

BAB 1

PENDAHULUAN

Pengobatan dengan terapi gen telah berkembang dengan pesat sejak *clinical trial*, terapi ini pertama kali diperkenalkan pada tahun 1990 (Robert,2004). Terapi gen adalah teknik untuk mengoreksi gen-gen cacat yang bertanggung jawab terhadap suatu penyakit. Selama ini pendekatan terapi gen yang berkembang adalah menambahkan gen-gen normal ke dalam sel yang mengalami ketidak normalan. Pendekatan kedua adalah melenyapkan gen abnormal dengan gen normal secara rekombinasi homolog. Pendekatan ketiga, mereparasi gen abnormal dengan cara mutasi balik selektif sedemikian rupa sehingga akan mengembalikan fungsi normal gen tersebut. Selain pendekatan-pendekatan tersebut, ada pendekatan lain untuk terapi gen, yaitu mengendalikan regulasi ekspresi gen abnormal tersebut (Holmes, 2003).

Perkembangan terapi gen yang terkini untuk penyakit-penyakit adalah lebih ke arah gagasan mencegah diekspresikannya gen-gen yang abnormal, atau dikenal dengan *gene silencing*. Untuk tujuan *gene silencing* atau penghentian ekspresi gen tersebut, maka penggunaan RNA yang dikenal dengan istilah *RNA therapeutic*, lebih dimungkinkan dibandingkan dengan penggunaan DNA (Adams, 2005). *Gene silencing* adalah suatu proses penghentian ekspresi gen yang pada mulanya diketahui melibatkan mekanisme pertahanan alami pada tanaman untuk melawan virus.

Pada sekelompok virus, misalnya bakteriofag, RNA merupakan bahan genetik. RNA berfungsi sebagai penyimpan informasi genetik, sebagaimana DNA pada organisme hidup lain. Ketika virus ini menyerang sel hidup, RNA akan masuk ke sitoplasma sel korban, yang kemudian ditranslasi oleh sel inang untuk menghasilkan virus-virus baru. Namun

demikian, peran penting RNA terletak pada fungsinya sebagai perantara antara DNA dan protein dalam proses ekspresi genetik karena mekanisme ini berlaku pada semua organisme hidup. RNA diproduksi sebagai salinan kode urutan basa nitrogen DNA dalam proses transkripsi. Kode urutan basa ini tersusun dalam bentuk 'triplet', tiga urutan basa N, yang dikenal dengan nama kodon. Setiap kodon berelasi dengan satu asam amino, monomer yang menyusun protein

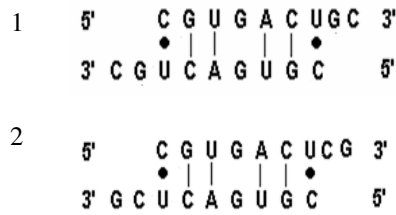
Saat ini para klinisi telah merintis penggunaan RNAi pada pasien-pasien dengan penyakit degeneratif seperti *age-related macular degeneration* (AMD) dan Parkinson's, juga penyakit-penyakit infeksi seperti hepatitis dan HIV. Pengobatan penyakit keganasan pun sudah mulai menerapkan RNAi dalam banyak percobaan, baik secara langsung menarget gen-gen penyebab kanker atau secara tidak langsung menarget gen-gen yang menyebabkan sel kanker resisten terhadap obat-obat kemoterapi

siRNA (*small interfering RNA*), sesuai dengan namanya, adalah RNA pendek yang terdiri atas 21-23 pasangan basa (*base pair*). RNA ini bisa mengakibatkan pemotongan mRNA yang dinamakan interferensi RNA (*RNA interference*) yang biasanya disingkat dengan RNAi. Gangguan ini mengakibatkan mRNA tidak bisa berubah menjadi suatu protein. siRNA dianggap berperan sebagai pemain utama pada RNAi, walaupun miRNA yang menghambat translasi RNA menjadi protein terkadang juga ikut terlibat. Pada RNAi, siRNA menghancurkan mRNA yang mengirim *sequence* DNA kepada ribosom. Mekanisme proses degradasi sampai saat ini belum diketahui dengan pasti, namun para ahli meyakini bahwa Dicer mengirim siRNA menuju kompleks enzim yang disebut RISC, yang menggunakan *sequence* pada siRNA untuk mengidentifikasi dan menghancurkan mRNA dengan sebuah *sequence* tambahan (Couzin, 2002).

Dalam setiap polinukleotida terdapat struktur mononukleotida yang berikatan satu sama lain melalui ikatan 3' 5' fosfodiester. Ikatan ini menghubungkan antara 5' gugus hidroksil deoksi ribosa suatu nukleotida dengan 3' gugus hidroksil dari unit gula nukleotida berikutnya dengan perantara suatu gugus fosfat. Orientasi anti paralel pada kedua utas polinukleotida memungkinkan terciptanya ikatan hidrogen di antara basa-basa nitrogen yang terdapat di sisi sebelah dalam konfigurasi heliks ganda (Azhar, 2008). *Overhang* residu atau *sticky end* adalah akhir dari sebuah molekul DNA untai ganda di mana ada ekstensi beruntai tunggal. Fungsi dari *overhang* residu ini adalah sebagai tempat penyambungan gugus gula dan gugus fosfat.

Kedua basa di *double overhang* 3' memberikan kontribusi kestabilan ke dupleks sebagai pasangan basa atau untaian *overhang* 3'. Nukleotida untai tunggal 3' telah terbukti secara signifikan meningkatkan suatu dupleks RNA (Freier *et. al.*, 1983, 1986; Petersheim dan Turner, 1983; Sugimoto *et. al.*, 1987). Geometri dari rantai RNA memungkinkan untuk untai nukleotida 3' berinteraksi dengan basa yang berdekatan dengan rantai tersebut. Stabilitas untaian basa apabila dua nukleotida dihapuskan dari 3'*end* di dupleks, tergantung pada identitas basa dan pada untaian basa terdekat. Untaian basa hanya meningkatkan stabilitas dupleks apabila untaian nukleotida terdekat adalah purin. Model tetangga terdekat ini dikembangkan untuk memprediksi pengaruh *overhang* 3' terhadap stabilitas pembentukan dupleks (O'Toole *et. al.*, 2005).

Dalam penelitian ini ada dua residu RNA yang akan disimulasikan untuk dilihat pengaruhnya terhadap kestabilan siRNA. Dua residu tersebut adalah :



Gambar 1.1. Pasangan basa RNA yang akan disimulasikan : **a.** Pasangan basa residu RNA dengan basa *overhang* G dan C; **b.** Pasangan basa residu RNA dengan basa *overhang* C dan G.

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah bagaimana pengaruh adanya *overhang* residu RNA terhadap kestabilan siRNA dengan menggunakan simulasi dinamika molekul.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari pengaruh adanya *overhang* residu RNA terhadap kestabilan siRNA dengan menggunakan simulasi dinamika molekul. Hipotesis penelitian dari rumusan masalah adalah kestabilan siRNA dapat dipengaruhi oleh beberapa hal, diantaranya adalah adanya *overhang* residu RNA, hal ini dapat dipelajari dengan menggunakan simulasi dinamika molekul. Dari residu RNA yang akan disimulasikan, diprediksi residu yang memiliki kestabilan yang lebih baik adalah residu yang memiliki basa *overhang* guanin (G) pada untaian pertama (Residu pertama). Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tambahan tentang kestabilan siRNA dan dapat bermanfaat untuk ilmu pengetahuan selanjutnya.