

8-30-2005

Kemampuan Petugas Menggunakan Pedoman Evaluasi Pengelolaan Dan Pembiayaan Obat

Sriana Azis

Puslitbang Farmasi dan Obat Traditional, Badan Litbang Kesehatan, srianaazis@litbang.depkes.go.id

M Hherman

Puslitbang Farmasi dan Obat Traditional, Badan Litbang Kesehatan

Abdul Mun'im

Departemen Farmasi FMIPA-UI, Universitas Indonesia, Depok.

Follow this and additional works at: <https://scholarhub.ui.ac.id/mik>

Recommended Citation

Azis, Sriana; Hherman, M; and Mun'im, Abdul (2005) "Kemampuan Petugas Menggunakan Pedoman Evaluasi Pengelolaan Dan Pembiayaan Obat," *Majalah Ilmu Kefarmasian*: Vol. 2 : No. 2 , Article 2.

DOI: 10.7454/psr.v2i2.3385

Available at: <https://scholarhub.ui.ac.id/mik/vol2/iss2/2>

This Original Article is brought to you for free and open access by the Faculty of Pharmacy at UI Scholars Hub. It has been accepted for inclusion in *Majalah Ilmu Kefarmasian* by an authorized editor of UI Scholars Hub.

RNA THERAPEUTIC, PENDEKATAN BARU DALAM TERAPI GEN

Amarila Malik

Departemen Farmasi FMIPA-UI, Universitas Indonesia, Depok.

ABSTRACT

Some diseases, such as cancer, hereditary and genetic diseases, as well as viral infectious diseases, have been treated unsatisfied by the conventional therapy so far, and even more, by the gene therapy. Together with the pharmaceutical industries, researchers put their best effort to hunt some molecules that can be more favorable for such kind of therapy. After a pivotal study reported in May, 2001, it is certain that Ribonucleic acid (RNA) could effectively silence gene expression in mammalian cell line, so it was then proposed in 2004 the term RNA therapeutics. Antisense RNA therapy which came into the stage earlier seemed to be the one that can answer all the problems in knocking out the unwanted messenger in gene expression. RNA interference (RNAi) concept, which came later in around 2000, began to look like a possible contender. It was reported in some studies that RNAi seems to have some more advantages over both stronger gene-silencing effects and greater ease of use. However, the main obstacle of all kind of gene therapy is, undoubtedly, on the delivery of this molecule to enter the target cell, and mostly, to where it is needed most inside the body. Some studies on genetic material delivery system have been reported, and their progress has been discussed.

Keywords: *RNA therapeutics, antisense RNA, siRNA, terapi gen, gene silencing.*

Pengobatan dengan terapi gen telah berkembang dengan pesat sejak *clinical trial* terapi ini pertama kali diperkenalkan pada tahun 1990 (Roberts, 2004). Terapi gen adalah teknik untuk mengoreksi gen-gen yang 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 lain adalah melenyapkan gen abnormal

dengan gen normal dengan melakukan rekombinasi homolog. Pendekatan ketiga adalah 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 ada-

Corresponding author : E-mail : amarila.malik@farmasi.ui.ac.id.

lah lebih ke arah gagasan mencegah diekspresikannya gen-gen yang jelek atau abnormal, atau dikenal dengan *gene silencing*. Untuk tujuan *gene silencing* atau membungkam ekspresi gen tersebut, maka penggunaan RNA jika dibandingkan dengan DNA lebih dimungkinkan, sehingga dikenal istilah *RNA therapeutic* (Adams, 2005). Suatu studi yang menggemparkan dilaporkan di majalah Nature bulan Mei 2001 yang menunjukkan bahwa RNA dapat membungkam ekspresi gen dengan efektif (Elbashir, 2001). Gagasan terapi gen dengan mereparasi mRNA (*messenger RNA*) daripada mengganti gen yang cacat berarti menggunakan mekanisme regulasi sel itu sendiri, sehingga efek samping yang merugikan lebih dapat ditekan (Penman, 2002). Setelah adanya laporan-laporan penelitian tersebut, maka dimulailah *booming* dalam bisnis perusahaan-perusahaan yang berkaitan dengan riset RNA, maupun perusahaan-perusahaan farmasi yang berharap RNA therapeutic ini segera dapat diluncurkan sebagai sediaan obat (Pallarito, 2004). Namun, para pakar memperkirakan masih sekitar tujuh sampai limabelas tahun lagi baru terealisasi (Pray, 2004; Wang, 2004)

Fenomena terapeutik RNA

Gen adalah suatu sekuens basa spesifik yang menyandikan instruksi mensintesis suatu protein. Walaupun gen mendapatkan perhatian lebih banyak untuk diteliti dan dibahas,

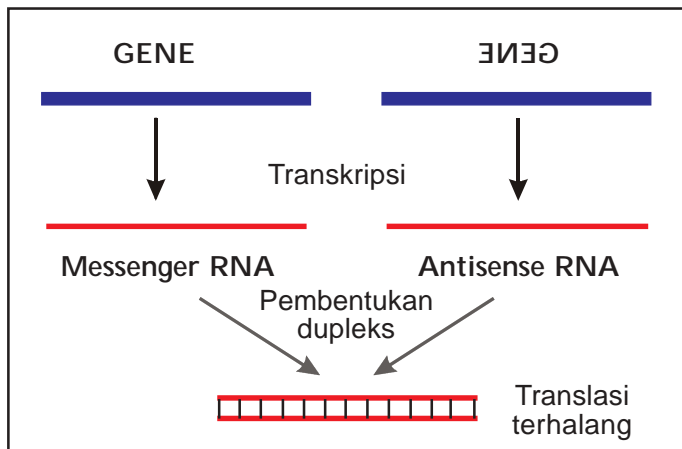
namun sesungguhnya protein lah yang mempunyai peran utama dalam melaksanakan fungsi-fungsi kehidupan dan menyusun mayoritas struktur seluler. Jika suatu gen diganggu sehingga menyebabkan protein yang disandikannya menjadi tidak mampu untuk melaksanakan fungsi normalnya, maka akan mengakibatkan suatu cacat genetis.

RNA adalah suatu asam ribonukleat yang terdapat dalam alur informasi genetik organisme yang berupa dogma sentral dari DNA → RNA → Protein, yaitu DNA ditranskripsi menjadi RNA, dan selanjutnya RNA ditranslasi menjadi protein (Dale, 1994; Thenawijaya, 1994). Di dalam sel terdapat tiga jenis RNA yaitu mRNA, tRNA dan rRNA. Diantara ketiga jenis RNA, mRNA dapat dimanfaatkan untuk tujuan tersebut di atas. RNA dalam keadaan normal merupakan untai tunggal, namun pada kenyataannya untai tunggal ini dapat membentuk dupleks dengan membentuk ikatan hidrogen, sebagaimana DNA, jika terdapat untai yang komplemen dalam urutan basa nukleotidanya. Bentuk dupleks RNA akan mengakibatkan terhalangnya proses translasi sehingga sintesis protein terganggu, atau *posttranscriptional gene silencing* (PTGS), atau *gene silencing* (Agrawal, et al., 2003; Provost et al, 2002). *Gene silencing* adalah suatu proses membungkam ekspresi gen yang pada mulanya diketahui melibatkan mekanisme pertahanan alami pada tanaman untuk melawan virus.

Alur informasi genetik di dalam sel dari DNA ke RNA dan ke protein disebut sebagai proses ekspresi gen (Dale, 1989). Penghambatan proses ekspresi gen dapat dilakukan pada beberapa tahap, diantaranya adalah tahap translasi, yaitu dengan mengganggu proses translasi tersebut pada molekul mRNA. Molekul RNA yang akan ditranslasi mempunyai sekuense di bagian hulu sebagai tempat pengenalan bagi ribosom dalam proses sintesis protein. Ribosom, sebagai mesin pensintesis polipeptida yang kemudian dimodifikasi lebih lanjut menjadi protein, memerlukan situs pengenalan yang terdapat pada mRNA untuk dapat melaksanakan pekerjaannya. Manipulasi pada tahap translasi mRNA yang bertujuan untuk mengatasi suatu penyakit genetik saat ini dikenal dengan istilah *antisense* RNA, *small interfering* RNA (si RNA), atau disebut pula *RNA interference* (RNAi) (Lieberman, 2003; Lucentini, 2004; Pray, 2004; Wang, 2004). Potongan pendek dari duplex RNA atau DNA untai ganda (*short interfering* RNA atau siRNA) dilaporkan mengakibatkan degradasi RNA-RNA lain di dalam sel yang memiliki sekuense berkese-suaian. Yang lebih terkini lagi adalah

ditemukannya lebih kurang empat tahun yang lalu suatu *micro* RNA (miRNA) yang berperan membungkam ekspresi gen (Johnston, 2004; Pfeffer, et al, 2002).

Banyak teori terapeutic RNA yang sangat ideal dan menjanjikan terapi yang ampuh. Namun, bagaimana cara memasukkan molekul RNA ini ke dalam tempat kerjanya, yaitu nukleus? Untuk menghantar molekul RNA diperlukan suatu wahana yang sesuai untuk membawanya ke target sel tertentu. Wahana paling banyak digunakan dalam terapi gen adalah virus yang telah dimodifikasi secara genetis sehingga mampu membawa DNA manusia normal. Disamping itu, teknologi penghantaran obat dengan bentuk liposome yang kini juga telah banyak mengalami modifikasi, serta teknologi menggunakan pengenalan reseptor, telah mendukung perkembangan terapeutic RNA (Ananthaswamy, 2003).



Gambar 1. Mekanisme kerja antisense RNA dalam menghalangi ekspresi gen.

Terapi antisense RNA

Prinsip terapi antisense RNA merupakan pemikiran yang brilian yang sebenarnya mengadopsi kondisi alamiah seperti di dalam mekanisme pertahanan tanaman terhadap virus, dan suatu mekanisme yang sama pada nematoda *Caenorhabditis elegans* (Pfeffer, 2004; Lee, 1993). Ketika itu ditemukan suatu RNA untai ganda (*double strand* RNA = dsRNA) yang menunjukkan kemampuan menghambat ekspresi gen (Lieberman, 2003). Prinsip ini lebih cocok untuk diimplementasikan dalam terapi gen untuk mengatasi penyakit tertentu dimana terjadi ekspresi gen-gen abnormal yang menimbulkan penyakit, seperti misalnya pada penyakit kanker.

Mekanisme kerja antisense RNA adalah sebagai berikut (Dale, 1994; Glick & Pasternak, 1994). Untai RNA yang ditranslasi disebut sebagai untai *sense*. Sementara itu, untai yang mempunyai sekuens basa nukleotida komplemen dengan untai *sense* disebut *antisense*. Jika untai *sense* berikatan dengan untai *antisense* membentuk dupleks, maka terjadi pemblokiran proses translasi yang mengakibatkan terjadinya penghambatan ekspresi gen (Penman, 2002). Hal ini dapat terjadi disebabkan ribosom tidak memperoleh akses ke pada nukleotida pada untai mRNA, atau yang dapat pula terjadi adalah disebabkan bentuk duplex RNA sangat mudah terdegradasi oleh enzim pendegradasi ribonukleat, *ribonuclease*, di dalam sel. Peng-

gunaan metode DNA rekombinan daripada RNA rekombinan, lebih memungkinkan untuk menghantarkan gen sintesis yang menyandikan molekul RNA antisense ke dalam suatu organisme dengan relatif lebih stabil.

Suatu antisense mRNA (aRNA) jika dimasukkan ke dalam sel suatu organisme, maka aRNA akan berikatan dengan mRNA yang ada di dalam sel tersebut sehingga membentuk suatu dupleks (Gambar 1). Terbentuknya dupleks RNA ini akan menyebabkan terjadinya penghambatan ekspresi gen pada tahap translasi. Untuk berlangsungnya proses translasi, selain ribosom sebagai mesin pensintesis protein, maka diperlukan pula mRNA untai tunggal, juga diperlukan tRNA yang membawa asam amino – asam amino, serta protein-protein kecil khusus yang terkandung di dalam ribosom (Thenawijaya, 1994).

Sebenarnya sel mengandung gen-gen yang secara alami ditranslasikan menjadi RNA antisense yang mempunyai kemampuan menghalangi translasi gen-gen lainnya di dalam sel (Agrawal, et al., 2003). Baru-baru ini beberapa kasus ditemukan, dan tampaknya hal ini dapat mewakili metode regulasi ekspresi gen yang lain. Pada tikus dan manusia, gen-gen untuk reseptor *insulin-like growth factor 2 receptor* (Igf2r) yang diwariskan dari bapak mensintesis suatu RNA antisense yang tampaknya bekerja menghalangi sintesis mRNA Igf2r (Kawasaki & Taira,

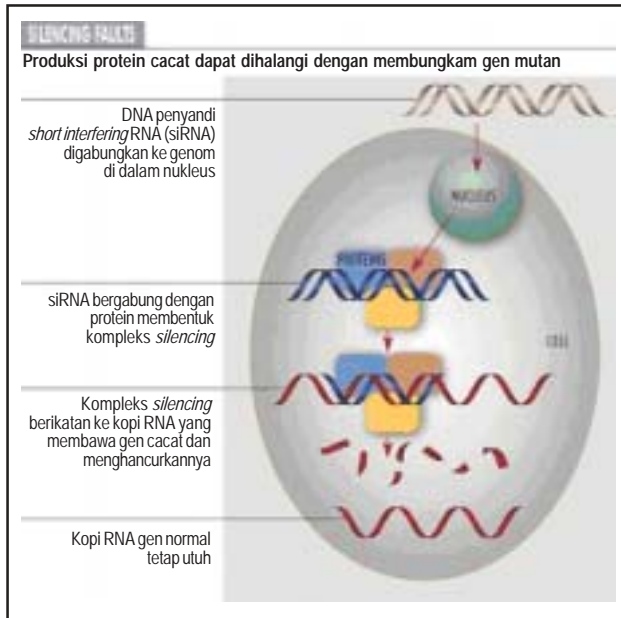
2004). Perbedaan dalam ekspresi suatu gen tergantung pada apakah gen tersebut diwariskan atau tidak dari ibu atau dari bapak yang disebut sebagai *genomic* atau *parental imprinting*.

Dalam praktiknya, terapi gen dengan prinsip antisense tidaklah semudah teorinya. Dimulai dari proses pemasukan molekul RNA antisense ke dalam sistem biologis sel organisme. Molekul ini harus berhadapan dengan kondisi adanya enzim nuklease dimana-mana, baik di dalam sel maupun di dalam sirkulasi darah (Agrawal, et al., 2003). Untuk menghindari degradasi ini, asam nukleat (dalam hal ini RNA) dimodifikasi secara kimia dengan memodifikasi gugus di dalam struktur asam nukleat. Setelah berhasil mengatasi enzim nuklease, molekul asam nukleat harus mampu menembus sel membran yang merupakan lapisan lemak ganda. Padahal, asam nukleat terbangun atas gugus fosfat sebagai tulang punggungnya yang menghasilkan muatan negatif bersifat hidrofilik. Di dalam sel, asam nukleat harus dialokasikan dengan benar dan tepat ke tempat kerjanya yaitu di nukleus. Namun, sebelum dapat masuk ke dalam nukleus, di dalam sitoplasma sel, asam nukleat terpetik ini harus berhadapan dengan berbagai penghalang. Setelah melalui rintangan-rintangan dan masuk ke dalam nukleus dengan menembus pori-pori membran nukleus, belum dapat begitu saja melaksanakan tugasnya. Seringkali DNA dan

RNA nukleus merupakan bentuk yang berlipat secara kompak dan diselubungi oleh protein nukleus. Bahkan, dalam hal RNA, struktur terlipatnya belum begitu banyak dipahami, dan masih sedikit informasi mengenai hal ini, sehingga pada kenyataannya terapi antisense masih merupakan pekerjaan *trial and error* pada berbagai lokasi dari suatu gen yang dipilih berdasarkan apakah itu pada lokasi awal, pada bagian tengah atau pada bagian lain yang esensial bagi proses ekspresi gen tersebut.

Terapi siRNA

RNA *interference* (RNAi) merupakan strategi pertahanan kuno yang dimiliki oleh tumbuhan dan invertebrata tingkat rendah untuk melawan infeksi virus dan kerusakan genomik akibat menyisipnya materi genetik asing (Lieberman, et al., 2003; Downward, 2004). RNAi dapat menghambat ekspresi gen pada sekuens yang spesifik dengan jalan memutus mRNA yang mengandung sekuens pendek yang homolog (kurang lebih 19 basa nukleotida) (Elbashir, et al. 2001; Kawasaki & Taira, 2004; Chen, et al., 2004). Para peneliti yang menekuni molekul RNA telah memberikan hasil menggembarakan bahwa RNAi dapat berlaku juga pada sel mamalia. Penelitian-penelitian *in vitro* selanjutnya diteruskan dengan penelitian *in vivo* untuk mengetahui bagaimana mekanisme kerja RNAi tersebut pada sel-sel mamalia. Penelitian terbaru menun-



Gambar 2. Mekanisme kerja *short interfering* RNA (siRNA) dalam menghalangi ekspresi gen. (Dikopi dari *NewScientist.com* 10.32 13 March 2003).

jukkan bahwa RNAi dapat digunakan untuk melindungi mencit dari virus hepatitis (Xia, et al., 2004). Penelitian tentang upaya RNAi untuk mengatasi penyakit-penyakit pada manusia sampai saat ini masih terus dikembangkan.

Mekanisme kerja RNAi adalah melibatkan suatu intermediet aktif yang disebut *small interfering* RNA (siRNA). Molekul siRNA berukuran kecil yaitu hanya 21-25 nukleotida dengan dua nukleotida pada kedua ujung tidak berpasangan. Molekul ini dihasilkan dari hasil kerja suatu enzim Dicer, yaitu suatu ribonuclease dengan energi ATP, yang mengenali dan memotong mRNA yang membentuk dupleks untai ganda menjadi

potongan kecil fragmen untai ganda mRNA. Selain itu, siRNA juga dihasilkan dari suatu *short hairpin* RNA, yaitu untai dupleks RNA yang terbentuk dari suatu untai tunggal yang membentuk *hairpin* (seperti jepit rambut, dengan lengkungan melipat pada salah satu ujungnya) yang juga dipotong oleh Dicer. Oleh enzim helicase, siRNA akan dibuka ikatan hidrogennya sehingga untai antisense dari siRNA yang terbebas dapat bergabung dengan suatu kompleks protein *RNA-induced silencing complex* (RISC)

(Gambar 2). Kompleks tersebut akan mengaktifkan RISC yang semula inaktif, dan kemudian protein ini akan melaksanakan tugasnya bekerja memutus mRNA pada bagian yang mengandung sekuens homolog dengan siRNA (Agrawal, et al., 2003; Lucentini, 2004; Pray, 2004; Provost, et al., 2002; Tang, 2005).

Berbagai jenis gen dapat dijadikan sebagai target potensial untuk dibungkam ekspresinya oleh siRNA. Hal ini membuka harapan yang menggembirakan tentang penggunaan siRNA dalam dunia pengobatan. Potensi dan spesifisitas siRNA yang besar untuk membungkam ekspresi gen, yaitu 1000 kali lebih besar dibandingkan oligonukleotida antisense,

pula menjadi pendukung harapan tersebut. Dibandingkan dengan terapi antibodi, terapi siRNA pembuatannya relatif lebih mudah dan sistem penghantarannya relatif lebih murah pula. Studi *in vitro* dari RNAi saat ini sedang difokuskan terutama pada terapi infeksi virus dan kanker, dan tampaknya penggunaan klinik awal bagi terapi RNAi nantinya adalah lebih utama kepada kedua penyakit tersebut (Adams, 2005). Beberapa penelitian *in vitro* aktivitas RNAi yang telah dilaporkan antara lain adalah menghambat pembentukan sel kanker dengan jalan menghambat ekspresi gen Ras yang termutasi yang banyak ditemukan pada berbagai tipe kanker, gen human papilloma virus (HPV) E6 dan E7, faktor transkripsi, serta ekspresi berlebihan dari proto-onkogen seperti Bcl-2 (Lucentini, 2004; Yague, et al., 2004), pada *Leukemia-associated tyrosine kinase fusion* (TEL-PDGFB) (Chen, et al., 2004), dan *erb B2* (Kawasaki & Tarai, 2004).

Yang menjadikan RNAi lebih menarik untuk terus diteliti kemampuan aktivitasnya adalah tingkat spesifisitasnya yang cukup tinggi yang tidak dimiliki oleh inhibitor lain. Disamping itu, RNAi mampu bekerja pada berbagai gen pada waktu bersamaan (Yague, et al., 2004; Holmes 2003). Namun, kesuksesan terapi RNAi, sebagaimana terapi berbasis materi genetik lain, ditentukan oleh stabilitas sediaan serta teknik penghantaran yang digunakan.

Kendala dalam Penggunaan Terapi RNA secara klinik

Prospek dari penggunaan molekul RNA dalam aplikasi pengobatan diharapkan dapat segera direalisasikan. Namun demikian, para ahli menyadari masih adanya kendala-kendala yang harus diantisipasi agar molekul RNA tersebut dapat digunakan dengan hasil yang optimal. Faktor-faktor yang menjadi penyulit, yaitu karena antisense RNA maupun siRNA harus dimasukkan ke dalam sistem biologis sel hidup, bukan pada media sel bebas (Agrawal, et al, 2003); sehingga

1. Molekul antisense RNA harus menghindari pemecahan oleh enzim nuklease yang akan memotong asam nukleat menjadi basanya. Enzim ini ada di mana-mana, baik di dalam sirkulasi darah maupun di dalam sel. Untuk membuat asam nukleat lebih resisten terhadap enzim ini telah dibuat beberapa strategi, salah satunya adalah dengan cara mengganti oksigen pada jembatan basa dengan sulfur, sehingga menghasilkan jembatan fosforotioat yang lebih resisten.
2. Terapi harus masuk ke dalam sel. Kendala ini merupakan masalah klasik dalam penggunaan materi genetik dalam pengobatan. Para peneliti telah berusaha untuk merekayasa sistem penghantaran untuk kultur sel. Sebagaimana sistem penghantaran materi genetik yang lain, secara teori penghantaran siRNA dapat dilakukan dengan 2

cara, yaitu (1) introduksi langsung siRNA sintetik ; (2) introduksi suatu plasmid atau virus yang menyandi sekuens gen yang akan memproduksi siRNA yang sesuai. Cara kedua dianggap sebagai cara yang lebih baik karena memberikan efek yang lebih lama.

Asam nukleat bebas mempunyai muatan negatif yang kuat yang berasal dari gugus fosfat dari tulang punggung struktur asam nukleat. Hal ini membuat molekul tersebut mudah larut dalam air, tetapi tidak dapat larut dalam lemak ganda struktur membran sel. Dengan menggabungkan asam nukleat dengan suatu pembawa yang berfungsi meningkatkan transpor ke dalam sel; atau juga dikemas dalam suatu kapsul lemak, misalnya liposom, yang telah digunakan secara luas untuk transport amfoterisin dan beberapa obat kanker, diharapkan dapat memenuhi keperluan penghantarannya (Ananthaswamy, 2003). Dilaporkan pula suatu sistem penghantar yang sangat menjanjikan, yaitu berupa ligan peptida dari suatu reseptor kompleks enzim serpin yang dibuat membentuk kompleks dengan materi genetik ini, yang mana dapat menghantar ke berbagai sel target (Roberts, 2004).

Walaupun sampai saat ini belum ditemukan sistem penghantaran yang sesuai, para ahli tetap optimis. Sebagian dari mereka yakin, bahwa penghantaran antisense RNA dan siRNA mungkin tidak memerlukan vektor berupa virus, ataupun sistem

penghantaran yang eksotik seperti pada terapi gen. Mereka berpendapat bahwa siRNA dapat secara langsung diintroduksikan ke jaringan seperti telah disebutkan di atas. Namun demikian, hal inipun bukan berarti tanpa masalah, karena tubuh manusia akan dengan cepat mendegradasi siRNA yang masuk. Untuk mengatasi hal tersebut perlu dilakukan upaya untuk meningkatkan stabilitas siRNA, salah satunya dengan modifikasi kimia (Downward, 2004; Lucentini, 2004).

3. Di dalam sel, antisense dan siRNA harus ditransportasikan dengan benar. Mula-mula RNA ditangkap dalam endosom, kemudian bertemu dengan lisosom untuk degradasi intraseluler. Hanya sebagian kecil yang bisa lolos melewati pemecahan endosomal. Setelah bebas di dalam sitoplasma, molekul ini masuk ke dalam nukleus, kemudian berdifusi lewat pori-pori membran, dan di dalam nukleus ini akan bertemu dengan target. Jika seluruh gen atau *messenger* di dalam nukleus dalam keadaan tidak terlindungi atau berbentuk linier, pelaksanaan terapi akan lebih mudah. Pada kenyataannya, baik DNA maupun RNA terlipat secara rapi dan juga diselubungi oleh protein biasa. Pada RNA masalah menjadi sangat berat, karena pengetahuan tentang struktur RNA yang terlipat di dalam sel hidup masih sangat sedikit. Untuk mencapai sasaran terapi, masih digunakan cara *trial and error*: satu seri percobaan

dengan RNA dimulai pada target lokasi awal untuk transkripsi atau translasi, dengan harapan bahwa lokasi tersebut relatif terbuka (Agrawal, et al., 2003).

4. Masalah selanjutnya adalah bagaimana dapat terjadi interaksi antara terapi dan target, sehingga dapat menghasilkan hibrida yang stabil. Antara basa guanin (G) dengan sitosin (C) terdapat tiga ikatan hidrogen, sehingga merupakan ikatan yang lebih stabil dibandingkan dengan dua ikatan hidrogen antara adenin (A) dengan timin (T). Panjang minimum untuk rancangan suatu untai RNA ditentukan oleh besarnya genom. Di dalam genom manusia, bagi molekul RNA yang terdiri dari basa berjumlah kurang dari 12-15, tampaknya akan mengalami proses penggandaan, dan mungkin akan merusak gen atau messenger yang tidak sesuai. Oleh karena itu, agar terapi stabil dan dikenali, maka panjang basa nukleotidanya adalah antara 13-20 basa.

5. Setelah terbentuk hibrida, tugas selanjutnya adalah merusak target. Antisense yang dirancang untuk mRNA akan berhasil jika didukung oleh enzim RNase H, yaitu enzim yang bekerja memotong messenger. Jika antisense adalah untai tunggal DNA, maka akan langsung berpartisipasi dalam destruksi *messenger* selanjutnya. Destruksi *messenger* ini memang diinginkan. Akan tetapi hibrid ini lambat laun akan menim-

bulkan instruksi genetik yang dapat menerjemahkannya ke dalam protein yang berhubungan dengan penyakit, dan ini dilakukan oleh ribosom yang mempunyai aktivitas instrinsik untuk menguraikan dan memfasilitasi pembacaan pesan genetik tersebut. Untuk menghindari hal ini, harus dibuat antisense yang ikatannya kuat. Dupleks DNA / RNA lebih lemah daripada dupleks RNA / DNA, maka sedang pula dikembangkan usaha untuk membuat DNA yang mirip RNA (Agrawal, et al., 2003).

6. Dari sisi efikasi, RNAi telah diketahui menunjukkan spesifisitas yang cukup tinggi. Akan tetapi, sebagaimana molekul-molekul kecil yang lain, kemungkinan terjadinya masalah dalam aplikasi klinik tetaplah ada. Efek samping yang mungkin saja terjadi berupa terhambatnya ekspresi gen-gen lain yang bukan target, baik akibat degradasi mRNA, penghambatan translasi, ataupun melalui induksi penekanan gen secara global dengan jalan mengaktifkan respons interferon, terlebih jika siRNA diekspresikan oleh vektor virus.

Penutup

Konsep terapi antisense RNA dan RNAi atau *RNA therapeutic* ini yang bekerja membungkam ekspresi gen pada tahap pasca translasi (*post-transcriptional gene-silencing*) tampak sebagai suatu terapi yang sangat ideal untuk mengatasi berbagai

penyakit. Secara teori mekanismenya sederhana, namun pada kenyataannya banyak hal yang masih menjadi kendala dan menjadi pekerjaan penting bagi para peneliti, antara lain kestabilan. Perlu kerja sama para peneliti dengan perusahaan-perusahaan farmasi, sehingga terapi ini bisa dipercepat untuk dapat dimanfaatkan bagi kesehatan seluruh manusia. RNAi memberikan harapan yang lebih menggembirakan dibandingkan antisense RNA dalam dunia pengobatan, salah satunya adalah dalam pengobatan kanker. Spesifisitas dan efektivitas penghambatan ekspresi gen melalui mekanisme RNAi menjanjikan efek terapi dengan indeks terapeutik yang cukup lebar. Kendala besar yang sekarang masih dihadapi adalah bagaimana siRNA sebagai agens RNAi dapat dihantarkan secara stabil menuju sel yang spesifik. Perkembangan yang cukup menggembirakan dari hasil penelitian ini yang telah dilakukan secara *in vivo* pada hewan coba memungkinkan *pilot study* pada manusia dapat dilakukan dalam waktu yang tidak lama lagi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Adams, A. 2005. RNA Therapeutic enter Clinical Trials, The Scientist, January 17
2. Agrawal, N., et al. 2003. RNA Interference: Biology, Mechanism, and Applications. Microbiology and Molecular Biology Reviews 67(4): 657-685.
3. Ananthaswamy, A. 2003. Undercover Genes Slip into the Brain. NewScientist.com 14:48 20 March 2003.
4. Chen, J., et al. 2004. Stable Expression of Small Interfering RNA Sensitizes TEL-PDGFbR to inhibition with imatinib or rapamycin. Journal of Clinical Investigation 113: 1784-1791.
5. Dale, J.W. 1994. Molecular Genetics of Bacteria. 2nd Edition. John Wiley & Sons, Chichester. Hal: 1-25; 75-105.
6. Downward, J. 2004. RNA interference. British Medical Journal 328:1245-1248.
7. Elbashir, S.M. et al. 2001. Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells. Nature 411: 494-498.
8. Glick, B. R. and Pasternak, J.J. 1994. Molecular Biotechnology, Principles and Applications of Recombinant DNA. ASM Press. Hal: 403-418.
9. Holmes, B. 2003. Gene therapy may switch off Huntington's. NewScientist.com 10.35, 13 March 2003.
10. Johnston, N. 2004. Seeds of a iero Revolution. The Scientist, 18(17): 16-17.
11. Kawasaki, H. and Taira, K. 2004. Induction of DNA Methylation and Gene Silencing by short interfering RNAs in human cells. E-pub of print Nature, 1038/nature2889, Aug 15.

12. Lee, R.C., et al. 1993. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementary to *lin-14*. *Cell* 116: 589-592.
13. Lieberman, J., et al. 2003. Interfering with Disease: Opportunities and roadblocks to harnessing RNA interferences. *TRENDS in Molecular Medicine* 9(9).
14. Lucentini, J. 2004. Silencing Cancer. *The Scientist* 18(17): 14-15
15. Pallarito, K. 2004. Fueling the Fires of RNA Interference. *The Scientist*, 18(17): 18-19.
16. Penman, D. 2002. Subtle Gene Therapy Tackles Blood Disorder. *NewScientist.com* 16:26 11 October 2002.
17. Pfeffer, S. et al. 2004. Identification of Virus-encoded micro RNAs. *Science* 304: 734-736.
18. Pray, L.A. 2004. Viroids, Viruses, and RNA Silencing. *The Scientist* 18(16):23.
19. Provost, P., et al. 2002. Ribonuclease Activity and RNA binding of recombinant human Dicer. *The EMBO Journal* 21(21): 5864-5874.
20. Roberts, J.P. 2004. Gene therapy's Fall and Rise (Again). *The Scientist* 18(18): 22-24.
21. Tang, G. 2005. siRNA and miRNA: an insight into RISCs, *TRENDS in Molecular Medicine* 30(2).
22. Thenawijaya, M. 1994. Lehninger, Dasar-dasar Biokimia. Jilid 3. Penerbit Erlangga. Hal: 123-233.
23. Wang, M.B. et al., 2004. On the role of RNA silencing in the pathogenicity and evolution of viroids and viral satellite. *Proc Natl Acad Sci* 101: 3275-3280.
24. Xia, H. et al. 2004. RNAi suppresses polyglutamine-induced neurodegeneration in a model of spinocerebellar ataxia. *Nature Methods* 10: 816-820.
25. Yague, E, et al. 2004. Complete reversal of multidrug resistance by stable expression of small interfering RNAs targeting MDR1E. *Gene Therapy* 11:1170-1174.