

TESIS

**EVALUASI *Drosophila melanogaster* SEBAGAI
ORGANISME MODEL *IN VIVO* DALAM PENGUJIAN EFEK
SAMPING OBAT PENYEBAB ENTEROPATI : STUDI
TERKAIT INDOMETASIN**

**EVALUATION OF *Drosophila melanogaster* AS AN *IN VIVO*
MODEL ORGANISM IN TESTING THE SIDE EFFECTS OF
ENTEROPATHY-CAUSING PHARMACEUTICALS :
INDOMETHACIN-RELATED STUDY**

**MUHAMMAD RASUL PRATAMA
N012221016**



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

**EVALUASI *Drosophila melanogaster* SEBAGAI
ORGANISME MODEL *IN VIVO* DALAM PENGUJIAN EFEK
SAMPING OBAT PENYEBAB ENTEROPATI: STUDI TERKAIT
INDOMETASIN**

**MUHAMMAD RASUL PRATAMA
N012221016**



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

**EVALUATION OF *Drosophila melanogaster* AS AN *IN VIVO*
MODEL ORGANISM IN TESTING THE SIDE EFFECTS OF
ENTEROPATHY-CAUSING PHARMACEUTICALS:
INDOMETHACIN-RELATED STUDY**

**MUHAMMAD RASUL PRATAMA
N012221016**



**POSTGRADUATE PROGRAM IN PHARMACY
FACULTY OF PHARMACY
HASANUDDIN UNIVERSITY
MAKASSAR
2024**

**EVALUASI *Drosophila melanogaster* SEBAGAI
ORGANISME MODEL *IN VIVO* DALAM PENGUJIAN EFEK
SAMPING OBAT PENYEBAB ENTEROPATI: STUDI TERKAIT
INDOMETASIN**

Tesis

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Magister Ilmu Farmasi

Disusun dan diajukan oleh

MUHAMMAD RASUL PRATAMA

N012221016

Kepada

PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU FARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024

**EVALUATION OF *Drosophila melanogaster* AS AN *IN VIVO*
MODEL ORGANISM IN TESTING THE SIDE EFFECTS OF
ENTEROPATHY-CAUSING PHARMACEUTICALS:
INDOMETHACIN-RELATED STUDY**

Thesis

As one of the requirements for achieving a magister degree

Postgraduate program in pharmacy

Prepared and submitted by

MUHAMMAD RASUL PRATAMA

N012221016

To

POSTGRADUATE PROGRAM IN PHARMACY

FACULTY OF PHARMACY

HASANUDDIN UNIVERSITY

MAKASSAR

2024

LEMBAR PENGESAHAN

**EVALUASI *Drosophila melanogaster* SEBAGAI ORGANISME MODEL IN VIVO
DALAM PENGUJIAN EFEK SAMPING OBAT PENYEBAB ENTEROPATI: STUDI
TERKAIT INDOMETASIN**

MUHAMMAD RASUL PRATAMA

NIM: N012221016

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi
Program Studi Magister Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
Pada tanggal 06 Maret 2024
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui :

Pembimbing Utama



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

Ketua Program Studi
Magister Ilmu Farmasi



Muhammad Aswad, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt
NIP. 19800101 200312 1 004

Pembimbing Pendamping



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

Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin



Prof. Dr. rer.nat. Marianti A. Manggau., Apt
NIP. 19670319 199203 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "Evaluasi *Drosophila melanogaster* sebagai organisme model *in vivo* dalam pengujian efek samping obat penyebab enteropati: Studi terkait Indometasin" adalah benar karya saya dengan arahan dari tim pembimbing (Prof. Firzan Nainu, S.Si., M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt sebagai Pembimbing Utama dan Prof. Dr. Elly Wahyudin., DEA., Apt sebagai Pembimbing Pendamping). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang di terbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini. Sebagian dari isi tesis ini telah diajukan di Jurnal (ACS Omega) sebagai artikel dengan judul "A *Drosophila melanogaster*-based Approach to Unraveling Side Effects of Enteropathy-Causing Pharmaceuticals". Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 06 Maret 2024



Muhammad Rasul Pratama
N012221016

UCAPAN TERIMA KASIH

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

1. Kedua orang tua tercinta Ibu Rabaina, S.Pd., Sd dan Bapak Sulaiman atas doa yang tulus tiada henti di setiap situasi apapun yang dirasakan oleh penulis serta perhatian, kasih sayang dan dukungan baik secara moril maupun materil selama menempuh studi hingga menyelesaikan tesis ini.
2. Bapak Prof. Firzan Nainu, S.Si.,M.Biomed.Sc.,Ph.D., Apt selaku pembimbing utama dan dosen penasehat akademik yang telah membimbing, memberikan arahan dan motivasi, serta telah meluangkan waktu kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan masa studinya di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
3. Ibu Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt selaku pembimbing pendamping yang telah membimbing, memberikan masukan, motivasi dan sarannya serta meluangkan waktu kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan tesis ini.
4. Bapak Muhammad Aswad, M.Si., Ph.D, Apt., Bapak Habibie, M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt., dan Bapak Prof. dr. Veni Hadju, Ph.D selaku tim penguji yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan saran dan masukan yang membangun kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan tesis ini.
5. Dekan, Wakil Dekan, seluruh staf dosen dan pegawai Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas ilmu, bantuan, dan fasilitas yang diberikan kepada penulis selama menempuh studi hingga menyelesaikan tesis ini.
6. Teman-teman UFRG Widya, Avi, Tenri, Dewita, Mukarram, Nadil, Kiya, Asbah, Nadya, Jihan, Hiday, Aizia, Ismi, Gimas, Adit, dan Ilham, serat teman seperjuangan Jumriani, Ratnawati, dan Rasma terima kasih atas dukungan dan bantuan yang luar biasa yang diberikan kepada penulis selama menempuh studi hingga menyelesaikan tesis ini.
7. Teman-teman Magister Farmasi angkatan 2022, yang telah memberikan banyak kenangan, dukungan, dan pengalaman selama menjadi mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
8. Semua pihak yang telah membantu dan tidak sempat disebutkan namanya satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penyusunan tesis 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, 06 Maret 2024



Muhammad Rasul Pratama

ABSTRAK

MUHAMMAD RASUL PRATAMA. **Evaluasi *Drosophila melanogaster* sebagai Organisme model *in vivo* dalam pengujian efek samping obat penyebab enteropati: Studi Terkait Indometasin** (dibimbing oleh Firzan Nainu dan Elly Wahyudin).

Latar belakang. Enteropati merupakan gangguan usus yang ditandai dengan terjadinya inflamasi pada usus halus. Salah-satu penyebab terjadinya enteropati adalah efek samping dari obat-obatan tertentu seperti anti inflamasi non steroid (AINS). Mekanisme obat AINS yang dapat menghambat sintesis prostaglandin yang dapat menurunkannya produksi mucus dan integritas usus kecil. **Tujuan.** Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi *Drosophila melanogaster* sebagai Organisme model *in vivo* dalam pengujian efek samping obat-obatan penyebab enteropati. **Meotde** Penelitian ini terbagi atas tiga pengujian yakni: 1) Analisis survival *D. melanogaster*; 2) Uji integritas usus menggunakan metode *Smurf Assay*; 3) Analisis ekspresi gen terkait gen sitokin pro inflamasi, stabilitas mitokondria, dan antioksidan endogen menggunakan metode *reverse transcriptase quantitative* PCR. Analisis data pengujian ini menggunakan *GraphPad Prism*[®] 9. **Hasil.** Pemberian indometasin tidak menyebabkan pengaruh terhadap penurunan masa hidup dan tidak menyebabkan kerusakan usus pada *D. melanogaster*. Akan tetapi terjadi peningkatan ekspresi gen terkait sitokin pro inflamasi, stabilitas mitokondria, dan antioksidan endogen pada pemberian indometasin 15 mM. **Kesimpulan** *D. melanogaster* dapat digunakan dalam penelitian terkait kerusakan usus khususnya enteropati. Akan tetapi indometasin yang digunakan belum cukup untuk menyebabkan kerusakan usus secara signifikan pada fenotip lalat walau demikian terjadi peningkatan level ekspresi gen terkait sitokin proinflamasi, stabilitas mitokondria dan antioksidan endogen yang menandakan terjadinya inflamasi.

Kata Kunci: Enteropati; *Smurf assay*; AINS; *Drosophila melanogaster*

ABSTRACT

MUHAMMAD RASUL PRATAMA. **Evaluation of *Drosophila melanogaster* as an *in vivo* model organism in testing the side effects of enteropathy-causing pharmaceuticals: indomethacin-related study** (Supervised by Firzan Nainu and Elly Wahyudin)

Background: Enteropathy is a gastrointestinal disorder characterized by inflammation in the small intestine. One of the causes of enteropathy is the side effects of certain drugs, such as non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). The mechanism of NSAIDs can inhibit prostaglandin synthesis, leading to a decrease in mucus production and small intestine integrity. **Aim:** This study aims to evaluate *Drosophila melanogaster* as an *in vivo* model organism in testing the side effects of pharmaceuticals that cause enteropathy. **Methods:** The research is divided into three tests: 1) Analysis of *D. melanogaster* survival; 2) Intestinal integrity test using the Smurf Assay method; 3) Analysis of gene expression related to pro-inflammatory cytokines, mitochondrial stability, and endogenous antioxidants using reverse transcriptase quantitative PCR. Data analysis for these tests is performed using GraphPad Prism® 9. **Results:** The administration of indomethacin did not affect the decrease in lifespan and did not cause intestinal damage in *D. melanogaster*. However, there was an increase in gene expression related to pro-inflammatory cytokines, mitochondrial stability, and endogenous antioxidants with the administration of 15 mM indomethacin. **Conclusion:** *D. melanogaster* can be employed in research related to intestinal damage, particularly enteropathy. However, the indomethacin used has not been sufficient to induce significant intestinal damage in the fly phenotype; nonetheless, there is an increase in the expression levels of proinflammatory cytokine-related genes, mitochondrial stability, and endogenous antioxidants, indicating the occurrence of inflammation

Keyword: Enteropathy, Smurf Assay, NSAID, *Drosophila melanogaster*

DAFTAR ISI

UCAPAN TERIMA KASIH.....	viii
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR SINGKATAN.....	xvi
BAB I	
PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.1.1. Rumusan Masalah	2
1.2. Tujuan dan Manfaat.....	2
1.2.1. Tujuan.....	2
1.2.2. Manfaat Penelitian	3
1.5 Kerangka Teori	4
1.6 Kerangka Konsep.....	5
BAB II	6
METODE PENELITIAN.....	6
2.1 Tempat dan Waktu.....	6
2.2 Alat dan Bahan.....	6
2.2.1 Alat	6
2.2.2 Bahan	6
2.3 Metode Penelitian.....	6
2.3.1 Penyiapan Hewan Uji.....	6
2.3.2 Pembuatan Pakan Drosophila.....	6
2.3.3 Pembuatan Larutan Stok.....	7
2.3.4 Analisis Survival.....	7
2.3.5 Pengujian integritas usus menggunakan <i>Smurf assay</i>	7
2.3.6 Penyiapan sampel RNA	7
2.3.7 Analisis ekspresi gen menggunakan RT-qPCR	8
2.3.8 Analisis Data.....	9
BAB III	10
HASIL DAN PEMBAHASAN	10
3.1 Hasil	10
3.1.3 Pemberian indometasin mempengaruhi ekspresi gen terkait sitokin pro inflamasi	11
3.1.4 Pemberian indometasin mempengaruhi ekspresi gen terkait stabilitas mitokondria	12
3.1.5 Pemberian indometasin mempengaruhi ekspresi gen antioksidan endogen.....	13
3.2 Pembahasan	13
BAB IV	17
KESIMPULAN DAN SARAN	17

4.1. Kesimpulan	17
4.2. Saran	17
DAFTAR PUSTAKA	18
LAMPIRAN	20

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Primer yang di gunakan untuk RT-qPCR	9
Tabel 2. Hasil perbandingan tukey uji survival Lalat dewasa setelah terpapar Indometasin.....	23
Tabel 3. Hasil Perbandingan Tukey Ekspresi gen <i>totA</i>	24
Tabel 4. Hasil Perbandingan Tukey Ekspresi gen <i>tom40</i>	24
Tabel 5. Hasil Perbandingan Tukey Ekspresi gen <i>sod1</i>	25
Tabel 6. Hasil Perbandingan Tukey Ekspresi gen <i>sod2</i>	25
Tabel 7. Hasil Perbandingan Tukey Ekspresi gen <i>cat</i>	26

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Uji survival.....	10
Gambar 2. Hasil Metode smurf.	11
Gambar 3. Ekspresi gen Sitokin Proinflamasi.....	12
Gambar 4. Ekspresi gen Stabilitas mitokondria.	13
Gambar 5. Ekspresi gen antioksidan endogen	13
Gambar 6. Proses aktivasi gen terkait sitokin proinflamasi dan antioksidan endogen akibat terjadinya inflamasi pada usus <i>Drosophila</i>	16
Gambar 7. Pengamatan uji Survival pada lalat dewasa yang diberikan indometasin dalam medium pakan kertas saring.	21
Gambar 8. Pengamatan Uji smurf untuk melihat gangguan integritas usus pada lalat dewasa yang diletakkan dalam medium pakan biru.	21
Gambar 9. Proses isolasi RNA dan dan PCR gen target	21

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja	20
Lampiran 2. Gambar penelitian	21
Lampiran 3. Perhitungan konsentrasi Indometasin dalam pakan drosophila	22
Lampiran 4. Analysis Of Variance (ANOVA)	23

DAFTAR SINGKATAN

Singkatan	Arti
ANOVA	Analysis of Variance
BSC	Biosafety Cabinet Class
CO ₂	Karbondioksida
<i>D. melanogaster</i>	<i>Drosophila melanogaster</i>
DNA	Deoxyribonucleic Acid
<i>drs</i>	Drosomycin
g	Gram
JAK/STAT	Janus Kinase/ Signal Transducer Activator of Transcription
mg	Miligram
mL	Mililiter
PCR	Polymerase Chain Reaction
RNA	Ribonucleid Acid
ROS	Reactive Oxygen Species
Rp49	Ribosomal Protein 49
RT-qPCR	Reverse Trancption quantitative Polymerase Chain Reaction
<i>Tom40</i>	Translocase of other Membrane 40
<i>totA</i>	Turandot A
Upd	Unpaired
μL	Mikroliter

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Enteropati adalah gangguan yang terjadi di usus halus yang menunjukkan banyak ciri patologis (Mulenga *et al.*, 2022). Atrofi vili, hiperplasia kript, peningkatan permeabilitas, infiltrasi sel, inflamasi, dan malabsorpsi adalah tanda-tanda enteropati yang memengaruhi pertumbuhan dan mengganggu penyerapan nutrisi yang dapat menyebabkan tubuh lebih rentan terhadap infeksi (Korpe and Petri, 2012) . Pada awalnya, enteropati dianggap sebagai kondisi medis yang tidak serius. Namun, dampak enteropati dalam menghambat pertumbuhan anak-anak khususnya di negara-negara berkembang telah menimbulkan kekhawatiran ditengah Masyarakat (Watanabe and Petri, 2016). Penelitian sebelumnya telah menunjukkan kondisi enteropati pada anak-anak yang mengalami kekurangan gizi dan tinggal dilingkungan sanitasi yang buruk, menjadi perhatian utama di sejumlah negara berkembang (Owino *et al.*, 2016). Selain itu, gangguan perkembangan neurokognitif dan penurunan efektivitas vaksin oral dikaitkan dengan kondisi ini (Jiang *et al.*, 2014).

Selain karena kondisi sanitasi yang buruk, enteropati juga dapat disebabkan oleh efek samping obat-obatan. Adapun obat yang mempunyai potensi dapat menyebabkan enteropati adalah obat Anti inflamasi non steroid (AINS). AINS merupakan salah satu jenis obat yang berpotensi menyebabkan enteropati. menurunnya produksi mucus dan penipisan lapisan mucosa akibat efek samping AINS, menyebabkan (Peningkatan) paparan bakteri, enzim, dan empedu terhadap usus sehingga meningkatkan permeabilitas dan peradangan (Salameh *et al.*, 2019).

Evaluasi efek suatu obat memerlukan serangkaian langkah yang melibatkan pengujian pra-klinis menggunakan hewan coba. Penggunaan hewan coba seperti mamalia umumnya digunakan dalam studi evaluasi efek obat. Akan tetapi, memiliki beberapa kelemahan seperti biaya yang mahal, memerlukan kode etik, laju reproduksi yang lambat, dan masa hidup yang lebih lama (Bilen and Bonini, 2005). Oleh karena itu, perlunya hewan coba alternatif yang lebih ekonomis, bebas kode etik, namun tetap memiliki kemiripan dengan mamalia.

Penggunaan hewan invertebrata seperti *Caenorhabditis elegans* dan *Drosophila melanogaster* biasa digunakan sebagai organisme model dalam penelitian biomedis. Harga yang jauh lebih murah dan mudah dikembangkan di laboratorium menjadi alasan utama mengapa hewan *C. elegans* dan *D. melanogaster* dipilih sebagai suatu alternatif dalam penelitian. Akan tetapi *C. elegans* memiliki beberapa kekurangan khususnya di saluran cerna *C. elegans* tidak memiliki microbiota usus dan saluran cerna yang lebih simple, bila dibandingkan dengan *D. melanogaster* yang memiliki fisiologi saluran cerna yang lebih kompleks dan memiliki microbiota saluran cerna (Stephen J. Simpson, 2009, Kwang Pum Lee and Nazaneen Soran, 2008). Sehingga dalam penelitian ini dipilih *D. melanogaster* sebagai organisme model dalam penelitian terkait saluran cerna.

Lalat buah (*Drosophila melanogaster*) telah terbukti sebagai organisme model dalam penelitian genetika karena kemiripannya dengan mamalia. Lalat buah memiliki sistem usus yang kompleks dan dinamis yang menyerupai jaringan, fisiologi, dan anatomi usus mamalia, serta memproduksi hormon gastrointestinal (Staats *et al.*, 2018). Selain kemiripan genetik dan struktur saluran ususnya yang menyerupai mamalia, lalat buah juga lebih mudah untuk dipelihara, hemat biaya, dan tidak terkendala oleh kode etik (Apidianakis and Rahme, 2011). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek samping dari suatu obat yang dapat menyebabkan enteropati dengan menggunakan *D. melanogaster* sebagai platform *in vivo*.

1.1. Rumusan Masalah

Apakah *D. melanogaster* dapat digunakan sebagai Organisme model pengujian efek samping obat yang berpotensi menyebabkan enteropati?

1.2. Tujuan dan Manfaat

1.2.1. Tujuan

Untuk mengevaluasi apakah *Drosophila melanogaster* dapat digunakan sebagai Organisme model *in vivo* pengujian efek samping obat yang berpotensi menyebabkan enteropati.

1.2.2. Manfaat Penelitian

1.3.2.1 Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan menjadi tambahan referensi bagi mahasiswa/pembaca lainnya yang tertarik untuk menjadikan acuan dalam penelitian selanjutnya yang berhubungan dengan kondisi enteropati.

1.3.2.2 Manfaat Praktis

a. Bagi Peneliti

Adapun manfaat penelitian ini yaitu diharapkan dengan menggunakan *D. melanogaster* dapat sebagai organisme model enteropati yang mudah dibuat, ekonomis, serta sesuai dengan kondisi manusia sehingga dapat berpotensi menghasilkan pengetahuan baru bagi pengembangan senyawa dalam pengobatan enteropati.

b. Bagi Masyarakat

Penelitian ini bermanfaat untuk menambah pengetahuan bagi masyarakat khususnya mengenai gambaran pengaruh yang dapat ditimbulkan dari kondisi enteropati akibat efek samping obat yang dapat diamati secara fenotip dan molekule

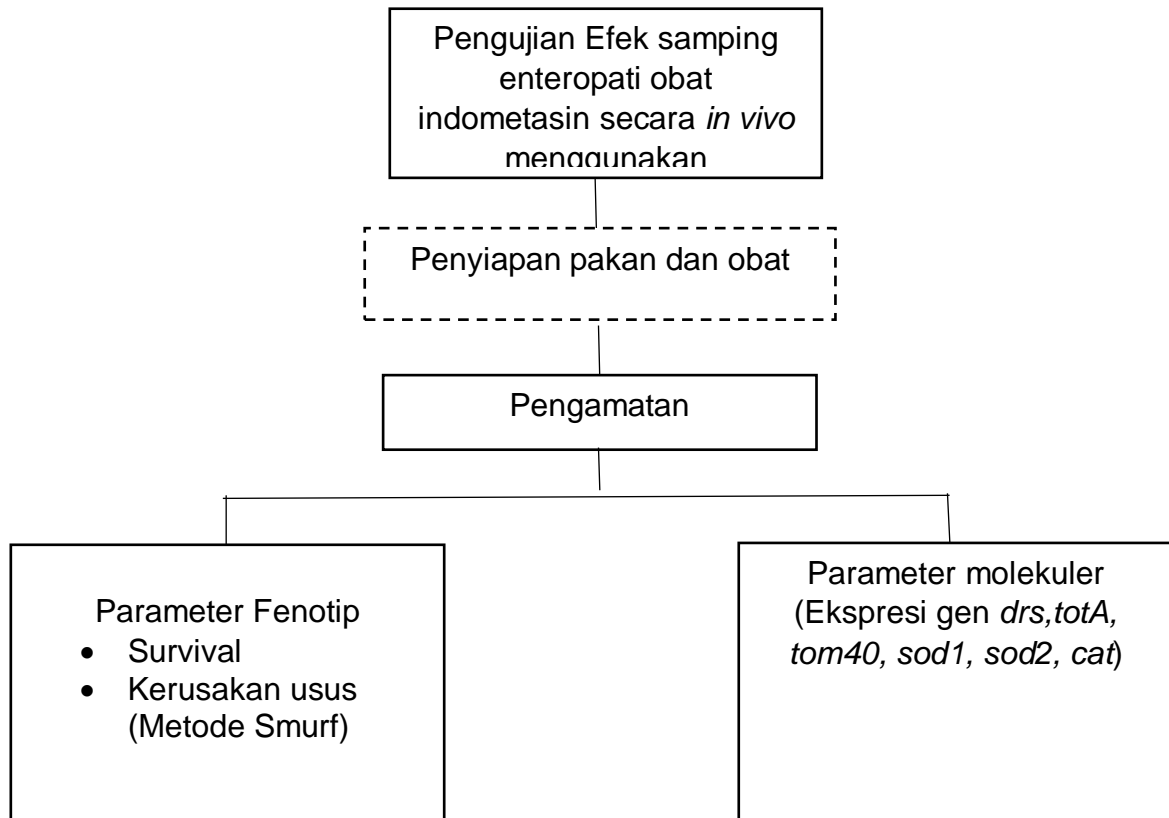
1.5 Kerangka Teori



———— = yang diamati

----- = yang tidak diamati

1.6 Kerangka Konsep



———— = variabel terikat

----- = variabel bebas