

**EKSPRESI *Homo sapiens* microRNA 21 (Hsa-miR-21)
TERHADAP PHOSPHATASE AND TENSIN HOMOLOG
(PTEN) PADA CELL LINE RAJI RESISTEN DOXORUBICIN
SEBAGAI DASAR PENGEMBANGAN AWAL BIOMARKER
DAN TARGETED THERAPY LIMFOMA**

I Gusti Agung Ayu Hari Triandini¹, Indwiani Astuti², Sofia Mubarika Haryana³

INTISARI

Resistensi *doxorubicin* merupakan kendala dalam terapi limfoma. Beberapa faktor yang berperan dalam kemoresistensi tersebut adalah regulasi epigenetik oleh microRNA, *drug efflux* oleh protein transporter dan penurunan ekspresi protein apoptosis. Penghambatan sinyal apoptosis pada sel Raji sebagai model *in vitro* limfoma sel B subtype Non Hodgkin dengan agresivitas tinggi, terkait dengan ekspresi protein EBV (LMP1) melalui jalur PI3K/Akt yang dihambat oleh PTEN sebagai *tumor suppressor* (protein apoptosis). Mekanisme aksi PTEN diregulasi oleh mekanisme epigenetik *hsa-miR-21* pada limfomagenesis. *Hsa-miR-21* diduga berperan sebagai oncomir yang meregulasi resistensi *doxorubicin* pada limfoma sel B subtype Non Hodgkin melalui penghambatan aktivitas PTEN.

Tahapan penelitian yang dilakukan untuk mendapatkan perbandingan ekspresi *hsa-miR-21* dan PTEN pada sel Raji/WT dan Raji/Dox antara lain: analisis *in silico* interaksi *hsa-miR-21* terhadap *Pten*, kultur *cell line* Raji/WT dan Raji/Dox, MTT assay, analisis imunositokimia ekspresi P-gp (indikator resistensi) dan PTEN secara semi kuantitatif dengan software *Image J*, isolasi RNA, sintesis cDNA dan kuantifikasi relatif ekspresi *hsa-miR-21* dengan qPCR menggunakan *UniSp6* sebagai *exogenous pseudo reference gene* dengan metode Livak dan ΔCq .

Hasil analisis *in silico* menunjukkan bahwa *Pten* dihambat (bukan didegradasi) oleh *hsa-miR-21*. Morfologi *giant cell* ditemukan pada sel Raji/Dox. *Fold resistance* sel Raji/Dox pada MTT assay yaitu 2,46 dengan peningkatan ekspresi P-gp dengan metode imunositokimia sebesar 1,74 kali. *Fold change expression hsa-miR-21* pada sel Raji/Dox mencapai 5,06 kali dibandingkan dengan sel Raji/WT dan diiringi dengan penurunan persentase ekspresi PTEN yang mencapai 2 kali lipat secara imunositokimiawi. *Hsa-miR-21* berpotensi menjadi kandidat biomarker dan target terapi pada limfoma sel B subtype Non Hodgkin resisten *doxorubicin*.

Kata kunci: *hsa-miR-21*, PTEN, Raji, resistensi, *doxorubicin*.

THE EXPRESSION OF *Homo sapiens* microRNA 21 (*Hsa-miR-21*) TO PHOSPHATASE AND TENSIN HOMOLOG (PTEN) IN DOXORUBICIN RESISTANT RAJI CELL LINE AS EARLY STAGE DEVELOPMENT OF LYMPHOMA BIOMARKER AND TARGETED THERAPY

I Gusti Agung Ayu Hari Triandini¹, Indwiani Astuti², Sofia Mubarika Haryana³

ABSTRACT

Doxorubicin resistance is the problem in lymphoma therapy. Many factors influence drugs resistance, namely epigenetic regulation by microRNA, drug efflux by transporter protein and apoptotic protein loss expression. Inhibition of apoptotic signaling in Raji cell as *in vitro* model of high aggressivity Non Hodgkin B cell lymphoma is related to the expression of EBV protein (LMP1) through PI3K/Akt pathway that inhibited by PTEN as tumor suppressor (apoptotic protein). PTEN mechanism of action is regulated by epigenetic mechanism of *hsa-miR-21* in lymphomagenesis. *Hsa-miR-21* was hypothesized as oncomir that could regulate *doxorubicin* resistance in Non-Hodgkin B cell lymphoma through inhibition of PTEN.

Several analysis were conducted to get the comparison of *hsa-miR-21* and PTEN expression in Raji/WT and Raji/Dox such as: *in silico* interaction of *hsa-miR-21* and *Pten*, Raji/WT and Raji/Dox cell line culture, MTT assay, immunocytochemistry of P-gp (resistance indicator) and PTEN by *Image J* software analysis, RNA isolation, cDNA synthesis and relative expression quantification of *hsa-miR-21* with qPCR analysis using *UniSp6* as stable exogenous pseudo reference gene by Livak and ΔCq method.

In silico analysis shown that *Pten* was inhibited (not degraded) by *hsa-miR-21*. Giant cell morphology was found in Raji/Dox. Fold resistance of Raji/Dox in MTT assay was 2,46 and 1,74 fold expression of P-gp using immunocytochemistry method. Fold change expression of *hsa-miR-21* in Raji/Dox was 5,06 greater than *doxorubicin* sensitive Raji cell line meanwhile 2 fold under expressed of PTEN by immunocytochemistry technique. Therefore, *hsa-miR-21* is potential candidate biomarker and targeted therapy for *doxorubicin* resistance in Non-Hodgkin B cell lymphoma.

Key words: *hsa-miR-21*, PTEN, Raji, resistance, *doxorubicin*.