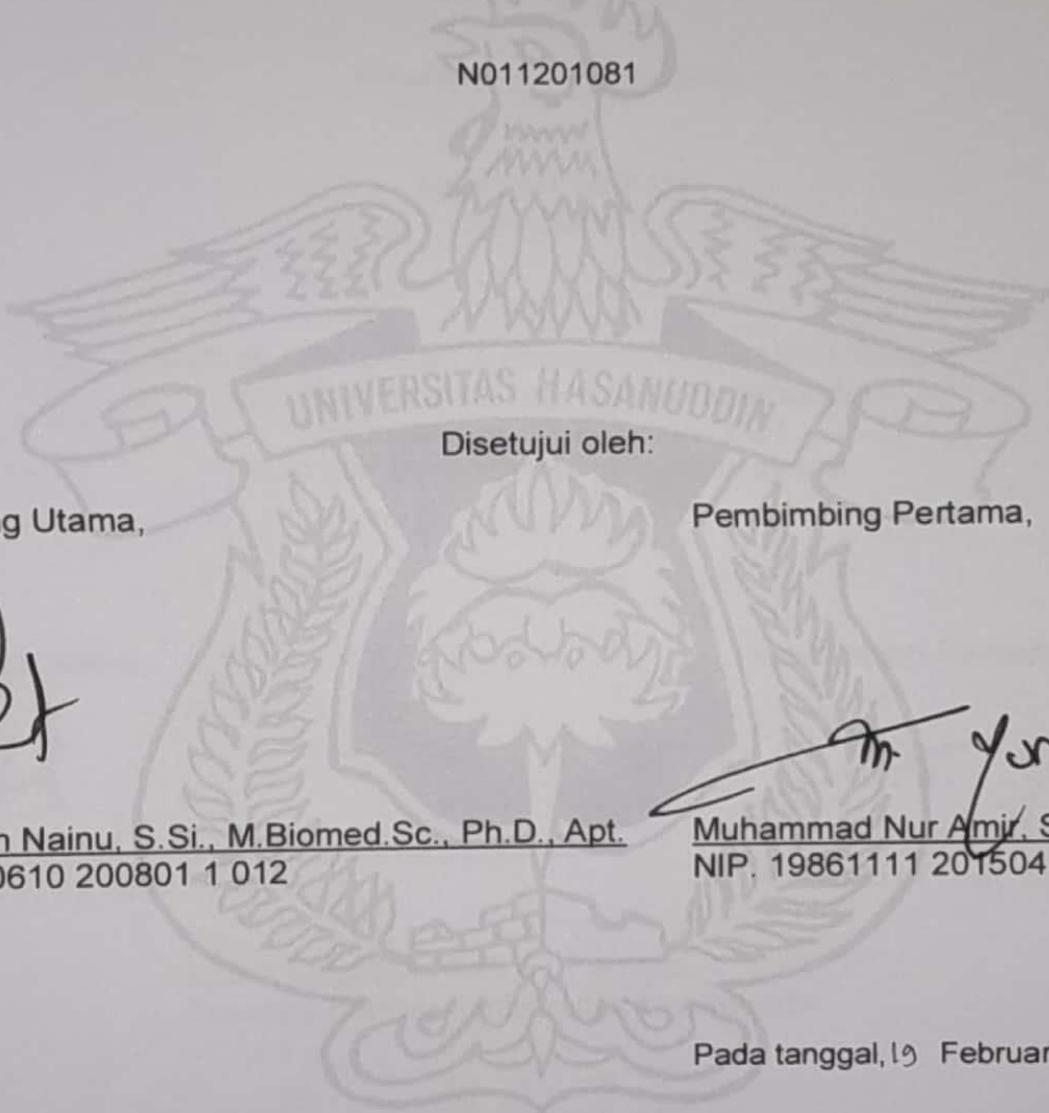
**NADIYAH ARIFAH
N011201081**

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

ANALISIS EKSPRESI GEN *tota* DAN *hsp22* PADA MODEL DIABETES
Drosophila melanogaster

NADIYAH ARIFAH

N011201081



Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pertama,

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'F. Nainu', written over the left side of the watermark.

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

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'M. Nur Amir', written over the right side of the watermark.

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

Pada tanggal, 19 Februari 2024

SKRIPSI
ANALISIS EKSPRESI GEN *totA* DAN *hsp22* PADA MODEL DIABETES
Drosophila melanogaster

ANALYSIS OF *totA* AND *hsp22* GENE EXPRESSION IN
***Drosophila melanogaster* DIABETES MODEL**

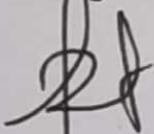
Disusun dan diajukan oleh :

NADIYAH ARIFAH
N011201081

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

Menyetujui,

Pembimbing Utama,



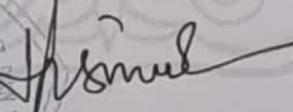
Prof. Firzan Nainu, S.Si., M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 19820610 200801 1 012

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 : Nadiyah Arifah

NIM : N011201081

Program Studi : Farmasi

Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul "Analisis Ekspresi Gen *totA* dan *hsp22* 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



Nadiyah Arifah

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, yaitu kepada:

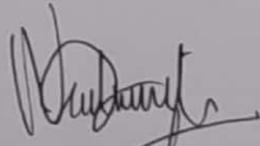
1. Bapak Prof. Firzan Nainu, S.Si., M.Si., M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt. selaku pembimbing utama dan Bapak Muhammad Nur Amir, S.Si., M.Si., Apt. selaku pembimbing pendamping yang dengan ikhlas dan sabar telah meluangkan waktu, tenaga, ilmu, serta arahan dalam penelitian hingga penyusunan skripsi ini.
2. Bapak Usmar, S.Si., M.Si., Apt. dan Bapak Anshar Saud, S.Si., M.Farm., Apt. selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktu dan memberikan saran membangun dalam penyusunan skripsi ini.
3. Ibu Dr. Aliyah, M.S., Apt., Ibu Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc, Ph.D., Apt., dan Ibu Dr. Ayun Dwi Astuti, S.Si., Apt. selaku dosen pembimbing akademik penulis atas segala ilmu dan arahan selama penulis menempuh studi.
4. Dekan dan para Wakil Dekan, serta seluruh staf dosen dan pegawai Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan

dukungan dalam pengembangan serta peningkatan mutu dan kualitas serta fasilitas yang diberikan sehingga bisa digunakan dalam penelitian ini.

5. Orang tua penulis tercinta, ayahanda Didik Warsito Budi dan ibunda Ni Made Hastini Kurniasih, serta saudara penulis tersayang kakanda Muhammad Dimas Rafli yang selalu memberi dukungan dalam segala aspek sehingga penulis dapat menyelesaikan perkuliahan ini.
6. Nenek penulis, neneknda Tasrifah yang selalu memberi dukungan dan doa untuk penulis. Begitu pula seluruh keluarga dan kerabat yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu.
7. Laboran laboratorium Farmakologi dan Toksikologi, Ibu Syamsyiah yang memberi dukungan baik itu saran dan nasehat kepada penulis.
8. Teman-teman penelitian yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu.
9. Teman-teman angkatan 2020 (HE20IN) yang tidak bisa saya sebutkan 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



Nadiyah Arifah

ABSTRAK

NADIYAH ARIFAH. Analisis Ekspresi Gen *totA* dan *hsp22* Pada Model Diabetes *Drosophila melanogaster* (dibimbing oleh Firzan Nainu dan Muhammad Nur Amir).

Diabetes melitus (DM) merupakan masalah kesehatan terkait metabolisme yang ditandai oleh tingginya kadar glukosa dalam darah. Kasus penyakit ini, khususnya di Indonesia, terus mengalami peningkatan. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lebih lanjut terkait DM dan terapi DM. Salah satu alternatif yang dapat ditawarkan adalah sarana uji menggunakan model *Drosophila melanogaster*. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh pemberian Diet Tinggi Gula (DTG) terhadap reproduksi *D. melanogaster*, yang dihubungkan dengan ekspresi *Heat Shock Protein (hsp22)* dan Turandot A (*totA*) pada tingkat molekuler. Penelitian ini secara umum dibagi empat tahap, yakni: pembuatan pakan DTG; analisis fenotip uji reproduksi hewan model; analisis molekuler menggunakan metode *reverse transcriptase quantitative PCR*; dan analisis data. Hasil penelitian menunjukkan, uji reproduksi pada kelompok dengan pemberian DTG 1 tidak memperlihatkan perbedaan yang signifikan. Namun, pada kelompok perlakuan DTG 2 menunjukkan adanya penurunan kemampuan reproduksi secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol perlakuan. Lebih lanjut, Uji reproduksi yang menurun juga berdampak terhadap penurunan ekspresi gen *totA* dan peningkatan ekspresi gen *hsp22*. Penelitian ini telah mengkonfirmasi penggunaan *D. melanogaster* dapat digunakan secara efektif sebagai model dalam pengembangan terapi DM.

Kata kunci : Diabetes; *Drosophila melanogaster*; reproduksi; *hsp22*; *totA*

ABSTRACT

NADIYAH ARIFAH. Gene Expression Analysis of *totA* and *hsp22* In A Diabetic Model of *Drosophila Melanogaster* (supervised by Firzan Nainu and Muhammad Nur Amir).

Diabetes mellitus (DM) is a metabolic-related health issue characterized by elevated blood glucose levels. The prevalence of this disease, particularly in Indonesia, continues to rise. Therefore, further research on DM and its therapy is needed. One alternative that can be offered is a testing platform using the *Drosophila melanogaster* model. This research aims to investigate the impact of High-Sugar Diet (HSD) on *D. melanogaster* reproduction, linked to the expression of Heat Shock Protein (*hsp22*) and Turandot A (*totA*) at the molecular level. The study is generally divided into four stages: the preparation of HSD feed; analysis of the reproduction phenotype of the model animals; molecular analysis using reverse transcriptase quantitative PCR method; and data analysis. The research results indicate that the reproduction test in the HSD 1 group did not show significant differences. However, the HSD 2 treatment group exhibited a significant decrease in reproductive ability compared to the control treatment group. Furthermore, the reduced reproduction test also led to a decrease in *totA* gene expression and an increase in *hsp22* gene expression. This study has confirmed the effective use of the *D. melanogaster* as a model in the development of DM therapies.

Keywords: Diabetes; *Drosophila melanogaster*; reproduction; *hsp22*; *totA*

DAFTAR ISI

halaman

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	vi
UCAPAN TERIMA KASIH	Error! Bookmark not defined.
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan masalah	3
I.3 Tujuan penelitian	4
BAB II	5
TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Diabetes	5
II.2 <i>Drosophila melanogaster</i>	6
II.3 Turandot A	9
II.4 <i>Heat Shock Preoteins</i>	10
II.5 <i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i>	11
BAB III	14
METODE KERJA	14
III.1 Alat dan bahan	14
III.2 Metode kerja	14
III.2.1 Penyiapan hewan uji (<i>Drosophila melanogaster</i>)	13
III.2.2 Pembuatan pakan <i>D. melanogaster</i>	15
III.2.2.1 Pembuatan pakan standar	15
III.2.2.2 Pembuatan pakan model diabetes	15

III.2.3 Uji reproduksi hewan model	16
III.2.4 Analisis molekuler	17
III.2.4.1 Penyiapan sampel RNA	17
III.2.4.2 Analisis ekspresi gen <i>totA</i> dan <i>hsp22</i>	18
III.3 Analisis data	20
BAB IV	21
HASIL DAN PEMBAHASAN	21
IV.1 Analisis molekuler	21
IV.1.1 Analisis ekspresi gen <i>totA</i>	21
IV.1.2 Analisis ekspresi gen <i>hsp22</i>	22
IV.2 Uji reproduksi hewan model	24
BAB V	27
KESIMPULAN DAN SARAN	27
V.1 Kesimpulan	27
V.2 Saran	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN	32
Lampiran 1. Skema kerja umum	32
Lampiran 2. Skema kerja analisis ekspresi gen	33
Lampiran 3. Data statistika	34
Lampiran 4. Gambar hasil uji penelitian	36
Lampiran 5. Dokumentasi	37

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Komposisi pakan <i>Drosophila melanogaster</i>	16
2. Kondisi qRT-PCR	20
3. Hasil <i>one-way anova</i> ekspresi gen <i>totA</i>	34
4. Hasil uji lanjutan <i>Tukey's Test</i> ekspresi gen <i>totA</i>	34
5. Hasil <i>one-way anova</i> ekspresi gen <i>hsp22</i>	34
6. Hasil uji lanjutan <i>Tukey's Test</i> ekspresi gen <i>hsp22</i>	34
7. Hasil <i>one-way anova</i> uji reproduksi (pupa)	34
8. Hasil uji lanjutan <i>Tukey's Test</i> uji reproduksi (pupa)	35
9. Hasil <i>one-way anova</i> uji reproduksi (lalat dewasa)	35
10. Hasil uji lanjutan <i>Tukey's Test</i> uji reproduksi (lalat dewasa)	35

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Morfologi <i>Drosophila melanogaster</i>	7
2. Perbedaan <i>Drosophila melanogaster</i> jantan dan betina	8
3. Siklus hidup <i>Drosophila melanogaster</i>	9
4. Efek <i>hsp22</i> di mitokondria	11
5. Prinsip kerja PCR	12
6. Ekspresi gen <i>totA</i> dengan pemberian konsentrasi sukrosa	21
7. Ekspresi gen <i>hsp22</i> dengan pemberian konsentrasi sukrosa	23
8. Jumlah pupa dan lalat dewasa uji reproduksi	25
9. Hasil uji reproduksi	36
10. Hasil perhitungan jumlah RNA isolat	36
11. Pemisahan jantan dan betina	37
12. Pengukuran jumlah isolat RNA	37
13. Proses isolasi RNA	37
14. Preparasi analisis qRT-PCR	37
15. Proses analisis qRT-PCR	37

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema kerja penelitian	32
2. Skema kerja analisis ekspresi gen	33
3. Data statistika	34
4. Gambar hasil uji penelitian	36
5. Dokumentasi	37

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Diabetes melitus (DM) merupakan permasalahan kesehatan yang berkembang pesat di kalangan masyarakat (Seiglie *et al.*, 2020). Data dari Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) menunjukkan terjadinya peningkatan penderita diabetes dari 2013 hingga 2018, persentase penderita sebelumnya 6,9% menjadi 8,5% (Saputri, 2020). Pada tahun 2021, terdapat 529 juta orang menderita diabetes, sehingga menghasilkan prevalensi sebesar 6,1% dari masyarakat global. Diperkirakan prevalensi diabetes dari tahun 2021 hingga 2050 akan meningkat sebesar 59,7% (Ong, 2021).

Diabetes melitus (DM) merupakan suatu gangguan metabolisme yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa dalam darah, hal tersebut disebabkan oleh kekurangan insulin, resistensi insulin ataupun kombinasi dari keduanya (Piero *et al.*, 2014; Harikumar *et al.*, 2015; Kharroubi & Darwish, 2015; Punthakee *et al.*, 2018). Diabetes berkaitan reproduksi, menurut Baquer *et al.* (2018) peningkatan glukosa dapat menyebabkan perubahan pada proses embriogenesis pada tikus, hingga menyebabkan kematian embrio. Berdasarkan penelitian pembuatan hewan model diabetes dilakukan dengan penggunaan diet tinggi gula pada *D. melanogaster* dan streptozotocin pada tikus (Warr *et al.*, 2018; Furman, 2015).

Drosophila melanogaster merupakan hewan invertebrata yang memiliki potensi besar sebagai hewan uji karena memiliki tingkat kemiripan genetik dengan manusia (sekitar 75%). *D. melanogaster* dapat dijadikan sebagai berbagai organisme model yang kompleks. *D. melanogaster* memiliki keuntungan dibandingkan dengan hewan coba lainnya, yaitu siklus hidup yang relatif cepat, masa perkawinan yang cepat, hasil reproduksi yang banyak, berukuran kecil, mudah ditangani, dan relatif murah. Pada lalat dewasa memiliki organ yang fungsinya mirip dengan jantung, paru-paru, ginjal, usus, dan organ reproduksi mamalia (Nainu, 2018; Yamaguchi, 2018). *D. melanogaster* tidak memiliki organ pankreas, namun memiliki *Insulin-Producing Cells* (IPCs) yang fungsinya serupa dengan pankreas manusia. *D. melanogaster* menghasilkan *Drosophila Insulin-Like Protein* (DILP) melalui IPCs, DILP memiliki fungsi serupa dengan insulin manusia. (Nainu, 2018).

Pada model diabetes *Drosophila melanogaster*, terdapat beberapa gen yang diekspresikan, diantaranya *Inr*, *Chico*, dan *Akt* (Liguori *et al.*, 2021). Namun, tidak menutup kemungkinan bahwa terdapat gen selain gen tersebut yang terganggu ekskresinya pada keadaan diabetes. Gen Turandot A (*totA*) merupakan gen yang diekspresikan oleh lalat, *totA* diekspresikan di *hemolymph* (Ceccatelli, 2012), sedangkan *hsp22* berada di dalam mitokondria, salah satu karakteristik yang terdapat pada *D. melanogaster* yaitu memiliki *hsp22* (Morrow *et al.*, 2015). Oleh karena itu, bila terjadi peningkatan stres oksidatif dan infeksi maka dapat berimplikasi dalam

peningkatan ekspresi *turandot A* dan aktivasi *Heat Shock Protein* (Ceccatelli, 2012; Sun *et al.*, 2022).

Protein *turandot A* yang diekspresikan oleh gen *totA* bersifat responsif terhadap sinyal stres, terutama melalui jalur sinyal JAK/STAT dan imun (Ceccatelli, 2012). *Heat Shock Proteins* (HSPs) merupakan kelompok protein yang terlibat dalam berbagai fungsi seluler di berbagai jaringan. Aktivasi HSPs terjadi dalam situasi stres seluler, seperti paparan toksin, radiasi, agen hipoksia, dan stres oksidatif. Salah satu jenis HSPs yaitu *hsp22* yang memiliki peran penting dalam menjaga homeostasis protein dan seluler serta melindungi sel-sel dari kerusakan. Selain itu, *hsp22* dapat menekan cedera endotelium yang diinduksi diabetes (Sun *et al.*, 2022). Pada kondisi hiperglikemia, ekspresi berlebihan dari *hsp22* dapat mengurangi mtROS dan mengatasi disfungsi mitokondria pada sel endotel (Yu *et al.*, 2019).

Berdasarkan uraian di atas, maka akan dilakukan analisis ekspresi gen *totA* dan *hsp22* pada *Drosophila melanogaster* yang telah dibuat sebagai model diabetes.

I.2 Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang yang dipaparkan di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah bagaimana profil ekspresi gen *totA* dan *hsp22* pada model diabetes *Drosophila melanogaster*?

I.3 Tujuan penelitian

Berdasarkan uraian rumusan masalah di atas, maka tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui profil ekspresi gen *totA* dan *hsp22* pada model diabetes *Drosophila melanogaster*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Diabetes

Diabetes mellitus merupakan kelainan yang timbul akibat masalah metabolik dan sering terjadi secara global. Gejala utama diabetes mellitus adalah peningkatan kadar gula dalam darah yang disebabkan oleh ketidakmampuan untuk sekresi insulin pankreas atau kurangnya respons insulin terhadap glukosa pada sel target (Deepthi *et al.*, 2017). Diabetes mellitus diklasifikasikan menjadi empat, yaitu diabetes tipe 1 (disebabkan oleh penghancuran sel islet pankreas), diabetes tipe 2 (disebabkan oleh kombinasi resistensi insulin dan disfungsi sekresi insulin sel β), jenis diabetes khusus lainnya (disebabkan oleh kondisi seperti endokrinopati, penyakit pankreas eksokrin, sindrom genetik, dan induksi steroid), dan diabetes gestasional (diabetes yang terjadi pertama kalinya selama kehamilan) (Bilous *et al.*, 2021).

Diabetes dapat menimbulkan beberapa komplikasi di antaranya diabetik nefropati, neuropati, kardiomiopati, dan aterosklerosis (Prawitasari, 2019). Selain itu, hiperglikemia pada penderita diabetes dapat mengganggu respon kekebalan tubuh, sehingga tidak mampu mengendalikan penyebaran patogen yang dapat menyerang penderita diabetes. Oleh karena itu, penderita diabetes cenderung rentan terhadap infeksi (Berbudi *et al.*, 2020). Kardiomiopati merupakan salah satu komplikasi dari penyakit diabetes,

akibatnya terjadi stres oksidatif dan inflamasi (Abukhalil *et al.*, 2021). Adanya stres oksidatif yang diinduksi oleh kondisi hiperglikemia pada diabetes mellitus dapat meningkatkan apoptosis sel endotel (Prawitasari, 2019). Selain itu, peningkatan kadar glukosa dalam darah yang tinggi pada penderita diabetes dapat menyebabkan peningkatan stres oksidatif yang berakibat pada penekanan proliferasi sel (Nagy *et al.*, 2019).

II.2 *Drosophila melanogaster*

Drosophila melanogaster merupakan hewan invertebrata yang memiliki potensi besar sebagai hewan uji karena memiliki tingkat kemiripan genetik dengan manusia (sekitar 75%) (Nainu, 2018). *D. melanogaster* dapat dijadikan sebagai berbagai organisme model yang kompleks dan dalam banyak aspek memiliki kesamaan dengan mamalia. Pada lalat dewasa memiliki organ yang fungsinya mirip dengan jantung, paru-paru, ginjal, usus, dan organ reproduksi mamalia (Yamaguchi, 2018).

D. melanogaster merupakan salah satu organisme percobaan yang paling umum digunakan. *D. melanogaster* memiliki siklus hidup yang relatif cepat. Saat perkawinan *D. melanogaster* dapat menghasilkan ratusan keturunan yang identik secara genetik dalam waktu sekitar 10 hari dengan suhu 25°C. Hal tersebut menguntungkan bila dibandingkan dengan hewan coba lainnya. Selain itu, *D. melanogaster* memiliki ukuran yang kecil, mudah ditangani, dan relatif murah untuk dipelihara di laboratorium. *D. melanogaster* juga memiliki masa hidup yang singkat dan menghasilkan jumlah keturunan yang besar sehingga memudahkan analisis data statistik yang diperoleh.

Terdapat pula banyak mutan dan lalat transgenik sehingga memudahkan dalam penelitian (Yamaguchi, 2018).

II.2.1 Taksonomi *Drosophila melanogaster*

Klasifikasi *Drosophila melanogaster*

Kingdom : Animalia

Filum : Arthropoda

Kelas : Insecta

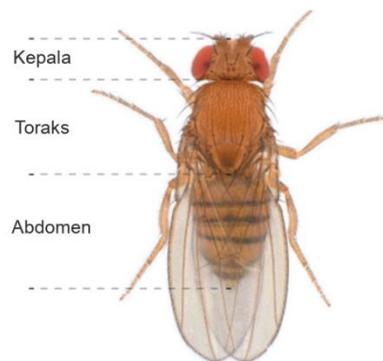
Ordo : Diptera

Famili : Drosophilidae

Genus : *Drosophila*

Spesies : *Drosophila melanogaster* (Spellman, 2008).

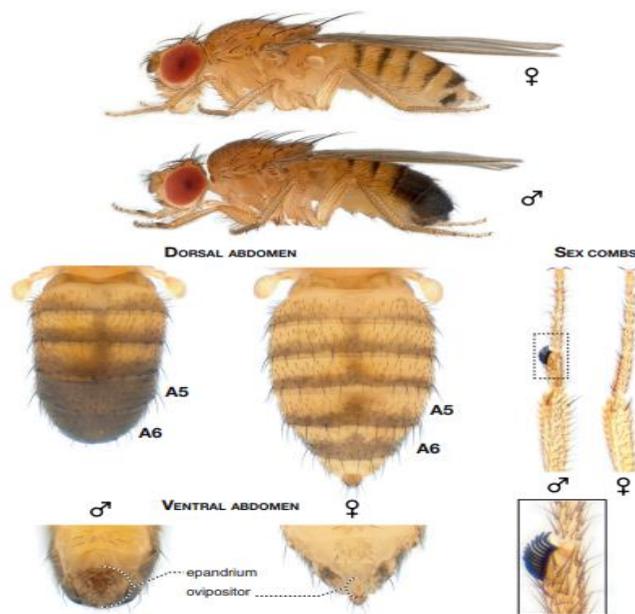
II.2.2 Morfologi *Drosophila melanogaster*



Gambar 1. Morfologi *Drosophila melanogaster* (Chyb. & Gompel, 2013)

D. melanogaster memiliki ukuran 3 mm, bagian tubuh dari *D. melanogaster* terbagi menjadi tiga, yaitu kepala, toraks, dan abdomen (Nainu, 2018; Chyb & Gompel, 2013). Jenis kelamin *D. melanogaster* dapat dibedakan menjadi dua, yaitu jantan dan betina, adapun cara

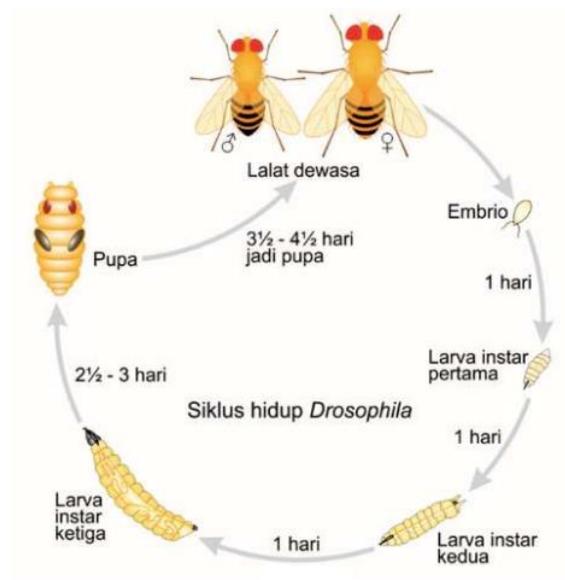
membedakannya melalui visualisasi. Lalat betina memiliki perut dengan ujung yang runcing, sedangkan perut jantan berbentuk bulat dan melingkar ke dalam. Selain itu, alat kelamin luar jantan (*epandrium*) lebih besar, lebih kompleks, dan lebih gelap dibandingkan dengan alat kelamin betina (*plak genital dan ovipositor*) (Chyb & Gompel, 2013).



Gambar 2. Perbedaan *Drosophila melanogaster* jantan dan betina (Chyb & Gompel, 2013)

II.2.3 Siklus hidup *Drosophila melanogaster*

Dalam perkembangannya siklus hidup *D. melanogaster* terbagi menjadi beberapa tahapan, yaitu embrio, larva, pupa, dan lalat dewasa (Yamaguchi, 2018). Siklus hidup *D. melanogaster* selama 10 hari dalam suhu 25°C dan mampu bertahan hidup hingga 2-3 bulan (Nainu, 2018).



Gambar 3. Siklus hidup *Drosophila melanogaster* (Nainu, 2018).

II.3 Turandot A

Gen Turandot A (*totA*) merupakan gen yang diekspresikan oleh lalat, *totA* diekspresikan di *hemolymph*. Gen *totA* mengkode protein tersembunyi (129 AA) yang diatur dalam ekspresi dan diproduksi di tubuh lalat. Gen *totA* merupakan respon humoral yang diekspresikan sebagai respon terhadap sinyal stres, khususnya jalur sinyal JAK/STAT dan imun sebagai homolog NFκβ dan Mekk1 (Ceccatelli, 2012; Ekengren & Hultmark, 2001). Selain itu, *totA* pada *Drosophila melanogaster* memiliki peran penting dalam menghasilkan zat pertahanan tubuh terhadap stres. Stres tersebut bisa berasal dari berbagai kondisi, seperti infeksi bakteri, suhu tinggi yang ekstrim, paparan bahan kimia seperti paraquat, atau sinar ultraviolet. Gen *totA* membantu meningkatkan daya tahan terhadap kondisi-kondisi tersebut, membantu organisme melawan dampak negatif (Ekengren & Hultmark, 2001).

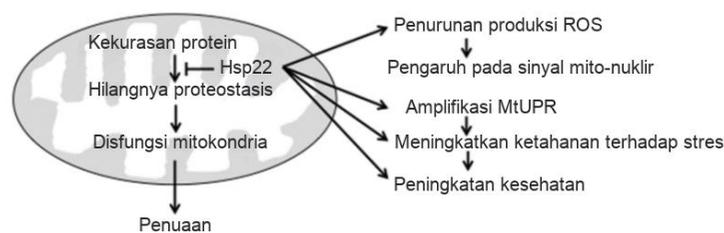
Gen ini dapat aktif pada kondisi yang tidak menguntungkan seperti infeksi, panas, oksidasi, luka, dan penuaan. Gen ini diekspresikan untuk membuat lalat tahan terhadap stres panas, berbeda dengan *heat shock protein* dalam aktivasi, sirkulasi, dan kondisi ekspresinya. Terdapat lebih banyak gangguan yang dapat mengaktifkan *totA* dibandingkan dengan gen *heat shock*, namun hanya dalam kondisi stres yang relatif ekstrem (Ekengren & Hultmark, 2001).

II.4 Heat Shock Proteins

Heat Shock Proteins atau HSPs merupakan sekelompok protein yang berhubungan dengan fungsi seluler di berbagai jaringan. Penelitian lanjutan menunjukkan bahwa aktivasi HSPs juga terjadi dalam berbagai stres seluler, termasuk toksin, radiasi, agen hipoksia, dan stres oksidatif. Salah satu jenis HSPs yaitu *hsp22*, *hsp22* memiliki peran penting dalam menjaga homeostasis protein dan seluler serta melindungi sel-sel dari kerusakan dengan mengatur lipatan protein, perpindahan protein intraseluler, dan merespons protein yang tidak terlibat akibat stres (Sun *et al.*, 2022).

Hsp22 diatur oleh stres mitokondria, protein ini berada di dalam mitokondria. Salah satu karakteristik *hsp22* yang terdapat pada *D. melanogaster* yaitu peningkatan regulasi selama penuaan dan dalam kondisi stres oksidatif. Protein ini bermanfaat karena pengekspresian yang berlebihan dapat meningkatkan umur hidup dan ketahanan terhadap stres, sedangkan penurunan ekspresi dapat merugikan (Morrow *et al.*, 2015).

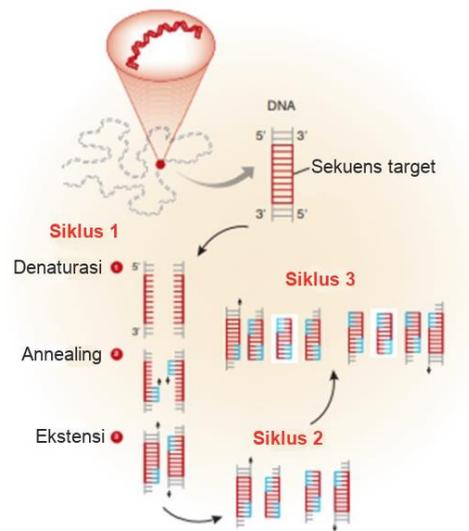
Hsp22 memiliki fungsi regulasi pertumbuhan sel dan apoptosis, serta berperan dalam karsinogenesis. Selain itu, peran *hsp22* yaitu dapat menekan cedera endotelium yang diinduksi diabetes (Sun *et al.*, 2022). *hsp22* dapat diekspresikan berlebihan pada kondisi hiperglikemia untuk mengurangi mtROS dan disfungsi mitokondria pada sel endotel (Yu *et al.*, 2019).



Gambar 4. Efek *hsp22* di mitokondria (Marrow & Tanguay, 2015).

II.5 Polymerase Chain Reaction (PCR)

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan suatu teknik amplifikasi cepat dari suatu segmen spesifik DNA yang memiliki sensitivitas yang tinggi. PCR dapat menghasilkan miliaran salinan dari suatu fragmen atau gen DNA tertentu, yang memungkinkan deteksi dan identifikasi urutan gen menggunakan teknik visual berdasarkan ukuran dan muatan (Garibyan & Avashia, 2013).



Gambar 5. Prinsip kerja PCR (Garibyan & Avashia, 2013).

Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) merupakan suatu teknik yang relatif sederhana untuk menentukan ekspresi gen target. Prinsip dasar RT-PCR mencakup tahapan isolasi RNA, *Reverse-Transcriptase* (RT), dan PCR. Dalam proses RT, terjadi pembentukan DNA dari RNA menggunakan RNA-dependent DNA *polymerase*. PCR dapat mengamplifikasi satu atau beberapa salinan dari suatu fragmen DNA dengan rentang magnitude yang luas, menghasilkan ribuan hingga jutaan salinan dari urutan DNA tertentu (Mo *et al.*, 2012).

Terdapat tiga langkah yang digunakan untuk RT-PCR, langkah pertama DNA didenaturasi pada suhu tinggi (90-97°C), langkah kedua primer akan menempel pada untai cetakan DNA tunggal terjadi pada suhu 50-60°C, dan langkah terakhir yaitu ekstensi terjadi di ujung primer yang telah

menempel untuk membentuk untai salinan komplementer DNA (Joshi & Deshpande, 2010; Garibyan & Avashia, 2013).