

STUDI IN SILICO PENGIKATAN MIR-142 DENGAN GEN SITOKIN INFLAMASI BERDASARKAN NILAI ΔG DAN LOGISTIC PROBABILITY SEBAGAI AGEN TERAPI INFEKSI MRSA

¹Ismail Ismail*, ²Reny Syahrani, ¹Jane Stefany

¹Program Studi Sarjana Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar, Indonesia, 90242
²Program Studi Diploma Tiga Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar, Indonesia, 90242

Info Article

Submitted :

3 September 2022

Revised :

20 Desember 2022

Accepted :

4 Januari 2023

Corresponding Author :

Ismail Ismail

Email :

Ismail.farm27@gmail.com

ABSTRAK

Salah satu infeksi yang sulit diobati dengan tingkat morbiditas tinggi yaitu infeksi *Methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). MRSA memiliki faktor virulensi yang dapat meningkatkan efek yang ditimbulkan akibat infeksi dan dapat menyebabkan sindrom klinis seperti inflamasi. Pemicu inflamasi tersebut adalah produksi sitokin seperti IL-1 β , TNF- α , IL-6, dan juga produksi NF κ B dan NLRP3 yang dapat mengatur sintesis sitokin tertentu. Salah satu target penanganan masalah tersebut adalah menggunakan miR-142 yang merupakan regulator penting dalam berbagai proses biologis dan berhubungan dengan jalur signaling suatu penyakit. Penelitian ini dilakukan untuk menentukan pengikatan terbaik miR-142 dengan gen sitokin proinflamasi yang berperan dalam infeksi MRSA berdasarkan nilai ΔG_{hybrid} dan logistic probability. Prediksi pengikatan miR-142 matur dengan gen sitokin (mRNA) dilakukan dalam website StarMir Sfold 2.2. Sekuens lengkap gen sitokin diperoleh dari FASTA NCBI dan data CDS diperoleh dari Refseq. Hasil prediksi pengikatan miR-142 dengan 5 target diperoleh 605 model pengikatan. Pengikatan terbaik terjadi pada ikatan antara NF κ B dengan hsa-miR-142-3p pada CDS seedless posisi 791 – 813 dibuktikan dengan nilai ΔG_{hybrid} paling rendah dari semua ikatan yang terjadi.

Kata kunci: miR-142, MRSA, Sitokin Inflamasi, StarMir

Access this article



ABSTRACT

One of infection with high levels of morbidity which difficult to treat is *Methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) infection. MRSA has virulence factors that can increase the effects of infection and cause clinical syndromes such as inflammation. The inflammation trigger by production of cytokines such as IL-1 β , TNF- α , IL-6, and also production of NF κ B and NLRP3 which can regulate the synthesis of certain cytokines. miR-142, an important regulator in various biological processes and associated with signaling pathway disease is the targets of handling the problem. This study aims to determine the best binding of miR-142 and inflammatory cytokine genes that play role in MRSA infections based on ΔG_{hybrid} dan logistic probability values. Binding prediction of mature miR-142 and cytokine gene (mRNA) done by accessed the StarMir Sfold 2.2 website. Complete cytokine gene sequences were obtained from the NCBI FASTA and CDS

data were obtained from Refseq. The binding prediction results 5 targets of 605 binding models prediction. The best binding occurs at the bond between the NFkB with hsa-miR-142-3p on CDS seedless site 791 - 813 evidenced by the lowest value of ΔG_{hybrid} of all binding models.

Keywords: miR-142, MRSA, Inflammatory cytokines, StarMir

1. PENDAHULUAN

Methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA) merupakan strain bakteri *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap antibiotik metisilin (Boada *et al.*, 2018). Penyebab MRSA yaitu adanya gen resisten *mecA* yang dimiliki oleh bakteri tersebut. Gen ini terletak di dalam kromosom SCCmec dari *Staphylococcus aureus* dan dapat dideteksi menggunakan metode Polymerase Chain Reaction (PCR) (Mindhumalid *et al.*, 2018). Sekitar 30-70% dari seluruh infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* dari seluruh rumah sakit yang ada di dunia disebabkan oleh MRSA (Yuwono *et al.*, 2011).

Infeksi khususnya yang disebabkan oleh bakteri dapat memicu produksi endotoksin yang merupakan stimulator produksi sitokin. Sitokin yang diproduksi antara lain *Tumor Necrosis Factor* (TNF), IL-1, IL-6, serta beberapa sitokin inflamasi dengan berat molekul rendah termasuk. Salah satu akibat dari stimulasi produksi sitokin adalah terjadinya inflamasi pada jaringan yang terinfeksi bakteri. Reaksi inflamasi tersebut sangat merugikan salah satunya dapat mengakibatkan nekrosis jaringan yang mengarah pada gangguan fungsi jaringan (Munasir, 2016).

Adanya respon inflamasi tersebut dapat dikontrol menggunakan *microRNA* (miRNA). miRNA merupakan kelompok RNA endogen *non-coding* yang terdiri dari

22-25 nukleotida. miRNA berperan penting sebagai regulator ekspresi gen dengan target *messenger RNA* (mRNA) (Juwita, 2017; Shrestha *et al.*, 2015). MiRNA memegang peran penting dalam proses fisiologis karena fungsinya dalam proses regulasi translasi protein dengan cara menghambat proses translasi (Chauhan *et al.*, 2018; Mori *et al.*, 2018).

Salah satu miRNA yang telah teregistrasi pada miRbase adalah *miR-142*. Penelitian tentang peran *miR-142* dalam infeksi bakteri telah dilakukan oleh Tanaka *et al.*, (2017) yang menunjukkan pengaruh miR-142 terhadap infeksi bakteri khususnya dalam menghambat perkembangan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan meregulasi sel darah putih (leukosit) yang berperan dalam sistem kekebalan tubuh (sistem imun) (Tanaka *et al.*, 2017).

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pengikatan terbaik miR-142 dengan gen sitokin inflamasi yang berperan dalam infeksi MRSA berdasarkan nilai ΔG_{hybrid} dan *logistic probability*.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu perangkat keras yang digunakan untuk studi *in silico* yaitu komputer pribadi (personal computer) dengan spesifikasi sebagai berikut Acer Aspire 4732 Z, Processor Intel®

Pentium Inside, memori (RAM) 2 GB DDR2 667MHz, monitor 14', kapasitas HDD 250 GB, sistem operasi Windows® seven Pro. Perangkat lunak yang digunakan google chrome, paket program RefSeq untuk mengakses database FASTA gen target yang dapat diakses pada <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/> dan program StarMIR (<http://sfold.wadsworth.org/cgi-bin/starmir.pl>) pada Sfold 2.2 untuk memprediksi pemodelan data miR-142 dengan mRNA

2.2 Prosedur Penelitian

Prediksi pengikatan miR-142 dengan gen sitokin (mRNA) dilakukan dengan mengakses website StarMir (<http://sfold.wadsworth.org/cgi-bin/starmir.pl>). Model yang digunakan dalam prediksi ini adalah *Homo sapiens*. Kode miR-142 yang digunakan pada kolom microRNA sequence ID adalah hsa-miR-142-3p dan hsa-miR-142-5p. Kolom Single Target Sequence bagian Manual *Sequence Entry* digunakan untuk memasukkan gen sitokin secara manual. Bagian Name dimasukkan kode gen sitokin (TNF- α , 1L-1 β , IL-6 NF κ B dan NLRP3) dan sekuens yang dimasukkan berupa sekuens lengkap yang diperoleh dari FASTA NCBI. Data CDS diperoleh dari refseq. Data yang diperoleh berupa Logistic Probability dan Δ GHybrid serta model pengikatan miRNA dengan mRNA.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Studi in silico menggunakan website StarMir dilakukan untuk menentukan pengikatan terbaik miRNA dengan gen sitokin inflamasi sehingga diperoleh diprediksi pengikatan yang memungkinkan penghambatan terjadinya

inflamasi. Dalam penelitian ini, prediksi pengikatan terbaik miRNA dengan mRNA didasarkan pada 2 parameter yaitu nilai Δ G hybrid dan logistic probability. Nilai Δ G menunjukkan stabilitas pengikatan dan aksesibilitas ke daerah pengikatan miRNA dengan mRNA. StarMir memprediksi ikatan miRNA berdasarkan program RNAhybrid antara daerah seed dan seedless dengan stabilitas hybrid -15 kkal/mol atau lebih rendah. Nilai Logistic Probability menunjukkan ukuran kepercayaan terhadap hasil prediksi berupa pengikatan yang baik antara miRNA dengan gen target. Secara umum, nilai logistic probability sebesar 0,5 menunjukkan kemungkinan pengikatan yang baik antara miRNA dengan gen target. Nilai *logistic probability* dikatakan tinggi ketika mencapai 0,75 atau lebih tinggi (Rennie et al., 2014; Rennie et al., 2016).

Pemilihan miRNA didasarkan pada kemampuannya dalam regulasi proses tertentu di dalam tubuh. miR-142 dipilih karena kemampuannya dalam signaling suatu penyakit khususnya dalam respon imun. Penelitian ini menggunakan 2 bentuk matur miR-142 yaitu hsa-miR-142-3p dan hsa-miR-142-5p. Respon terhadap infeksi MRSA dapat berupa produksi beberapa sitokin misalnya TNF- α , 1L-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-2, IL-8, IL-4, IL-10, atau IL-13. Namun gen sitokin yang dipilih dalam penelitian ini adalah TNF- α , 1L-1 β , dan IL-6 karena ketiga sitokin tersebut dapat memicu terjadinya inflamasi. Gen NF κ B dan NLRP3 juga digunakan sebagai target pendukung karena kemampuannya dalam inisiasi transkripsi gen sitokin. Data mRNA diperoleh dari RefSeq FASTA NCBI.

Prediksi pengikatan antara miR-142 matur dengan IL-1 β diperoleh 42 pengikatan, 46 pengikatan pada IL-6, 88 pengikatan pada TNF- α , 221 pengikatan pada NF κ B, dan 208 pengikatan pada NLRP3. Tiap pengikatan miR-142 matur

dengan gen sitokin proinflamasi dipilih pengikatan terbaik dengan nilai Δ G hybrid dan logistic probability sesuai standar yang ditetapkan. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengikatan miR-142 matur dengan mRNA sitokin

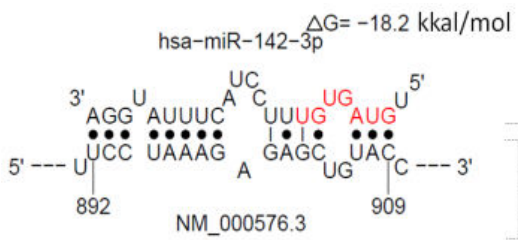
No	Target	miRNA	Gen sitokin	Wilayah Pengikatan	Posisi Pengikatan	Log. Prob	Δ Ghybrid (kcal/ mol)
1	NM_000576.3	Hsa-miR-142-3p	IL-1 β	CDS seedless	892 - 909	0,570	-18,200
2	NM_000576.3	Hsa-miR-142-5p	IL-1 β	CDS seedless	552 - 575	0,568	-19,600
3	NM_000594.4	Hsa-miR-142-3p	TNF- α	5'UTR seedless	34 - 61	0,550	-23,800
4	NM_000594.4	Hsa-miR-142-5p	TNF- α	CDS seedless	549 - 560	0,513	-17,700
5	NM_000600.5	Hsa-miR-142-3p	IL-6	CDS seedless	260 - 283	0,598	-21,800
6	NM_000600.5	Hsa-miR-142-5p	IL-6	3'UTR seedless	954 - 982	0,630	-14,200
7	NM_001243133.2	Hsa-miR-142-3p	NLRP 3	5'UTR seedless	210 - 229	0,505	-22,200
8	NM_001243133.2	Hsa-miR-142-5p	NLRP 3	CDS seedless	2296 - 2317	0,654	-19
9	NM_003998.4	Hsa-miR-142-3p	NF κ B	CDS seedless	791 - 813	0,511	-25,400
10	NM_003998.4	Hsa-miR-142-5p	NF κ B	CDS seedless	3270 - 3286	0,821	-21,600

Pengikatan terbaik berdasarkan nilai Δ Ghybrid dan logistic probability antara hsa-miR-142-3p dengan IL-1 β terjadi pada CDS seedless posisi 892 – 909, posisi 34 – 61 pada 5'UTR seedless dengan TNF- α , posisi 260 – 283 pada CDS seedless dengan IL-6, posisi 210 – 229 pada 5'UTR seedless dengan NLRP3, dan posisi 791 – 813 pada

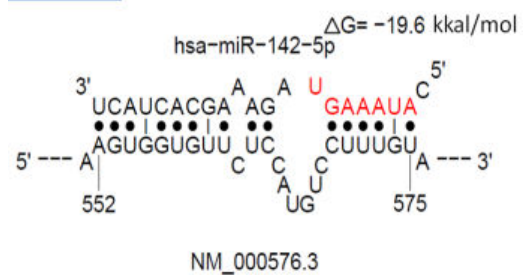
CDS seedless dengan NF κ B. Sedangkan pengikatan terbaik antara hsa-miR-142-5p dengan IL-1 β terjadi pada CDS seedless posisi 552 – 575, posisi 549 – 560 pada CDS seedless dengan TNF- α , posisi 954 – 982 3'UTR seedless dengan IL-6, posisi 2296 – 2317 pada CDS seedless dengan NLRP3, dan posisi 3270 – 3286 pada CDS seedless

dengan NFkB. Penentuan atau prediksi pengikatan terbaik antara miRNA dengan mRNA target dalam penelitian ini didasarkan pada nilai ΔG hybrid dan Logistic Probability (Probabilitas logistik). Nilai ΔG hybrid merupakan ukuran energi bebas yang menunjukkan stabilitas pengikatan miRNA dengan mRNA. Nilai ΔG

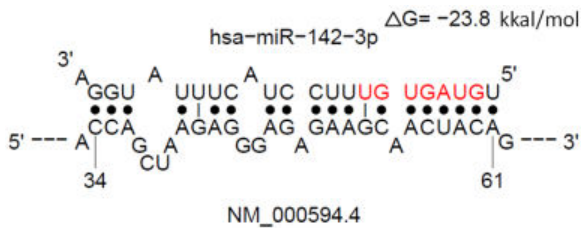
≤ 0 (ΔG bernilai negatif) menunjukkan bahwa reaksi berlangsung secara spontan (Thims, 2017). Logistic Probability menunjukkan ukuran kepercayaan terhadap hasil prediksi atau kemungkinan situs untuk menjadi situs pengikatan miRNA (Kanoria *et al.*, 2016).



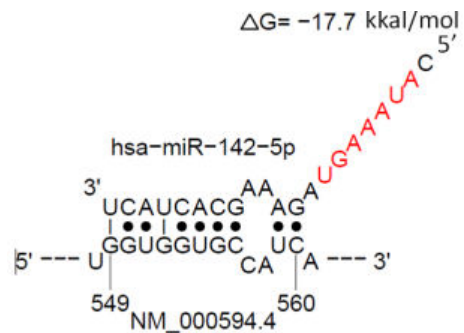
(a)



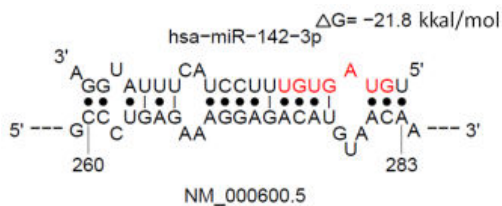
(b)



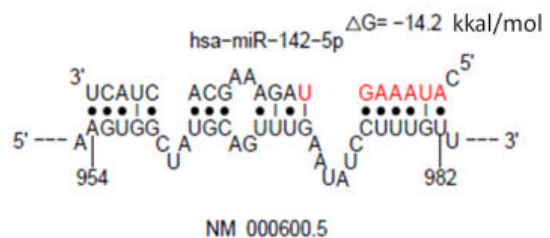
(c)



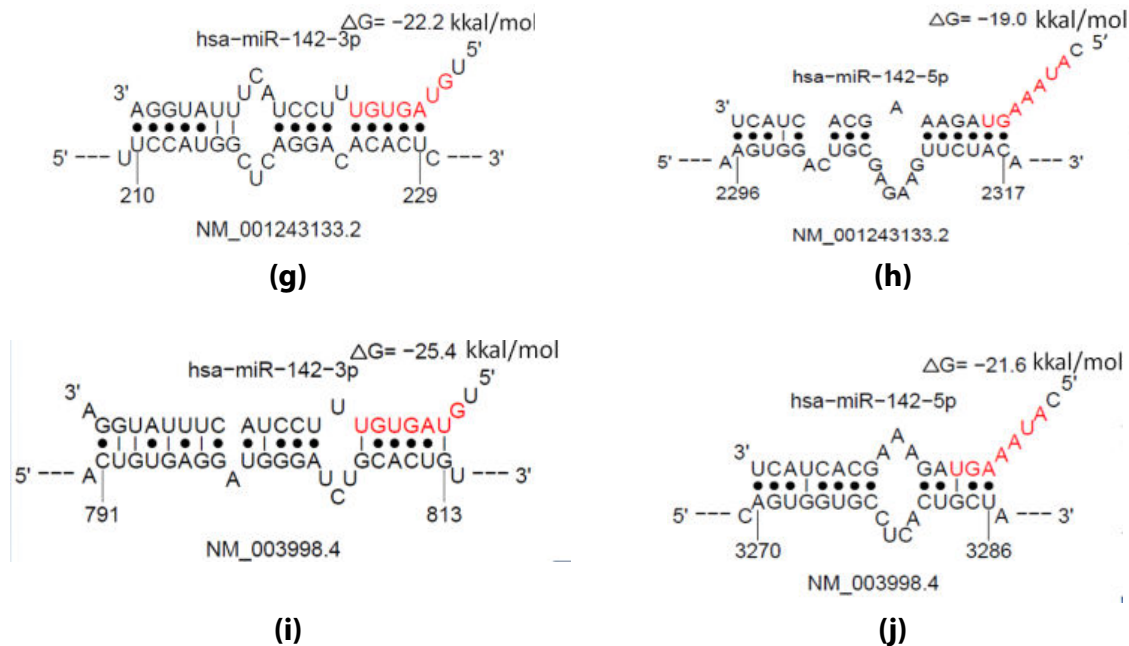
(d)



(e)



(f)



Gambar 1. Model pengikatan miR-142-3p dengan (a) IL-1 β , (c) TNF- α , (e) IL-6, (g) NLRP3, (i) NF κ B dan pengikatan miR-142-5p dengan (b) IL-1 β , (d) TNF- α , (f) IL-6, (h) NLRP3, (j) NF κ B

Jenis interaksi miRNA dan gen target pada 10 model pengikatan yang terpilih terjadi secara Partial complementary (Gambar 1) artinya terdapat beberapa nukleotida pada mRNA yang tidak berinteraksi dengan miRNA. Hal tersebut menyebabkan mRNA mengalami degradasi dan terjadi penekanan proses translasi namun efek penekanannya lebih rendah selain itu disebabkan karena miRNA berinteraksi dengan mRNA pada daerah seedless yang tidak membentuk ikatan yang sempurna dengan miRNA (Wang et al., 2019).

Perbandingan pengikatan terbaik berdasarkan nilai ΔG_{hybrid} dan logistic probability antara miR-142 matur dengan beberapa mRNA menunjukkan pengikatan terbaik terjadi pada ikatan NF κ B dengan hsa-miR-142-3p pada CDS seedless posisi 791 – 813 dibuktikan dengan nilai ΔG_{hybrid} paling rendah dari semua ikatan yang terjadi yaitu sebesar -25,400 kkal/mol.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian dapat disimpulkan bahwa pengikatan miR-142 matur dengan beberapa mRNA target diperoleh pengikatan terbaik terjadi pada ikatan antara ikatan NF κ B dengan hsa-miR-142-3p pada CDS seedless posisi 791 – 813 dibuktikan dengan nilai ΔG_{hybrid} paling rendah dari semua ikatan yang terjadi yaitu sebesar -25,400 kkal/mol.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada semua pihak yang terlibat dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Boada, A., Pons-Vigués, M., Real, J., Grezner, E., Bolívar, B., Llor, C., 2018, Previous Antibiotic Exposure and Antibiotic Resistance of Commensal *Staphylococcus aureus* in Spanish Primary Care, *European Journal of General Practice*, 24(1): 125–130
- Chauhan, R., Datzkiw, D., Varma Shrivastav, S., Shrivastav, A., 2018, In Silico

- Identification of MicroRNAs Predicted to Regulate N-myristoyltransferase and Methionine Aminopeptidase 2 Functions in Cancer and Infectious Diseases, PLoS ONE, 13(3): e0194612
- Juwita, J., 2017. MicroRNA-21, MicroRNA-155, dan MicroRNA-10B: Bagaimana Perannya pada Kanker Payudara?, JKS, 17(2): 119–125
- Kanoria, S., Rennie, W., Liu, C., Carmarck, S., Lu, J., Ding, Y., 2016, StarMir Tools for Prediction of MicroRNA Binding Site, HHS Public Access, 1490: 73-82.
- Mindhimalid, T., Darmawati, S., Prastiyanto, M.E., 2018., Identifikasi Gen mecA pada Methicilin-Resistant Staphylococcus aureus, Skripsi, Univeritas Muhammadiyah Semarang, Semarang
- Mori, R., Tanaka, K., Shimokawa, I., 2018, Identification and Functional Analysis of Inflammation-related MiRNAs in Skin Wound Repair, Develop. Growth Differ., 60(6): 306–315
- Munasir, Z., 2016, Respons Imun Terhadap Infeksi Bakteri, SP, 2(4): 193
- Rennie, W., Liu C., Carmack, S., Wolenc, A., Kanoria, S., Lu, J., et al., 2014 StarMir: A Web Server for Prediction of microRNA Binding Sites, Nucleic Acid Research, 42: 114-118
- Rennie, W., Kanoria, S., Liu, C., Mallick, B., Long, D., Wolenc, A., et al., 2016, STarMirDB: A Database of MicroRNA Binding Sites, RNA Biology, 13: 554–560
- Shrestha, A., Carraro, G., El Agha, E., Mukhametshina, R., Chao, C.-M., Rizvanov, A., et al., 2015, Generation and Validation of miR-142 Knock Out Mice, PLoS ONE, 10(9): e0136913
- Tanaka, Katsuya, Kim, S.E., Yano, H., Matsumoto, G., Ohuchida, R., Ishikura, Y., et al., 2017. MiR-142 Is Required for Staphylococcus aureus Clearance at Skin Wound Sites via Small GTPase-Mediated Regulation of the Neutrophil Actin Cytoskeleton. Journal of Investigative Dermatology, 137(4): 931–940
- Thims, L., 2007, Human Chemistry, Volume 2, LuLu Enterprises, USA
- Wang, X., Tian, J., Cui, P., Mastriano, S., Zhang, D., Zhao, H., et al., 2019, microRNA Seedless Sites Attenuate Strong-Seed-Side-Mediate Target Repression, BioRxiv, <http://doi.org/10.1101/837682>
- Wang, Z., 2009, MicroRNA Interference Technologies, Springer, Heidelberg, Germany
- Yuwono, Sa, S., Masria, S., Supardi, I., 2011, Identifikasi Staphylococcal Cassette Chromosome Mec Methicillin Resistant Staphylococcus aureus dengan Polymerase Chain Reaction, MKB, 43(2), 60-65.



Copyright © 2023 The author(s). You are free to **Share** — copy and redistribute the material in any medium or format. **Adapt** — remix, transform, and build upon the material. Under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use. **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes. **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. **No additional restrictions** — You may not apply legal terms or technological measures that legally restrict others from doing anything the license permits.