

**ANALISIS EKSPRESI GEN *tom40* DAN *indy* PADA  
*Drosophila melanogaster* YANG DIBERIKAN  
KLORAMFENIKOL**

**ANALYSIS OF *tom40* AND *indy* GENE EXPRESSION  
IN *Drosophila melanogaster* TREATED WITH  
CHLORAMPHENICOL**

**NURHIDAYAH RAMLY  
N011201126**



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

**ANALISIS EKSPRESI GEN *tom40* DAN *indy* PADA *Drosophila melanogaster* YANG DIBERIKAN KLORAMFENIKOL**

**ANALYSIS OF *tom40* AND *indy* GENE EXPRESSION IN *Drosophila melanogaster* TREATED WITH CHLORAMPHENICOL**

**SKRIPSI**

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

**NURHIDAYAH RAMLY  
N011201126**

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

ANALISIS EKSPRESI GEN *tom40* DAN *indy* PADA *Drosophila melanogaster* YANG DIBERIKAN KLORAMFENIKOL

NURHIDAYAH RAMLY

N011201126

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping



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

Muh. Akbar Bahar, S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.  
NIP. 19860516 200912 1 005

Pada tanggal 10 Februari 2024

**SKRIPSI**  
**ANALISIS EKSPRESI GEN *tom40* DAN *indy* PADA *Drosophila melanogaster* YANG DIBERIKAN KLORAMFENIKOL**

**ANALYSIS OF *tom40* AND *indy* GENE EXPRESSION IN *Drosophila melanogaster* TREATED WITH CHLORAMPHENICOL**

Disusun dan diajukan oleh :

**NURHIDAYAH RAMLY**  
**N011201126**

telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin  
pada tanggal 16 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 Pendamping



Muh. Akbar Bakar, S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.  
NIP. 19860516 200912 1 005

Ketua Program Studi S1 Farmasi,  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin



Nurmasni Masah, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.  
NIP. 19860116 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 Februari 2024

Yang menyatakan



Nurhidayah Ramly  
N011201126

## UCAPAN TERIMA KASIH

*Alhamdulillah* rabbil'alamiin, segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas berkat, rahmat, dan karunia-Nya hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.

Tiada 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. Prof. Firzan Nainu, S.Si., M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt. selaku pembimbing utama sekaligus pembimbing akademik penulis atas segala ilmu, keluangan waktu, dan arahan selama penulis menempuh studi hingga penelitian dan penyelesaian tugas akhir; dan Bapak Muh. Akbar Bahar, S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt. selaku pembimbing pendamping yang dengan ikhlas dan sabar telah meluangkan waktu, tenaga, ilmu, serta arahan hingga penyusunan skripsi ini.
2. Ibu Dr. Risfah Yulianty, S.Si., M.Si., Apt. dan Ibu Nur Inda Yanti, S.Si., M.Si. selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktu dan memberikan saran serta masukan yang membangun.

3. Dekan dan Wakil Dekan, serta seluruh staf dosen dan pegawai Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan kontribusi atas segala kebutuhan dalam penelitian ini.
4. Orang tua penulis tercinta, Ayahanda Ramly dan Ibunda Nudiah serta saudara penulis tersayang, Kakanda Aprisal atas doa, perhatian, kasih sayang, dan dukungan dalam segala aspek baik secara moril maupun materil kepada penulis.
5. Seluruh keluarga besar dan kerabat yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu yang telah memberikan dukungan dan doa.
6. Keluarga UFRG (*Unhas Fly Research Group*) khususnya Kak Mukarram, Kak Nadil, Kak Widya, Kak Tenri, Kak Avi, Kak Dewita, dan Kak Acul, serta teman-teman, Nadiyah, Jihan, Aizia, Ismi, Ilham, Adit, dan Gimas yang saling membantu dan menyemangati selama penelitian.
7. Sahabat terkasih penulis, Tahniah yang selalu mendukung setiap langkah penulis; serta Belantara, dan Rinaldiansyah yang sangat membantu, mendoakan dan mendengar keluh-kesah penulis.
8. Teman seperjuangan, Maung, Anis, Ame, Rin, Rayya, Nurfi, Atisa yang telah menjadi rekan yang berarti bagi penulis tersendiri.
9. Teman-teman Vanilla, Alifiah, Nadiyah, Herlina, Aida, Nuril, Isti, Hamyan, dan Syila yang sudah mendukung penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

10. Teman-teman UKM Radio Kampus EBS FM Unhas terkhusus sahabat Rotasi, yang telah menjadi tempat untuk me-*recharge* energi dan selalu memberikan perhatian kepada penulis.
11. Keluarga besar K.A.L. Biofartoks FF-UH mencakup Dosen, Laboran, dan seluruh asisten atas segala ilmu serta pengalaman berharga selama penulis menjadi bagian di dalamnya.
12. Teman-teman angkatan 2020 (HE20IN) yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu, kalian semua luar biasa.
13. Manusia baik lainnya yang pernah bertemu dan berhubungan baik. Walaupun hanya perjumpaan singkat, tetapi cukup mengisi hari dan memberikan kekuatan serta makna tersendiri bagi penulis.
14. *Last but not least, I want to thank myself for believing in myself, for putting in all this hard work, never quitting and simply being myself at all times.*

Penulis menyadari 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 dan dipergunakan sebaik baiknya.

Makassar, Februari 2024

Nurhidayah Ramly



## ABSTRAK

**NURHIDAYAH RAMLY.** Analisis Ekspresi Gen *tom40* dan *indy* pada *Drosophila Melanogaster* yang Diberikan Kloramfenikol (dibimbing oleh Firzan Nainu dan Muh. Akbar Bahar)

Kloramfenikol adalah antibiotik spektrum luas yang digunakan untuk melawan beberapa penyakit infeksi. Namun, penggunaan kloramfenikol mulai menurun akibat toksisitas yang sering terjadi. Kloramfenikol menyebabkan supresi sumsum tulang, anemia aplastik, dan *gray baby syndrome*. Mekanisme utama yang mendasari toksisitas tersebut, yaitu gangguan pada fungsi mitokondria. Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi mekanisme toksisitas kloramfenikol terhadap ekspresi *Translocate Outer Membrane 40 (tom40)* dan *I'm Not Dead Yet (indy)* secara molekuler pada *Drosophila melanogaster*. Penelitian ini dilakukan dalam enam tahap, yakni: 1) penyiapan hewan uji; 2) pembuatan pakan standar dan pakan perlakuan dengan variasi konsentrasi 1.875 ppm, 3.125 ppm dan 4.375 ppm; 3) pemberian perlakuan pada larva *Drosophila*; 4) penyiapan sampel RNA; 5) analisis molekuler gen *tom40* dan *indy* menggunakan metode *reverse transcriptase quantitative PCR*, dan 6) analisis data menggunakan *Graphpad prism®9*. Hasil ekspresi gen *tom40* menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara kelompok perlakuan dengan kontrol sehat dan pelarut. Pada konsentrasi terendah kloramfenikol (1.875 ppm) terjadi penurunan ekspresi gen *tom40*, menunjukkan adanya gangguan pada mekanisme translokasi protein mitokondria sebagai dampak toksisitas pada fungsi mitokondria. Namun, ketika konsentrasi kloramfenikol ditingkatkan, terjadi peningkatan ekspresi gen *tom40* sebagai respon seluler terhadap kerusakan sel yang signifikan akibat paparan toksik dari kloramfenikol. Sementara itu, pada uji ekspresi gen *indy* menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan antara kelompok perlakuan dengan kontrol lainnya. Berdasarkan penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa mekanisme toksisitas akibat paparan kloramfenikol pada *Drosophila* dapat terlihat melalui ekspresi gen *tom40* namun tidak memperlihatkan efek yang berarti terhadap gen *indy*.

Kata kunci : Kloramfenikol, *Drosophila melanogaster*, *tom40*, *indy*

## ABSTRACT

**NURHIDAYAH RAMLY.** *Analysis Of tom40 and indy Gene Expression in Drosophila Melanogaster Treated with Chloramphenicol* (supervised by Firzan Nainu dan Muh. Akbar Bahar)

Chloramphenicol is a broad-spectrum antibiotic used to combat various infectious diseases. However, its usage has declined due to frequent toxicity. Chloramphenicol induces bone marrow suppression, aplastic anemia, and gray baby syndrome. The primary mechanism underlying this toxicity is disruption in mitochondrial function. This study aims to explore the molecular mechanisms of chloramphenicol toxicity on the expression of Translocate Outer Membrane 40 (*tom40*) and I'm Not Dead Yet (*indy*) genes in *Drosophila melanogaster*. The research is conducted in six stages: 1) preparation of test animals; 2) formulation of standard and treatment diets with concentrations of 1.875 ppm, 3.125 ppm, and 4.375 ppm; 3) administration of treatment to *Drosophila* larvae; 4) RNA sample preparation; 5) molecular analysis of *tom40* and *indy* genes using the reverse transcriptase quantitative PCR method; and 6) data analysis using GraphPad Prism®9. The *tom40* gene expression results show significant differences between the treatment group and healthy or solvent control groups. At the lowest chloramphenicol concentration (1.875 ppm), there is a decrease in *tom40* gene expression due to disturbances in the mitochondrial protein translocation mechanism, indicating the impact of toxicity on mitochondrial function. However, as chloramphenicol concentration is increased, there is an elevation in *tom40* gene expression as a cellular response to significant cell damage caused by toxic exposure to chloramphenicol. Meanwhile, the *indy* gene expression test shows no significant differences between the treatment group and other controls. Based on this research, it can be concluded that the mechanism of chloramphenicol-induced toxicity in *Drosophila* can be observed through *tom40* gene expression but does not show a significant effect on the *indy* gene.

**Keywords:** Chloramphenicol, *Drosophila melanogaster*, *tom40*, *indy*

## DAFTAR ISI

	halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	3
I.3 Tujuan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Kloramfenikol	4
II.2 <i>Drosophila melanogaster</i>	6
II.2.1 Klasifikasi <i>Drosophila melanogaster</i>	6
II.2.2 Deskripsi	6
II.3 RT-qPCR	9
II.4 Gen <i>tom40</i>	10
II.5 Gen <i>indy</i>	12
BAB III METODE PENELITIAN	15
III.1 Alat dan Bahan	15
III.2 Metode Kerja	15
III.2.1 Penyiapan Hewan Uji <i>Drosophila melanogaster</i>	15
III.2.2 Pembuatan Pakan <i>Drosophila melanogaster</i>	16
III.2.2.1 Pembuatan Pakan Standar <i>Drosophila melanogaster</i>	16
III.2.2.2 Pembuatan Pakan Perlakuan	16
III.2.3 Pemberian Perlakuan Pada Larva <i>Drosophila melanogaster</i>	17

III.2.4 Penyiapan Sampel RNA	17
III.2.5 Analisis Ekspresi Gen	18
III.2.6 Analisis Data	19
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	20
IV.1 Pemeriksaan Level Ekspresi Gen <i>tom40</i>	20
IV.2 Pemeriksaan Level Ekspresi Gen <i>indy</i>	23
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	24
V.1 Kesimpulan	24
V.2 Saran	24
DAFTAR PUSTAKA	25
LAMPIRAN	29

## DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Sekuens primer gen	19
2. Hasil <i>one-way annova</i> ekspresi gen <i>tom40</i>	32
3. Hasil uji lanjutan <i>Tukey's Multiple Comparison Test</i> ekspresi gen <i>tom40</i>	32
4. Hasil <i>one-way annova</i> ekspresi gen <i>indy</i>	32
5. Hasil uji lanjutan <i>Tukey's Multiple Comparison Test</i> ekspresi gen <i>indy</i>	33

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Struktur kimia kloramfenikol	4
2. Siklus hidup <i>Drosophila melanogaster</i>	7
3. Regulasi gen <i>tom40</i>	11
4. Level ekspresi gen <i>tom40</i>	12
5. Regulasi gen <i>indy</i>	13
6. Level ekspresi gen <i>indy</i>	14
7. Hasil ekspresi gen <i>tom40</i> setelah pemberian kloramfenikol	20
8. Hasil ekspresi gen <i>indy</i> setelah pemberian kloramfenikol	23
9. Penyiapan hewan uji	33
10. Pembuatan pakan	33
11. Pembuatan pakan kloramfenikol	33
12. Pakan kloramfenikol	33
13. Persiapan pengumpulan sampel	33
14. Isolasi RNA	33
15. Pengujian PCR	34
16. Analisis statistik	34

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema Kerja	29
2. Perhitungan Konsentrasi	30
3. Data Statistik	31
4. Dokumentasi Penelitian	33

# BAB I

## PENDAHULUAN

### I.1 Latar Belakang

Kloramfenikol adalah antibiotik spektrum luas yang digunakan untuk melawan konjungtivitis, meningitis, wabah, kolera, dan demam tifoid (Nguyen *et al.*, 2022). Kloramfenikol bersifat bakteriostatik tetapi dapat juga bersifat bakterisida dalam konsentrasi tinggi atau bila digunakan melawan organisme yang sangat rentan. Cara kerjanya yaitu dengan menghambat sintesis protein dengan mengikat subunit ribosom 50S dan secara langsung mencegah pembentukan protein bakteri (Sykes, 2014).

Namun, pada saat ini, penggunaan kloramfenikol mulai menurun akibat toksisitas yang sering terjadi. Kloramfenikol menyebabkan supresi sumsum tulang, anemia aplastik, dan *gray baby syndrome* sehingga menyebabkan kolaps kardiovaskular hingga kematian. Selain itu, efek samping yang ditimbulkan lainnya yaitu asidosis metabolik, ensefalopati, neurotoksisitas, neuritis optik, atrofi vili epitel usus kecil, dan kardiotoxikitas (Wiest *et al.*, 2012).

Gangguan pada fungsi mitokondria merupakan mekanisme utama yang mendasari toksisitas kloramfenikol. Kloramfenikol dapat mengakibatkan stres mitokondria dan penurunan biosintesis ATP sehingga menimbulkan toksisitas (Li *et al.*, 2010). Akan tetapi, mekanisme



toksisitas kloramfenikol terhadap mitokondria masih belum sepenuhnya dipahami secara jelas dan membutuhkan penelitian lebih lanjut.

Gen *tom40* dan *indy* merupakan gen yang terlibat dalam fungsi mitokondria dan biogenesis. Namun, keduanya memiliki peran yang berbeda. Gen *tom40* memproduksi protein tom40 yang terlibat dalam biogenesis kompleks tom mitokondria yang penting untuk impor protein ke mitokondria (Rao *et al.*, 2012; Wiedemann *et al.*, 2004). Selain itu, *tom40* berperan pada proses autofagi dengan mencegah disfungsi mitokondria dan pembentukan radikal bebas (Liu *et al.*, 2018).

Gen *indy* berperan dalam biogenesis mitokondria sepanjang masa aktivasi AMPK sebagai akibat penurunan jumlah ATP (Dela Cruz & Kang, 2018). Gen ini bertanggung jawab untuk mengatur pengangkutan zat antara siklus Krebs melintasi membran dalam mitokondria. Gen ini diketahui pula berperan dalam regulasi *lifespan* dan metabolisme energi (Neretti *et al.*, 2009).

Pada penelitian genetika saat ini, *Drosophila melanogaster* telah menjadi pilihan yang banyak digunakan karena keunggulannya seperti kemiripan susunan genetik sekitar 75% dengan manusia, pemeliharaannya mudah, masa hidup cepat, dan dapat digunakan dalam jumlah banyak, serta tidak memerlukan kode etik (Nainu, 2018).

Penelitian terkait pemberian kloramfenikol pada *Drosophila melanogaster* masih belum banyak dikembangkan. Pada penelitian sebelumnya, diketahui bahwa kloramfenikol dapat menghambat sintesis

protein seluler sehingga bakteriostatik pada *Drosophila melanogaster* yang terinfeksi (Behnel, 1982; Sultan *et al.*, 2001). Namun, belum ada penelitian lebih lanjut terkait mekanisme toksisitas seluler kloramfenikol pada *Drosophila melanogaster*.

Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui ekspresi gen *tom40* dan *indy* pada *Drosophila melanogaster* yang diberikan kloramfenikol. Hasil yang diperoleh akan memberikan gambaran dasar terkait peran kedua gen tersebut terhadap mekanisme toksisitas seluler kloramfenikol pada *Drosophila melanogaster*.

## **I.2 Rumusan Masalah bagaimana efek klorammfenikol**

Apakah toksisitas kloramfenikol dapat memengaruhi ekspresi gen *tom40* dan *indy* pada *Drosophila melanogaster*?

## **I.3 Tujuan Penelitian**

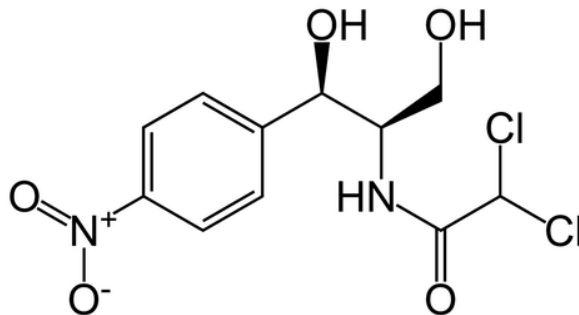
Untuk mengevaluasi toksisitas kloramfenikol terhadap ekspresi gen *tom40* dan *indy* pada *Drosophila melanogaster*.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1 Kloramfenikol

Kloramfenikol adalah antibiotik spektrum luas dengan rumus kimia  $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ . Senyawa ini sangat stabil dan tahan terhadap suhu tinggi, namun kehilangan efektivitasnya di bawah kondisi yang sangat bersifat alkalin. Kloramfenikol mengganggu fungsi transpeptidase dan menghambat pembentukan rantai peptida bakteri serta sintesis protein (Zhou *et al.*, 2024). Cara kerja kloramfenikol yaitu berikatan pada subunit 50S ribosom bakteri, mengakibatkan penghambatan sintesis protein bakteri (Sykes, 2014).



Gambar 1. Struktur kimia kloramfenikol (Pilehvar *et al.*, 2012)

Pada tahun 1947, kloramfenikol ditemukan sebagai senyawa alami yang dihasilkan oleh bakteri *Streptomyces venezuelae*. Keefektifan antibiotik ini terbukti selama dua wabah demam tifoid di Bolivia dan Malaysia pada tahun 1948. Pada tahun 1949, Badan Pengawas Obat dan Makanan Amerika Serikat memberikan persetujuan pada kloramfenikol sebagai antibiotik spektrum luas pertama. Senyawa ini mudah disintesis,

ekonomis untuk diproduksi, dan bisa diberikan melalui oral, injeksi, atau topikal. Keunggulan penetrasi jaringan dan cairan tubuh bersama dengan cakupan antimikroba yang luas menyebabkan kloramfenikol mendapat penerimaan global dengan cepat (Wiest *et al.*, 2012).

Pada tahun 1950-an, kloramfenikol digunakan secara luas untuk mengatasi berbagai masalah infeksi, mulai dari penyakit ringan seperti pilek, jerawat, dan bronkitis hingga infeksi serius seperti meningitis bakteri. Namun, pada tahun 1960-an, popularitasnya mulai menurun akibat adanya hubungan antara toksisitas dengan dua dampak berbeda pada sumsum tulang. Pertama, terdapat toksisitas yang dapat diprediksi dan bergantung pada dosis, menyebabkan anemia yang dapat pulih setelah penghentian obat. Kedua, antibiotik ini menunjukkan toksisitas yang serius dengan terdapat reaksi idiosinkratik yang tidak dapat diprediksi, bersifat ireversibel, dan sering berakibat fatal, yaitu anemia aplastik dan penekanan sumsum tulang (Shukla *et al.*, 2011; Wiest *et al.*, 2012).

Jenis toksisitas kloramfenikol lainnya dikenal sebagai *gray syndrome*, awalnya diidentifikasi pada bayi baru lahir setelah overdosis yang tidak disengaja. Jika tidak teridentifikasi dan diobati, *gray baby syndrome* sering mengakibatkan kegagalan jantung dan kematian. Selain toksisitas hematologis, efek samping yang jarang dilaporkan dari kloramfenikol melibatkan asidosis metabolik, ensefalopati, neurotoksisitas, neuritis optik, atrofi vili epitel usus halus, dan kardioraks (Wiest *et al.*, 2012).

## **II.2 Drosophila melanogaster**

### **II.2.1 Klasifikasi Drosophila melanogaster**

Berikut ini adalah klasifikasi dari *Drosophila melanogaster* (Gullan & Cranston, 2014):

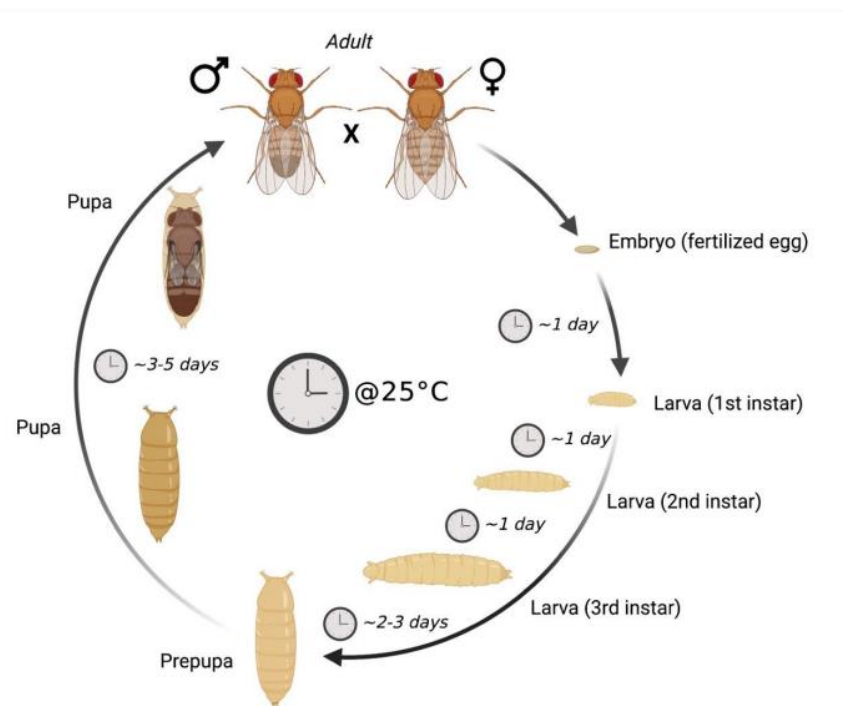
Kingdom : Animalia  
Filum : Arthropoda  
Class : Insecta  
Ordo : Diptera  
Family : Drosophilidae  
Genus : Drosophila  
Spesies : *Drosophila melanogaster*

### **II.2.2 Deskripsi**

*Drosophila melanogaster* telah lama menjadi spesies model yang populer dalam penelitian biologi, biologi sel, neurobiologi, dan genetika. Beberapa keunggulan *Drosophila* sebagai organisme model termasuk biaya perawatan yang rendah, tingkat reproduksi tinggi (30-50 telur/hari), dan waktu generasi yang singkat (sekitar 10 hari pada suhu 25 °C). Selain itu, umur hidup *Drosophila* relatif singkat (rata-rata 3 bulan pada suhu 25 °C), sehingga studi memerlukan waktu yang singkat dan memungkinkan untuk melakukan investigasi metabolisme pada ratusan keturunan baik pada tahap juvenil (larva dan pupa) maupun pada tahap dewasa. Selain itu, stok lalat yang mengandung modulasi gen dan molekuler serta genetik yang kuat, yang memungkinkan overekspresi atau pengurangan gen

dapat diinduksi secara spesifik pada jaringan atau waktu tertentu (Lee & Min, 2019).

Meskipun tubuhnya kecil dan fenotipnya berbeda dari manusia, serangga ini memiliki kesamaan genetika dengan manusia sekitar 75%. Dengan kekuatan genetika tersebut, model *Drosophila* telah terbukti sebagai strategi yang efisien untuk meneliti berbagai jenis patologi manusia, termasuk patologi metabolik, neurologis, kardiovaskular, pencernaan, dan komorbiditas nefrokistik (Moraes & Montagne, 2021; Nainu, 2018).



**Gambar 2. Siklus hidup *Drosophila melanogaster* (Brischigliaro et al., 2023)**

Siklus hidup *Drosophila* terdiri dari 4 tahap perkembangan: embrio, larva, pupa, dan dewasa. *Drosophila* betina mampu menghasilkan sekitar 100 embrio setiap harinya, dan proses embriogenesis hanya berlangsung

selama 24 jam. Larva instar pertama memulai makan di permukaan pakan dan mengalami dua kali pergantian kulit. Pada instar kedua, larva tersebut menggali ke dalam pakan, dan ketika larva instar ketiga sudah matang, ia meninggalkan pakan kultur dan berpindah ke dinding-dinding vial, mencari tempat untuk pupariasi selama 24-48 jam (Spremulli, 2014).

Selama proses pupariasi, terjadi metamorfosis tubuh dari larva ke dewasa. Pada tahap ini, sebagian besar jaringan larva mengalami degradasi, dan organ-organ dewasa berkembang dari suatu kantung sel yang belum differensiasi, yang disebut sebagai cakram imago. Dalam *Drosophila*, terdapat 10 pasang cakram imago yang merekonstruksi seluruh tubuh dewasa kecuali perut, dan satu cakram genital yang membentuk organ reproduksi. Epidermis abdominal terbentuk dari histoblas, yang merupakan kelompok sel imago yang berspesialisasi. Cakram imago merupakan wilayah seluler yang telah banyak digunakan dalam penelitian untuk mengungkap peran banyak gen yang secara langsung terlibat dalam morfogenesis struktur dewasa (Spremulli, 2014).

Sebagai tambahan, proses perkembangan dari telur hingga dewasa memerlukan waktu sekitar 9-10 hari setelah pembuahan telur, meskipun pada suhu yang lebih rendah (18°C), perkembangan memakan waktu dua kali lipat dari waktu normal (Spremulli, 2014).

### II.3 RT-qPCR

PCR, atau *Polymerase Chain Reaction*, merupakan teknik laboratorium yang digunakan untuk dengan cepat menghasilkan jutaan hingga miliaran salinan dari sampel DNA tertentu, memungkinkan peneliti untuk mengamplifikasi sampel DNA yang sangat kecil. Meskipun PCR tidak digunakan secara langsung untuk RNA, tetapi dapat digunakan untuk mengamplifikasi cDNA yang disintesis dari RNA melalui transkripsi balik. Dalam konteks penelitian *Drosophila*, PCR digunakan untuk berbagai tujuan, termasuk mengidentifikasi gen-gen awal dalam respon kekebalan *Drosophila*, genotipe *Drosophila* tunggal, dan mengevaluasi potensi gen referensi untuk studi *Reverse Transcriptase Quantitative Real-Time PCR* (RT-qPCR) (Carvalho *et al.*, 2009; Ponton *et al.*, 2011).

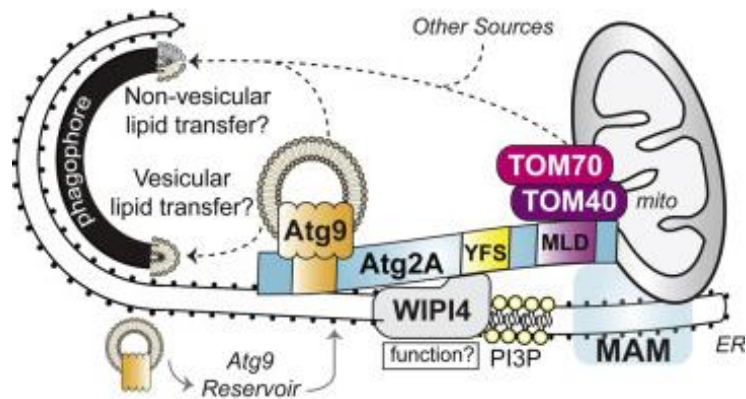
RT-qPCR merupakan metode laboratorium yang digunakan untuk mengukur jumlah molekul RNA spesifik. Prosesnya melibatkan transkripsi balik RNA menjadi DNA komplementer (cDNA), yang kemudian diamplifikasi menggunakan PCR kuantitatif. Dalam penelitian *Drosophila*, RT-qPCR sering digunakan untuk menganalisis pola ekspresi gen, mengonfirmasi penurunan gen melalui interferensi RNA, dan mempelajari respon fisiologis *Drosophila melanogaster* (Ling & Salvaterra, 2011; Mainland *et al.*, 2017). Untuk mendapatkan hasil yang akurat dan dapat diandalkan, teknik ini memerlukan pemilihan gen referensi yang sesuai untuk normalisasi data, serta penggunaan desain primer spesifik dan metode isolasi RNA yang tepat (Kim *et al.*, 2020; Lü *et al.*, 2018).



#### **II.4 Gen *tom40***

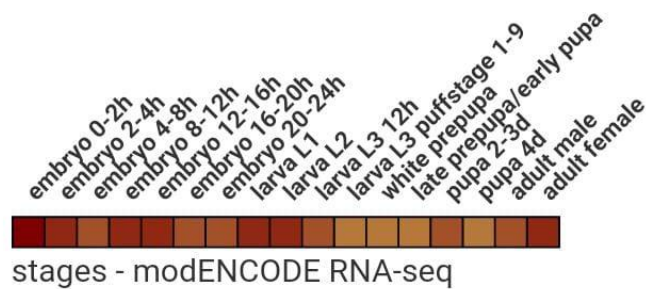
Gen *tom40* (*translocase of outer membrane 40*) merupakan komponen sentral dan penting dari translokase membran luar mitokondria (TOM), yang terlibat dalam proses translokasi dan penyortiran protein ke dalam organel. *tom40* merupakan subunit pembentuk saluran pada kompleks translokase membran luar mitokondria (TOM), yang memiliki peran krusial dalam proses impor protein ke dalam mitokondria. *tom40* disintesis di dalam sitosol dan membawa informasi terkait pengarahannya ke mitokondria serta proses perakitannya. Gen *tom40* terdapat dalam kompleks multisubunit yang melibatkan protein reseptor *tom20*, *tom70*, suatu subunit pengatur pusat *tom22* yang berperan dalam stabilitas kompleks, serta tiga protein kecil *tom5*, *tom6*, dan *tom7* (Humphries *et al.*, 2005).

Selain itu, *tom40* berperan dalam homeostatis protein di sitosol: Gangguan dalam impor protein mitokondria, seperti yang disebabkan oleh penurunan ekspresi *tom40*, dapat mengakibatkan regulasi yang tidak tepat pada autofagi dan degenerasi neuron. Pengurangan ekspresi *tom40* pada *Drosophila* turut terkait dengan penumpukan gumpalan sitosol besar dan neurodegenerasi, yang mana menekankan dampak *tom40* pada kesehatan dan fungsi seluler (Liu *et al.*, 2018).



**Gambar 3. Regulasi gen *tom40* (Tang *et al.*, 2019)**

*tom40* merupakan komponen utama kompleks translokase membran mitokondria luar (TOM), sebagai protein pengikat MLD, dan berinteraksi dengan Atg2A. Interaksi Atg2A-TOM40 bertanggung jawab untuk lokalitas MAM dari Atg2A dan sangat penting untuk ekspansi fagofor. Interaksi ini membutuhkan kompleks TOM, khususnya *tom40*, dan sangat krusial untuk merekrut Atg2A ke MAM guna transfer lipid vesikuler dan/atau non-vesikuler, mempromosikan ekspansi fagofor dan aliran autofagi yang efisien. Hal ini juga menunjukkan bahwa *tom40*, sebagai komponen inti kompleks TOM, terlibat dalam regulasi translokasi Atg2A ke MAM, menyoroti signifikansinya dalam proses ekspansi fagofor dan autofagi. Interaksi ini sangat penting untuk fungsi yang tepat dari proses autofagi dan pemeliharaan homeostasis seluler (Tang *et al.*, 2019).



**Gambar 4. Level Ekspresi gen *tom40* (FlyBase)**

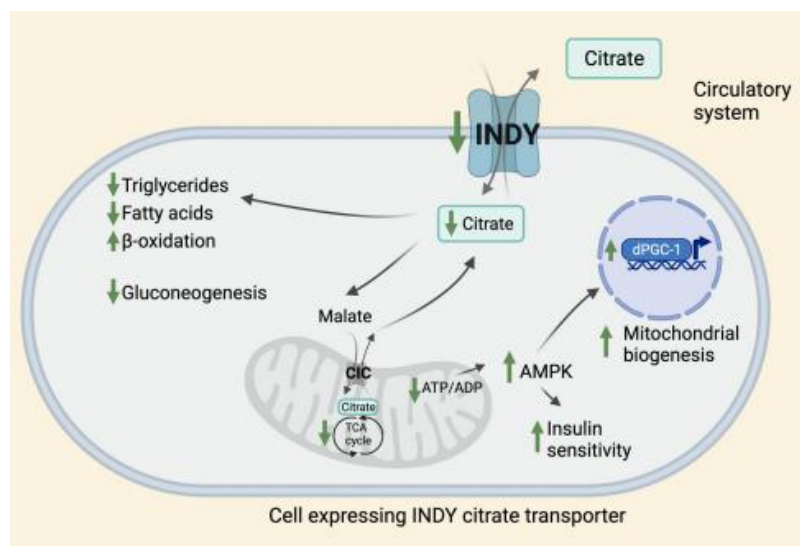
## II.5 Gen *indy*

*I'm not dead yet (indy)* merupakan homolog lalat dari transporter membran plasma SLC13A5 pada mamalia, yang memiliki afinitas tertinggi untuk mengangkut metabolit sitrat. Metabolit sitrat ini menjadi regulator kritis dalam proses metabolisme dan sensor energi yang terlibat dalam kesehatan, umur panjang, dan penyakit. Hal ini turut berhubungan dengan peningkatan aktivitas fisik spontan, peningkatan kesuburan, penurunan sinyal insulin, peningkatan biogenesis mitokondria, pemeliharaan homeostasis sel punca usus, penurunan kadar lipid, dan peningkatan ketahanan terhadap stres. Gen *indy* pada *Drosophila* mengodekan transporter intermediate siklus Krebs di membran plasma, dengan ekspresi yang kuat di usus dan oenosit. Gen ini terlibat dalam pengangkutan intermediet siklus Krebs, dan penurunan ekspresinya telah dikaitkan dengan umur panjang dan regulasi metabolisme (Mishra *et al.*, 2021).

Homolog mamalia dari gen *indy* *Drosophila*, SLC13A5, diekspresikan di berbagai jaringan, termasuk hati, otak, dan testis. Studi pada tikus

menunjukkan bahwa penurunan ekspresi *indy* memengaruhi metabolisme glukosa, fungsi mitokondria, dan metabolisme lipid, sebagaimana yang diamati pada *Drosophila*. Hal ini mengindikasikan bahwa *indy* mungkin berperan sebagai regulator metabolisme pada manusia (Rogina, 2017).

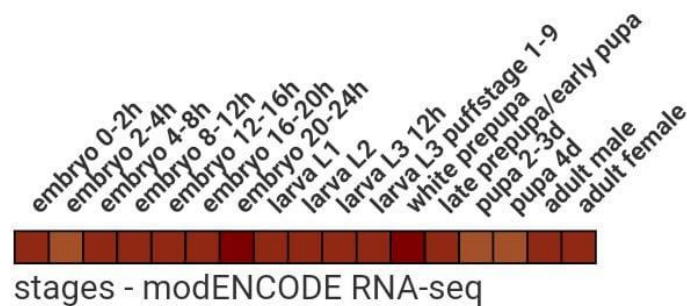
Penurunan ekspresi gen *indy* mamalia telah dikaitkan dengan umur panjang dan manfaat metabolik, seperti peningkatan metabolisme glukosa dan perlindungan dari dampak negatif diet tinggi kalori. Hal ini menunjukkan bahwa *indy* dapat menjadi target terapeutik potensial untuk pengobatan gangguan metabolisme terkait usia dan diet pada manusia (Willmes *et al.*, 2018).



**Gambar 5. Regulasi gen *indy* (Kannan & Rogina, 2021)**

*indy* merupakan transporter sitrat pada membran plasma yang mengangkut sitrat antara sistem peredaran darah dan sitosol sel yang menghasilkan *indy* pada *Drosophila* dan spesies lain. Penurunan aktivitas *indy* menghasilkan penurunan kadar sitrat dalam sel, memengaruhi metabolisme dengan menurunkan sintesis trigliserida dan asam lemak,

meningkatkan  $\beta$ -oksidasi, serta mengurangi glukoneogenesis. Sitrat diubah menjadi malat di sitosol dan diangkut ke mitokondria melalui CIC (*Citrate/isocitrate carrier*) yang terletak pada membran mitokondria dalam, yang mana digunakan dalam siklus asam sitrat. Sitrat yang disintesis di mitokondria kemudian diangkut kembali ke sitosol melalui CIC sebagai pertukaran dengan malat. Tingginya kadar sitrat menyebabkan penurunan rasio ATP/ADP yang mengaktifkan AMPK, yang mempromosikan sensitivitas insulin dan biogenesis mitokondria melalui peningkatan tingkat dPGC-1 (Kannan & Rogina, 2021).



**Gambar 6. Level ekspresi gen *indy* (FlyBase)**