

Sub Kategori : 1A

Judul :

Bioinformatika sebagai Ilmu Bantu pada Eksperimen Biologi Molekuler

Arli Aditya Parikesit
PhD Candidate
Chair of Bioinformatics
Room 320.6
Department of Computer Science
University of Leipzig
Härtelstr. 16-18
D-04107 Leipzig
Germany
Telp: +49 341 97 16693
E-mail: johnkecops@yahoo.co.uk

Abstract: Molecular Biology is an emerging science, which has an active role in supplementing the field of medicine, agriculture, and environment. The data gathered from the wet experiment was already submitted to on line database. Bioinformatics is a new science, based upon the combination between biology and computer science. It has successfully managing those on line database as a source of genome and proteome data. The available genome and proteome database are GenBank from United States, DDBJ from Japan, and EBI from European Union. Molecular biology experiment needs biochemical reagent, and they are very expensive. A certain breakthrough is necessary, to reduce the cost of wet laboratory experiment. Bioinformatics could help to reduce the cost. The task of Bioinformatician is to convert those online data, into a useful biomedics information. It has been applied for drug, vaccine, and PCR primer synthesis. Pharmaceutical industry has utilized bioinformatics tools extensively. Bioinformatics could help to reduce the wet experiment cost. However, bioinformatics could not replace wet experiment totally.

Kata kunci: *Bioinformatics, Drugs, PCR, Vaccine, Pharmaceutical*

1. PENDAHULUAN

Sewaktu Watson dan Crick menemukan struktur DNA pada tahun 1953, itu menandai babak baru dalam perkembangan ilmu hayati. Ilmu Biologi molekuler berkembang pesat, sejak struktur DNA ditemukan. Biologi molekuler telah lama menjadi salah satu penyokong utama dalam berbagai sektor. Kedokteran, pertanian, dan lingkungan hidup merupakan sektor-sektor utama yang banyak terbantu oleh biologi molekuler. Berkat bantuan biologi molekuler, maka berbagai penyakit manusia, hewan, dan tumbuhan dapat dideteksi oleh alat diagnostik termodern, seperti PCR dan agen terapeutik dan prevensinya juga dapat dikembangkan. Biologi molekuler juga berperan dalam lingkungan hidup, sebab sudah

mulai dikembangkan metode penapisan bakteri, untuk menyimpan informasi genetik mereka (Watson *et al*, 2008).

Sejalan dengan perkembangan biologi molekuler yang pesat tersebut, maka data hasil eksperimen laboratorium/basah semakin lama menjadi berlimpah. Diperlukan suatu ilmu baru, untuk mengolah data tersebut menjadi informasi yang berguna. Ilmu Bioinformatika lahir dari kebutuhan tersebut. Bioinformatika adalah ilmu gabungan antara biologi dan teknik informatika/ilmu komputer. Tugas bioinformatika adalah untuk memecahkan permasalahan biologi molekuler secara komputasi. Permasalahan tersebut dapat berupa hal-hal mendasar, seperti memecahkan mekanisme enzim, metabolisme protein, atau identifikasi mikroba. Namun, permasalahan biomedis, seperti desain obat, primer, dan vaksin, juga dapat dipecahkan (Claverie *et al*, 2006).

Bioinformatika berfungsi sebagai repositori informasi genetik, DNA, RNA, dan protein dari eksperimen lab basah. Pada umumnya, informasi tersebut disimpan dalam database *open source*, seperti MySQL. Repositori Database yang digunakan adalah Genbank dari Amerika Serikat, situs web di <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>, *European Bioinformatics Institute* (EBI), situs web di <http://www.ebi.ac.uk/>. *Database Databank of Japan* (DDBJ), situs web di <http://www.ddbj.nig.ac.jp/>. Ketiga Database tersebut saling menukar data secara ekstensif, dalam suatu kolaborasi internasional (Claverie *et al*, 2006).

Kegunaan Bioinformatika, yang merupakan eksperimen komputasi, memiliki dua landasan teoritis yang kuat. Pertama, sebagai induksi dari hukum umum dari sintesis berbagai observasi eksperimen. Kedua, sebagai aplikasi dari hukum-hukum tersebut tanpa menggunakan eksperimen basah, kecuali jika hal tersebut memang tidak dimungkinkan. Kemampuan *tools* bioinformatika telah semakin mumpuni, dan hal ini telah berhasil menghilangkan eksperimen basah yang tidak perlu (Ouzounis, 2002).

2. PERMASALAHAN

Sejalan dengan pesatnya perkembangan biologi molekuler, maka Indonesia mengalami masalah untuk mengikuti hal tersebut. Biaya reagen biokimia sangat mahal, dalam banyak kasus hanya bisa digunakan sekali dalam satu eksperimen. Penggunaan kurs dollar atau euro untuk membeli reagen biokimia, sangat memberatkan peneliti untuk bereksperimen. Dalam penyusunan proposal, harga reagen di awal penyusunan proposal, dengan harga di saat akhir penyerahan laporan penelitian bisa berbeda jauh. Ini semua terjadi karena fluktuasi kurs, dimana rupiah berada dalam posisi lemah. Disamping itu, sebagian industri reagen biokimia berada di luar negeri. Dalam hal itu, sering harus inden untuk beli.

Pengembangan obat atau agen terapeutik baru, diperlukan langkah eksperimen yang panjang dan mahal. Tahap yang paling kritis adalah sewaktu memasuki uji klinis. Banyak calon obat (*lead compound*) yang gagal di tahap ini. Padahal untuk memasuki uji pra klinis (pada hewan percobaan) dan klinis (pada manusia), diperlukan anggaran yang besar, dan waktu yang panjang.

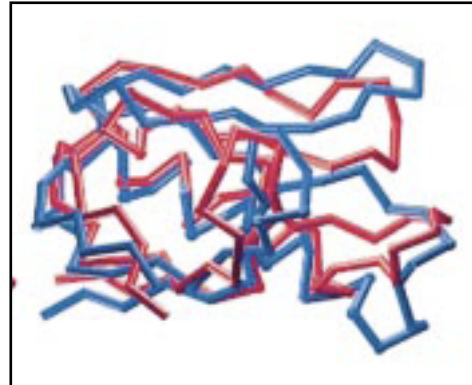
3. PEMBAHASAN

3.1 Desain Obat secara In Silico

Desain Obat secara In Silico berhubungan erat dengan eksperimen basah, di bidang kristalografi sinar X. Ide mengenai penggunaan kristalografi sinar X dalam penemuan obat telah hadir sejak 30 tahun yang lalu, sewaktu struktur tiga dimensi protein yang pertama telah berhasil ditemukan. Ide desain obat tersebut adalah sintesis ligan hemoglobin untuk menurunkan *sickling*, modifikasi kimiawi terhadap insulin untuk meningkatkan waktu paruh dalam sirkulasi, dan desain inhibitor serin protease. Dalam waktu satu dekade, terjadi perubahan radikal dalam desain obat, yaitu digunakannya pengetahuan terhadap struktur 3D dari protein target pada proses desain. Walaupun struktur target obat tidak secara langsung berasal dari kristalografi sinar X, model komparatif berbasis pada homologi ternyata berguna dalam mendefinisikan target protein. Struktur kristal dari target obat kunci telah tersedia: obat AIDS seperti Agenerase dan Viracept telah dikembangkan dengan menggunakan struktur kristal protease HIV. Lebih dari 40 obat yang berasal dari desain berbasis struktur telah memasuki uji klinis, dan tujuh dari mereka telah mendapat surat keputusan, dan telah dipasarkan sebagai obat sejak tahun 2003. Peran kunci dari biologi struktural dan bioinformatika pada optimisasi *lead* selalu menjadi penting (Blundell *et al*, 2006).

Struktur protein adalah sumber utama dari informasi mengenai famili dan superfamili. Mereka adalah protein yang berevolusi secara divergen, yang perlu diidentifikasi lebih lanjut apakah memiliki struktur dan fungsi yang serupa. Dalam konteks ini, maka dilakukan riset identifikasi homologi protein. Salah satu contoh klasik adalah identifikasi dari proteinase HIV sebagai kerabat jauh dari superfamili pepsin/renin dan modeling dari struktur 3D dan desain inhibitor. Secara bioinformatika, metode yang dilakukan adalah identifikasi pendahuluan kekerabatan, penyejajaran sekuens, dan modeling struktur 3D. Dalam melakukan hal tersebut, ada beberapa *tools* yang terlibat. Mereka adalah FUGUE, GenTHREADER, COMPOSER, 3D-JIGSAW, atau MODELER. FUGUE bertugas melakukan identifikasi homolog yang kekerabatannya jauh, namun merupakan anggota dari superfamili. GenTHREADER menggunakan metode perbandingan sekuens untuk mengembangkan penyejajaran sekuens-struktur, dan kemudian mengevaluasi penyejajaran menggunakan potensial *threading*. Jika homolog dari struktur yang sudah diketahui telah diidentifikasi, mereka dapat dimodel dengan menggunakan berbagai *software*, misalnya COMPOSER, 3D JIGSAW dan MODELLER (Blundell *et al*, 2006).

Modeling Homologi struktur protein mengalami keterbatasan pada kesalahan di penyejajaran sekuens model dengan protein dengan struktur 3D yang sudah diketahui. Metode otomatisasi untuk mengoptimalkan penyejajaran dan model telah dikembangkan dengan aplikasi MODELLER. Hal ini dicapai dengan menggunakan protokol algoritma genetik, yang memulai dengan satu set penyejajaran awal, dan kemudian melakukan iterasi dengan penyejajaran ulang, pembangunan model, dan evaluasi model untuk mengoptimalkan angka evaluasi model. Selama proses iterasi: (i) Penyejajaran baru telah dibangun oleh aplikasi. (ii) Model komparasi yang berkorespondensi dengan penyejajaran tersebut dibangun dengan pembatasan spasial. (iii) Model dievaluasi dengan berbagai kriteria, salah satunya oleh potensi statistik atom (Bino *et al*, 2003).

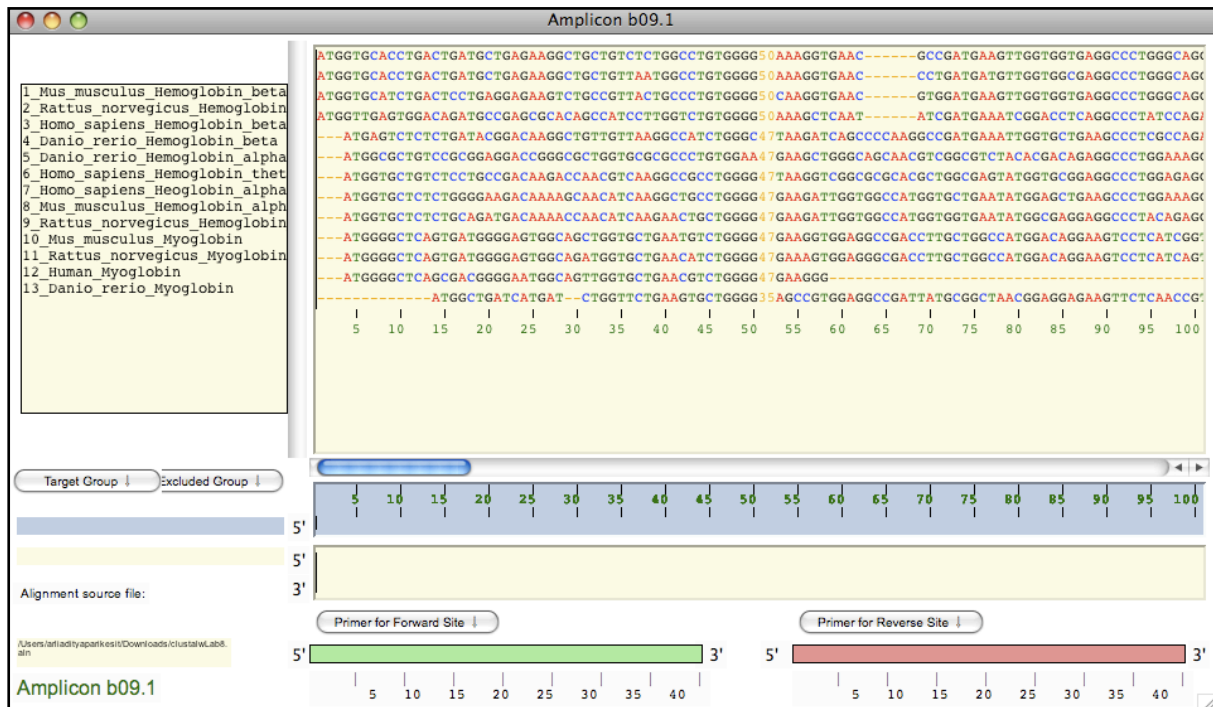


Gambar 1 : Hasil *rendering* struktur 3D protein dengan MODELLER

3.2 Desain Primer secara In Silico

PCR merupakan proses untuk amplifikasi jumlah salinan dari segmen DNA yang diinginkan. Prosedur PCR adalah sangat sederhana. Dua oligonukleotida sintesis disiapkan, komplemen pada sekuens yang merupakan galur berbeda pada DNA target. Oligonukleotida berfungsi sebagai primer replikasi, yang dapat diperpanjang oleh DNA polimerase. PCR telah berhasil melakukan kloning DNA dari sampel berusia 40,000 tahun. Peneliti telah menggunakan teknik tersebut dari mummy manusia dan hewan yang sudah punah. PCR juga digunakan untuk mendeteksi infeksi virus, sebelum gejala terjadi, dan juga mendeteksi kelainan genetik (Lehninger, 2004).

Primer PCR untuk mengamplifikasi area DNA tertentu sering dapat diarahkan pada berbagai situs yang ada pada suatu sekuens. Berbagai program telah dikembangkan untuk membantu pemilihan dari situs pengikatan primer, yang diharapkan dapat menghasilkan produk yang diinginkan. Namun, sebagian besar program berfokus untuk mendesain primer untuk mengamplifikasi area DNA dari sekuens tunggal yang diketahui. Sering kali terjadi, dimana PCR mengamplifikasi area DNA tertentu, namun mengesampingkan sekuens DNA yang sangat mirip dari amplifikasi tersebut. Contoh sederhana adalah PCR spesifik alel. Produk PCR untuk mengidentifikasi satu alel dari suatu gen diperlukan, supaya PCR tidak memproduksi produk dari alel lain, yang bisa saja ditemukan pada larutan template DNA untuk PCR. Primer yang dipilih haruslah mengeksploitasi perbedaan nukleotida antara alel tersebut, sehingga produk PCR hanya berasal dari satu alel. Program yang dapat melakukan hal ini adalah Amplicon (Jarman 2004).



Gambar 2 : Program Desain Primer PCR Amplicon

3.3 Desain Vaksin secara In Silico

Salah satu area dimana bioinformatika banyak membantu desain vaksin adalah pada pengembangan vaksin HIV-1. HIV-1 memiliki beberapa sub tipe/clade. Di daerah sub sahara Afrika, clade A, C, dan D mendominasi. Sementara clade E (A/E) dominan di Thailand. Namun, chimera A/G yang baru ternyata mulai prevalen di Afrika Barat. Data terbaru menunjukkan bahwa isolat clade C yang bersirkulasi di Afrika Selatan, ternyata berbeda secara signifikan dengan isolat clade C yang bersirkulasi di India. Ada sekitar 15-20% perbedaan sekuens asam nukleat pada clade yang berbeda, dan variasi 7-12% pada clade yang sama (De Groot *et al* 2003).

Modifikasi sekuens pada tingkat asam amino dapat mempengaruhi imunogenitas vaksin dengan memodifikasi area imunogenik yang penting, atau epitop sel T. Hal ini dilakukan dengan tiga cara: mempengaruhi proses intraseluler dari epitop, mengganggu pengikatan ke molekul MHC, dan mengganggu pengikatan kompleks MHC-peptida dengan reseptor sel T (TCR). Perubahan pada sekuens asam amino yang berasosiasi pada diversitas HIV-1 dapat mencegah perlindungan lintas clade terhadap tantangan HIV-1, oleh klon sel T melawan konstruk vaksin clade B. Hipotesa ini didukung oleh berbagai observasi dari pelarian virus terhadap deteksi imunitas, yang berhubungan pada substitusi asam amino pada epitop sel T HIV-1. Maka, imunisasi dengan vaksin yang memiliki epitop clade B tidak akan bisa efektif menghadapi isolat HIV-1 yang divergen, pada tingkat epitop. Vaksin HIV-1 yang memiliki epitop sel T yang terkonservasi dapat menjadi tipe vaksin yang efektif dalam menghadapi epidemik HIV (De Groot *et al* 2003).

Sekuens imunogenik terkonservasi sangat sukar ditemukan, sebab terdapat banyak sekali varian genom HIV-1 beserta epitopnya. Lebih dari 65,000 protein HIV-1 yang mewakili 8 clade HIV-1 telah diserahkan pada database publik. Evaluasi langsung pada setiap peptida

yang tumpang tindih, pada database sekuens ini, akan memerlukan sintesa dari jutaan peptida, dan sampel darah dari ribuan sukarelawan. Metode yang lebih cepat untuk mengidentifikasi epitop HIV-1 adalah menggabungkan *tools* bioinformatika dan esai *in vitro* (De Groot *et al* 2003).

Metode pengembangan vaksin HIV-1 secara *in silico* adalah sebagai berikut. Seluruh daftar sekuens HIV-1 yang tersedia pada versi 1997 di Los Alamos National Laboratory (LANL) diunduh. Conservatrix, *tools* penghitung dan pencocok sekuens yang membandingkan sekuens dari setiap 10 asam amino pada database sekuens, dengan 10 sekuens asam amino lainnya, digunakan untuk mengidentifikasi epitop HIV-1. Epimatrix, algoritma pencarian epitop berbasis matrix, digunakan untuk menghitung ligan yang terkonservasi. Kedua program ini digunakan secara bersamaan, untuk mencari eptiop HIV-1 yang paling optimum untuk desain vaksin (De Groot *et al* 2003).

3.4 Bioinformatika dan industri farmasi

Masalah yang menghadang industri farmasi untuk menemukan produk baru terutama adalah keterbatasan waktu dan fisik dari eksperimen basah. Walaupun telah tersedia penapisan *high throughput* dan teknik robotik lain untuk mempercepat proses, masalah utama adalah pengembangan obat merupakan suatu even yang tergantung satu sama lain, sehingga diperlukan langkah lebih drastis untuk memangkas langkah eksperimen yang tidak diperlukan (Larvol *et al*, 1999).

Eksperimen lab basah, secara *in vivo* dan *in vitro*, telah mulai menggunakan pendekatan berbasis informatika, yang dapat membawa industri farmasi pada gol R&D baru. Pengembangan obat berbasis informatika, atau pengembangan obat *in silico* adalah berdasarkan integrasi dan analisis data biologi (bioinformatika) dan kimia (kemoinformatika) dalam rangka mempercepat dan meningkatkan penemuan agen farmasetikal. Eksperimen digital pada sekuens tersebut memiliki potensi untuk mengurangi batasan siklus waktu dari eksperimen basah. Setelah eksperimen digital/*in silico* dilakukan dengan benar, maka baru dilakukan sintesis agen farmasetikal (Larvol *et al*, 1999).

4. KESIMPULAN

Bioinformatika mampu memangkas langkah-langkah yang tidak diperlukan dalam eksperimen basah. Pada akhirnya, Bioinformatika dapat membantu penghematan biaya regen biokimiawi.

Bioinformatika dapat digunakan untuk membantu desain obat, vaksin, dan primer PCR. Industri farmasi telah menggunakan *tools* bioinformatika secara ekstensif, dalam rancang desain agen farmasetikal. Hal ini memungkinkan pemangkas langkah eksperimen basah yang tidak diperlukan.

Bioinformatika tidak akan menggantikan eksperimen basah sepenuhnya. Hal ini dikarenakan selalu diperlukan prosedur akhir untuk sintesis agen farmasetikal, uji pra klinis dan klinis.

REFERENSI

- Blundell, Tom L., Sibanda, Bancinyane L., Montalvão, Rinaldo Wander., Brewerton, Suzanne., Chelliah, Vijayalakshmi., Worth, Catherine L., Harmer, Nicholas J., Davies, Owen. and David Burke. (2006). Structural Biology and Bioinformatics in Drug Design: Opportunity and Challenges for target identification and lead discovery. **Phil. Trans. R. Soc. B** **361**, 413-423
- Bino, John and Sali, Adrej. (2003). Comparative protein structure modeling by iterative alignment, model building and model assessment. **Nucleic Acids Research**, Vol. **31**, No. **14** , 3982-3992
- Claverie, Jean Michel., Notredame, Cedric. (2006). **Bioinformatics for Dummies**. John Willey and Sons, New Jersey.
- De Groot, Anne S., Jesdale, Bill., Martin, William., Saint Aubin, Caitlin., Sbai, Hakima., Bosma, Andrew., Lieberman, Judy., Skowron, Gail., Mansourati, Fadi., Mayer, Kenneth H. (2003). Mapping cross-clade HIV-1 vaccine epitopes using a bioinformatics approach. **Vaccine** **21**, 4486–4504.
- Jarman, Simon N. (2004). Amplicon: Software for designing PCR Primers on Aligned DNA Sequences. **Oxford Journal of Bioinformatics** vol **20** no **10** , 1644-1645.
- Larvol, Bruno L., Wilkerson, L John. (1999). In silico drug discovery: Tools for bridging the NCE gap. **Nature American Inc**, 33-34.
- Lehninger. (2004). **Biochemistry**. W H Freeman & Co. New York.
- Ouzounis, Christos. (2002). Editorial: Bioinformatics and Theoretical Foundations of Molecular Biology. **Oxford Journal of Bioinformatics** vol.**18** no.**3**, 377-378.
- Watson, James D., Baker, Tania A., Bell, Stephan P. (2008). **Molecular Biology of the Gene**. Cummings, San Fransisco.