

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Alcohol use disorder (AUD) merupakan salah satu gangguan kesehatan yang paling umum di dunia. Pada tahun 2021, diperkirakan 2,5 miliar penduduk dunia mengonsumsi alkohol, dan 129 juta di antaranya memenuhi kriteria AUD (Puddephatt et al., 2021). Di Indonesia pada tahun yang sama, tercatat sekitar 26 juta pengguna alkohol dengan 1,1 juta orang mengalami AUD (Hanafi et al., 2021). Penggunaan alkohol juga berkaitan dengan gangguan kejiwaan, disfungsi sosial, kekerasan, bunuh diri, pembunuhan, penurunan produktivitas, serta berbagai komorbiditas fisik (Asharani et al., 2022). Berdasarkan *Our World in Data* (2024), AUD berkontribusi sekitar 20% dari angka kematian global. Hal ini menunjukkan bahwa AUD merupakan kondisi yang perlu mendapatkan perhatian serius, mengingat konsekuensinya tidak hanya berdampak pada kesehatan individu tetapi juga pada stabilitas sosial dan ekonomi masyarakat (NIAAA, 2025).

Dalam *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition* (DSM-5), AUD diklasifikasikan sebagai fenotipe kompleks yang ditandai oleh pola penggunaan alkohol bermasalah, termasuk toleransi, putus zat, konsumsi berlebihan, *craving*, dan penggunaan yang tetap berlanjut meskipun menimbulkan dampak negatif (Engel et al., 2019). Salah satu dampak dari konsumsi alkohol adalah timbulnya stres seluler yang mengganggu fungsi normal sel. Konsumsi alkohol jangka panjang dapat menimbulkan berbagai bentuk stres seluler, seperti stres oksidatif akibat akumulasi *reactive oxygen species* (ROS), yang mengganggu homeostasis seluler, merusak neuron, dan berkontribusi pada perubahan perilaku terkait penggunaan alkohol (Engel et al., 2019; Tsermpini et al., 2022). Kondisi stres seluler ini kemudian menginduksi aktivasi *heat shock proteins* (HSPs), yaitu kelompok protein protektif yang berfungsi menjaga kestabilan dan homeostasis protein seluler serta mencegah kerusakan lebih lanjut (Chen et al., 2024). Selain itu, paparan alkohol kronis dapat menyebabkan kegagalan mekanisme adaptasi seluler, sehingga kerusakan sel terus terakumulasi dan berdampak pada viabilitas organisme secara keseluruhan. Akibatnya, kemampuan bertahan hidup menurun seiring dengan gangguan fungsi neuron dan menurunnya efektivitas respon protektif terhadap stres (Mokashi et al., 2021).

Teh hijau atau *Camellia sinensis* (*C. sinensis*) memiliki kandungan polifenol terutama katekin, seperti *epigallocatechin gallate* (EGCG) yang dilaporkan memiliki efek antioksidan, neuroprotektif, dan protektif terhadap stres seluler (Kim et al., 2023). Efek antioksidan dari katekin berkontribusi terhadap penurunan stres oksidatif seluler, yang berdampak pada perbaikan homeostasis protein dan penurunan beban stres seluler, sehingga memengaruhi regulasi dan aktivasi HSP, termasuk *hsp22* sebagai respons adaptif seluler (Bernatoniene &

Kopustinskiene, 2018). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa salah satu mekanisme kerja katekin adalah melalui modulasi homeostasis protein, khususnya dengan memengaruhi ekspresi dan fungsi HSP. EGCG sebagai katekin utama telah terbukti mampu memodulasi fungsi protein HSP pada model yang tidak terkait dengan alkohol (Naponelli et al., 2017). Oleh karena itu, perubahan ekspresi gen *hsp22*, yang dikenal sebagai indikator sensitif terhadap stres oksidatif dan stres seluler, dapat digunakan untuk menilai efektivitas katekin dalam menurunkan stres seluler akibat paparan alkohol. Namun, hingga saat ini bukti mengenai efek katekin terhadap regulasi *hsp22* pada kondisi stres seluler akibat konsumsi alkohol masih terbatas, sehingga diperlukan pengujian lanjutan menggunakan model hewan.

Dalam penelitian biomedis, mamalia sering digunakan sebagai model karena kemampuannya mereplikasi proses patogenesis, diagnosis, dan terapi yang mirip dengan manusia (Mukherjee et al., 2022). Namun, pemanfaatan mamalia memiliki keterbatasan seperti biaya pemeliharaan yang tinggi, kebutuhan akan persetujuan etik yang ketat, serta tantangan dalam manipulasi genetik secara masif (Anbazhagan et al., 2024). Oleh karena itu, untuk mengatasi kendala tersebut, diperlukan model hewan alternatif yang lebih ekonomis serta mampu memberikan hasil yang tinggi, salah satunya ialah dengan menggunakan *Drosophila melanogaster* (*D. melanogaster*).

D. melanogaster merupakan organisme multiseluler yang kerap dijadikan *platform* pemodelan untuk mempelajari mekanisme dasar genetika (Nainu et al., 2022). Organisme ini juga sesuai digunakan sebagai model AUD karena memiliki jalur metabolisme alkohol yang serupa dengan manusia, yaitu melalui kerja enzim alkohol dehidrogenase dan aldehid dehidrogenase (Fry, 2014). Selain kesesuaian tersebut, *D. melanogaster* memiliki berbagai keunggulan, antara lain umur hidup yang singkat, biaya pemeliharaan yang relatif rendah, kemudahan dalam manipulasi genetik, serta tidak memerlukan persetujuan kode etik penelitian (Fischer et al., 2023). Selain itu, sekitar 75% gen *D. melanogaster* memiliki homolog dengan gen manusia, salah satunya ialah gen *hsp22* (Tower, 2012). Hal ini menjadikan lalat buah relevan digunakan untuk mengeksplorasi pengaruh stres seluler pada model AUD. Berdasarkan uraian diatas, maka perlu dilakukan pengujian efek ekstrak *C. sinensis* terhadap gen *hsp22* pada *D. melanogaster* model AUD

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini, yaitu bagaimana efektivitas ekstrak *C. sinensis* terhadap tingkat stres seluler pada *D. melanogaster* model *Alcohol Use Disorder* (AUD)?

1.3 Tujuan dan Manfaat

Berdasarkan rumusan masalah di atas, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak *C. sinensis* terhadap tingkat stres seluler pada *D. melanogaster* model *Alcohol Use Disorder* (AUD). Penelitian ini diharapkan dapat menambah kajian ilmiah mengenai peran ekstrak *C. sinensis* dalam memodulasi stres seluler pada kondisi AUD, khususnya melalui regulasi ekspresi gen *hsp22* pada model *D. melanogaster*.

BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, oven (Mettler®), papan CO₂ (CO₂ stage), rotary evaporator, Thermal cycler qPCR (RotorGene Q, Qiagen®), toples, vial dan plugs *Drosophila* (Biologix®). Bahan yang digunakan didalam penelitian ini antara lain, agar, aluminium foil, asam propionat, aquadest, brewer's yeast, corn meal, Daun Teh Hijau (*C. sinensis*), etanol PA (Merck®), gas CO₂, glukosa, kertas saring (whatman™), micropestle, microtube (Gene follower®), Monarch® Total RNA Miniprep Kit (New England Biolabs, MA, USA), satu set primer forward dan reverse hsp22 dan rp49, dan Treff tube (Treff lab).

2.2 Metode Kerja

2.2.1 Penyiapan Ekstrak *C. sinensis*

Daun teh hijau (*C. sinensis*) diperoleh dari Pattapang, Kecamatan Tinggimoncong, Kabupaten Gowa, Sulawesi Selatan. Daun teh hijau dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60°C, kemudian dirajang hingga menjadi serbuk kasar (Lindawati & Anggraini, 2020). Sebanyak 1.500 gram serbuk daun teh hijau kering diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 50% sebanyak 10.500 ml selama tiga hari, dengan rasio pelarut terhadap sampel sebesar 7:1 (v/b). Filtrat hasil maserasi kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental (Evitasari & Susanti, 2021).

2.2.2 Penyiapan Hewan Coba

Hewan uji digunakan berupa *D. melanogaster strain wild type* genotip *w¹¹¹⁸* (Hibah dari *Drosophila Genetic Resource Center (DGRC Stock Center, Kyoto, Jepang)*). *D. melanogaster* dipelihara di dalam vial yang berisi pakan pada kondisi terkontrol dengan suhu 25°C, kelembapan 60%, serta siklus terang-gelap 12 jam (Luheshi et al., 2007).

2.2.3 Pembuatan Pakan *D. melanogaster*

Setiap 200 ml pakan normal disiapkan dengan mencampurkan 5 gram ragi, 15 gram tepung jagung, 1,8 gram agar, serta 9 gram gula pasir, kemudian ditambahkan air suling hingga total volumenya mencapai 200 ml. Campuran ini diaduk merata sambil dipanaskan sampai mengental. Setelah pemanasan, ditambahkan 800 µl asam propionat dan 900 µl metil paraben. Campuran tersebut kemudian dituangkan ke dalam vial dan dibiarkan memadat selama 24 jam.

Pada pembuatan pakan untuk perlakuan ekstrak, terlebih dahulu dibuat stok ekstrak *C. sinensis* 25% dengan menggunakan etanol 70%. Kemudian

dilakukan pengenceran konsentrasi hingga mencapai konsentrasi 0,3125%, 0,625%, dan 1,25% dalam pakan standar.

2.2.4 Pembuatan Model AUD dan Perlakuan Ekstrak *C. sinensis*

Pembuatan model AUD pada *D. melanogaster* dilakukan menggunakan *D. melanogaster strain w¹¹¹⁸* berumur satu hari menggunakan metode *Capillary Feeder Assay* (CAFE). Pipa kapiler berisi larutan sukrosa 5% dan etanol 25% disiapkan untuk menginduksi paparan alkohol selama 7x24 jam. *D. melanogaster* model AUD dipindahkan ke dalam vial yang sudah berisi pakan perlakuan ekstrak untuk dilanjutkan ke tahap pengujian berikutnya (Sitepu et al., 2025).

2.2.5 Uji Survival

Uji survival dilakukan untuk mengevaluasi ketahanan hidup *D. melanogaster* dengan mencatat jumlah individu yang hidup dan mati setiap hari selama periode pengamatan 7 hari (Nainu et al., 2025).

2.2.6 Penyiapan Sampel RNA

Isolasi RNA dilakukan menggunakan Monarch® Total RNA Miniprep Kit (New England Biolabs, MA, USA). Sebanyak 5 ekor lalat *D. melanogaster* dimasukkan ke dalam treff tube, kemudian ditambahkan RNA *protection reagent* dan dihomogenisasi menggunakan micropestle. Sebanyak 300 µL sampel homogenat diambil, lalu ditambahkan 30 µL Proteinase K *Reaction Buffer* dan 15 µL Proteinase K, kemudian divortex dan diinkubasi selama 5 menit. Sampel selanjutnya disentrifugasi selama 2 menit pada kecepatan 13.000 rpm, kemudian supernatan dipindahkan ke dalam *RNase-free tube*. Selanjutnya, ditambahkan 300 µL RNA *Lysis Buffer* ke dalam supernatan dan dihomogenkan menggunakan vortex selama 10 menit, kemudian ditambahkan 300 µL etanol 95% dan dicampurkan hingga homogen. Campuran sampel dimasukkan ke dalam RNA *purification column*, lalu disentrifugasi pada 13.000 rpm selama 30 detik. Filtrat dibuang dan kolom dipindahkan ke *collection tube* yang baru. Kolom kemudian dicuci dengan menambahkan 500 µL RNA *Wash Buffer* dan disentrifugasi selama 30 detik. Untuk menghilangkan kontaminasi DNA genom, dilakukan perlakuan DNase I dengan menambahkan DNase I *Reaction Mix* ke membran kolom dan diinkubasi selama 15 menit. Setelah itu, kolom dicuci kembali menggunakan RNA *Wash Buffer* sesuai tahapan dengan proses sentrifugasi pada 13.000 rpm selama 30 detik pada setiap tahap pencucian. Setelah pencucian terakhir, kolom disentrifugasi kembali untuk menghilangkan sisa buffer. RNA kemudian dielusi dengan menambahkan 30 µL *nuclease-free water*, diinkubasi selama 1 menit, lalu disentrifugasi pada 13.000 rpm selama 30 detik. RNA hasil isolasi disimpan pada suhu -80 °C hingga digunakan untuk analisis selanjutnya.

2.2.7 Analisis Ekspresi Gen

Ekspresi gen *hsp22* dianalisis menggunakan teknik *real-time* qRT-PCR dengan volume reaksi masing-masing 10 µl menggunakan Monarch® *Total RNA Miniprep*

Kit (New England Biolabs, MA, USA). Amplifikasi dilakukan dengan pasangan primer spesifik *hsp22* (*forward*: 5'-GTC AAC AAG GAT GGC TAC AA-3' dan *reverse*: 5'-CAC CAG GAC AAC GCT CTC-3') serta satu set primer *rp49* (*forward*: 5'-GAC GCT TCAAGG GAC AGT ATC TG-3' dan *reverse*: 5'- AAA CGC GGT TCT GCA TGA G-3') sebagai referensi tingkat ekspresi gen inang. Reaksi disiapkan dalam total volume 10 μ L. Proses qRT-PCR dijalankan menggunakan RotorGene Q (Qiagen, Jerman) dengan tahapan awal inkubasi pada suhu 50°C selama 10 menit dan 90°C selama 10 menit, kemudian dilanjutkan dengan 35 siklus amplifikasi. Setiap siklus terdiri atas denaturasi pada 95°C selama 10 detik, *annealing* pada 60°C selama 30 detik, elongasi pada 72°C selama 30 detik dan diakhiri dengan analisis kurva leleh (*melt curve analysis*) dari suhu 60°C hingga 95°C (Magdalena et al., 2012).

Tabel 1. Sekuens primer masing-masing gen

Nama Gen	Sekuens Primer		Kondisi
	<i>Forward</i>	<i>Reverse</i>	
<i>hsp22</i>	5'-GTC AAC AAG GAT GGC TAC AA-3'	5'-CAC CAG GAC AAC GCT CTC-3'	1. PCR cycle: 35 Siklus 2. Reverse transcription: 50°C, 10 menit 3. Hot start: 90°C, 10 Menit
<i>rp49</i>	5'-GAC GCT TCA AGG GAC AGT ATC TG-3'	5'- AAA CGC GGT TCT GCA TGA G-3'	4. Denaturasi: 95°C, 10 detik 5. Annealing: 60°C, 30 detik 6. Elongasi: 72°C, 30 Detik

2.2.8 Analisis dan Pengolahan Data

Data yang diperoleh dikumpulkan menggunakan Microsoft Excel® (Microsoft Corporation, Redmond, USA). Selanjutnya, data dianalisis secara statistik menggunakan uji One-Way ANOVA. Hasil eksperimen kemudian disajikan dalam bentuk tabel dan grafik dengan bantuan perangkat lunak GraphPad Prism® versi 10.0 (GraphPad Software, California, USA). Tingkat signifikansi ditetapkan pada $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**), dan $p < 0,001$ (***).

BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Hasil

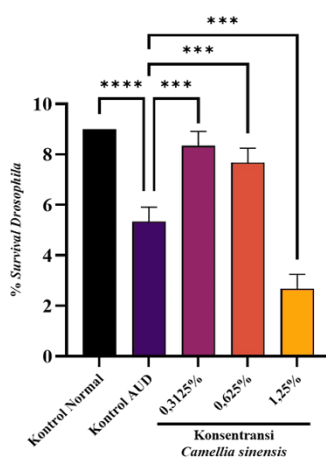
3.1.1 Hasil Ekstraksi Daun *C. Sinensis*

Tabel 2. Hasil ekstraksi daun *C. sinensis*

Bobot simplisia	Bobot ekstrak kental	Rendemen total
1500 gram	485,02 gram	32,33%

Berdasarkan Tabel 1, diperoleh rendemen ekstrak *C. Sinensis* sebesar 32,33%.

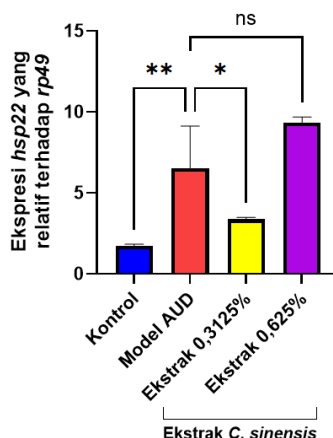
3.1.2 Hasil Uji *Survival*



Gambar 1. Hasil pengujian *survival* (rata-rata $\pm$ SD, n=30). *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$

Berdasarkan grafik pada Gambar 1, menunjukkan bahwa *D. melanogaster* model AUD mengalami penurunan *survival* akibat paparan alkohol. Selain itu, pemberian ekstrak *C. sinensis* pada konsentrasi 0,3125% dan 0,625% meningkatkan *survival* dari *D. melanogaster*. Akan tetapi, pada konsentrasi 1,25% terjadi penurunan tingkat *survival* pada *D. melanogaster*

3.1.3 Hasil Analisis Ekspresi Gen



Gambar 2. Hasil ekspresi gen *hsp22* (rata-rata $\pm$ SD, $n=5$). Ns: non-signifikan, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$

Berdasarkan grafik pada Gambar 2, induksi AUD meningkatkan ekspresi gen *hsp22* dibandingkan kelompok kontrol. Pemberian ekstrak *C. sinensis* pada konsentrasi 0,3125% menunjukkan kecenderungan penurunan ekspresi gen *hsp22* yang signifikan dengan kelompok AUD. Sebaliknya, pada konsentrasi 0,625% tidak terdapat perbedaan yang signifikan ekspresi gen *hsp22* dengan kelompok AUD.

3.2 Pembahasan

3.2.1 Ekstraksi Daun *C. sinensis*

Proses ekstraksi daun teh hijau (*C. sinensis*) menggunakan metode maserasi menghasilkan ekstrak dalam bentuk kental dengan nilai rendemen sebesar 32,33%. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Evitasari & Susanti (2021), yang melaporkan bahwa maserasi daun teh hijau menggunakan etanol 50% menghasilkan rendemen sebesar 39,98%. Kesamaan metode ekstraksi dan polaritas pelarut memungkinkan terlarutnya senyawa polifenol dalam jumlah besar. Perbedaan nilai rendemen yang diperoleh dapat dipengaruhi oleh kondisi bahan baku serta waktu ekstraksi. Berdasarkan Farmakope Herbal Indonesia (FHI), nilai rendemen digunakan sebagai salah satu parameter mutu ekstrak, dengan nilai rendemen ekstrak kental *C. sinensis* ditetapkan tidak kurang dari 7,8%. Hal ini menunjukkan bahwa metode maserasi dengan pelarut etanol berair memiliki kemampuan yang tinggi dalam mengekstraksi senyawa polar dan semipolar dari daun *C. sinensis* (Kemenkes, 2017).

3.2.2 Uji Efektivitas Ekstrak *C. sinensis*

Hasil uji *survival* menunjukkan bahwa pemberian ekstrak *C. sinensis* pada konsentrasi 0,3125% dan 0,625% meningkatkan *survival* *D. melanogaster* dibandingkan kelompok model AUD. Namun, pada konsentrasi 1,25% terjadi penurunan *survival* yang menunjukkan adanya efek toksik pada dosis tinggi (**Gambar 1**). Penurunan *survival* tersebut mengindikasikan bahwa paparan ekstrak *C. sinensis* pada konsentrasi tinggi dapat meningkatkan beban stres seluler, baik melalui ketidakseimbangan redoks maupun gangguan metabolik, sehingga menghambat kemampuan adaptasi seluler dan menurunkan kelangsungan hidup organisme (Lopez et al., 2016). Temuan ini menegaskan bahwa efek biologis ekstrak *C. sinensis* bersifat *dose-dependent*, yang menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan, maka semakin besar potensi efek toksiknya terhadap (Elbling et al., 2016). Oleh karena itu, konsentrasi 0,625% ditetapkan sebagai konsentrasi tertinggi ekstrak *C. sinensis* yang masih bersifat aman dan tidak menimbulkan efek toksik.

Hasil analisis ekspresi gen menunjukkan adanya peningkatan signifikan ekspresi gen *hsp22* pada kelompok AUD dibandingkan dengan kelompok kontrol (**Gambar 2**). Peningkatan ekspresi *hsp22* ini berkorelasi dengan penurunan *survival* *D. melanogaster* pada model AUD (**Gambar 1**), yang mengindikasikan terjadinya stres seluler yang bersifat patologis akibat paparan alkohol kronis yang akhirnya berdampak negatif terhadap viabilitas sel secara keseluruhan (Mokashi et al., 2021). Hal ini kemungkinan disebabkan oleh produksi ROS akibat konsumsi alkohol melalui proses metabolisme alkohol, baik melalui alkohol dehidrogenase maupun sitokrom P450 (CYP450) sehingga menyebabkan stres oksidatif, kerusakan protein, dan gangguan homeostasis seluler (Tsermpini et al., 2022). Sebagai respon terhadap kondisi tersebut, sel mengaktifkan HSP, termasuk *hsp22* yang berperan dalam mempertahankan viabilitas sel. Namun, peningkatan ekspresi *hsp22* yang tinggi pada kelompok AUD menunjukkan bahwa mekanisme proteksi tersebut tidak cukup mengimbangi akumulasi kerusakan seluler. Dengan demikian, peningkatan ekspresi *hsp22* pada model AUD digunakan sebagai penanda stres seluler patologis yang menunjukkan upaya kompensasi sel untuk bertahan terhadap kerusakan akibat stres oksidatif (Chen et al., 2025).

Setelah pemberian ekstrak *C. sinensis* pada konsentrasi 0,3125%, terjadi penurunan ekspresi gen *hsp22* dibandingkan dengan kelompok model AUD (**Gambar 2**). Penurunan ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak *C. sinensis* mampu menurunkan tingkat stres seluler pada lalat model AUD. Perbaikan ini juga dapat terlihat pada peningkatan *survival* *D. melanogaster* setelah pemberian ekstrak *C. sinensis* pada konsentrasi 0,3125% (**Gambar 1**). Efek tersebut diduga berkaitan dengan kandungan polifenol, terutama katekin seperti EGCG, yang memiliki aktivitas antioksidan. Katekin bekerja melalui mekanisme langsung dengan menetralkan ROS serta melalui mekanisme tidak langsung dengan meningkatkan sistem pertahanan antioksidan endogen, sehingga berpotensi

mengurangi tekanan stres seluler dan menurunkan kebutuhan aktivasi respons protektif berupa peningkatan ekspresi *hsp22* (Bernatoniene & Kopustinskiene, 2018). Oleh karena itu, ekspresi *hsp22* yang lebih rendah pada konsentrasi ini mencerminkan perbaikan kondisi homeostasis seluler yang berkontribusi terhadap peningkatan kelangsungan hidup organisme.

Sebaliknya, pada pemberian ekstrak *C. sinensis* dengan konsentrasi 0,625% tidak terdapat perbedaan yang signifikan ekspresi gen *hsp22* dengan kelompok AUD (**Gambar 2**). Peningkatan kadar katekin berpotensi memicu auto-oksidasi EGCG yang menghasilkan hidrogen peroksida (H_2O_2) dalam tingkat rendah. H_2O_2 dalam tingkat rendah tidak bersifat merusak, melainkan dapat berperan sebagai molekul sinyal yang memicu stres ringan terkontrol dan menginduksi respons adaptif seluler melalui mekanisme hormesis. Aktivasi respons adaptif ini berpotensi mempertahankan ekspresi protein stres, termasuk *hsp22*, sebagai upaya sel dalam menjaga homeostasis dan meningkatkan ketahanan terhadap kondisi stres (Elbling et al., 2010).

Meskipun ekspresi *hsp22* pada pemberian ekstrak 0,625% tidak berbeda signifikan, kelompok perlakuan ini menunjukkan peningkatan *survival* yang signifikan dibandingkan kelompok AUD (**Gambar 1**). Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan ekspresi *hsp22* masih mampu mendukung mekanisme adaptif seluler yang berkontribusi terhadap kelangsungan hidup organisme. Berdasarkan Chen et al. (2025), aktivasi *hsp22* dapat memengaruhi beberapa jalur pertahanan seluler, salah satunya melalui aktivasi proses autofagi melalui pembentukan kompleks HSPB8–BAG3 yang berperan dalam *chaperone-assisted selective autophagy*. Mekanisme ini berpotensi membantu pembersihan protein salah lipat atau rusak akibat stres oksidatif, dan menjaga proteostasis sel. Selain itu, *hsp22* juga dilaporkan berkontribusi dalam aktivasi jalur *survival* sel, seperti jalur Akt–PI3K–AMPK, yang berperan dalam menekan aktivasi jalur apoptosis (Chen et al., 2025). Melalui mekanisme tersebut, peningkatan ekspresi *hsp22* pada kondisi ini mencerminkan upaya adaptif sel untuk mempertahankan kelangsungan hidup sel. Namun, keterlibatan langsung jalur autofagi dan apoptosis pada kondisi ini masih bersifat hipotetik dan memerlukan validasi lebih lanjut melalui analisis gen-gen terkait autofagi dan apoptosis pada penelitian selanjutnya. Selain itu, analisis proliferasi sel dapat dilakukan sebagai parameter tambahan untuk mengevaluai dampak fungsional stres seluler terhadap viabilitas dan kemampuan adaptasi sel, yang dapat memperkuat hubungan antara respons molekuler dan peningkatan *survival* pada kondisi ini (Abdelkader et al., 2024). Dengan demikian, peningkatan ekspresi *hsp22* dapat menggambarkan dua kondisi berbeda, yaitu stres patologis akibat kerusakan seluler pada model AUD, serta stres ringan adaptif (hormesis) pada pemberian ekstrak *C. sinensis* dosis tinggi.