

Potensi terapi gen berbasis *Small Interference RNA* (siRNA) terhadap infeksi SARS-CoV-2

¹Safa Nabila Putri, ¹Saffana Nabila, ¹Muhammad Rizky Hidayatullah, ²Ziske Maritska

¹Medical Study Program, Faculty of Medicine, Universitas Sriwijaya, Palembang, Indonesia

²Department of Biology Medicine, Faculty of Medicine, Universitas Sriwijaya, Palembang, Indonesia
Corresponding Email: ziske_maritska@unsri.ac.id

Abstrak. Saat ini, dunia sedang menghadapi krisis kesehatan global. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) masih menjadi penyebab penderitaan banyak orang. Sampai saat ini, ada banyak obat COVID-19 yang sedang diuji, tetapi tidak ada terapi yang terverifikasi bisa menargetkan virus secara khusus. Pengobatan berbasis small interference RNA (siRNA) dapat memberikan solusi yang efektif dalam memerangi COVID-19. siRNA adalah sekuens RNA bersama-sama dengan RNA-Induced Silencing System (RISC), mengikat molekul target mRNA sehingga dapat menghambat translasi dan ekspresinya. Penggunaan Lipid nanoparticle (LNP) sebagai pembawa siRNA untuk pengiriman muatan terapeutik menawarkan keuntungan dengan mengurangi degradasi enzimatik dan sekuestrasi oleh sistem retikuloendotel. Namun, represi siRNA pada SARS-CoV-2 bersifat sementara, dan efek dari penekanan virus hilang setelah 48 jam, menunjukkan bahwa formulasi LNP-siRNA sebagai agen terapeutik, kemungkinan besar akan memerlukan rejimen intravena setiap hari selama infeksi virus puncak sehingga untuk optimalisasi lebih lanjut modifikasi perlu dilakukan.

Kata Kunci: COVID-19, nanoparticle, LNP, SARS-CoV-2, and siRNA

Abstract. Currently, the world is facing a global health crisis. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) is still the cause of suffering for many people. To date, many COVID-19 drugs are being tested, yet no verified therapy can target the virus specifically. Small interference RNA (siRNA) based treatment can be an effective solution in fighting against COVID-19. siRNA is an RNA sequence together with the RNA-Induced Silencing System (RISC), binding to the target mRNA molecule so that it can inhibit its translation and expression. The use of Lipid nanoparticles (LNPs) as siRNA carriers for charge utilization offers the advantage of reducing enzymatic and sequestration by the reticuloendothelial system. However, siRNA repression in SARS-CoV-2 was transient, and the effect of viral suppression disappeared after 48 hours, suggesting that LNP-siRNA formulations as therapeutic agents will most likely require daily intravenous regimens during peak viral infection. To further optimize its potentials, modifications need to be made.

Keywords: COVID-19, nanoparticle, LNP, SARS-CoV-2, and siRNA.

Pendahuluan

Saat ini, dunia sedang menghadapi krisis kesehatan global. *Coronavirus Disease 2019* (COVID-19) masih menjadi penyebab penderitaan banyak orang.¹ Terdapat 207.173.086 kasus COVID-19 yang dikonfirmasi, termasuk 4.361.996 kematian di dunia dilaporkan ke WHO.² Hingga 12 Agustus 2021, Hingga 12 Agustus 2021, Pemerintah Republik Indonesia telah melaporkan 3.774.155 orang terkonfirmasi positif COVID-19 dengan 113.664 angka kematian, dan 3.247.715 pasien telah pulih dari penyakit tersebut.³ Penyakit COVID-19 berawal pada bulan Desember 2019 melalui penemuan kasus pneumonia di Kota Wuhan, Cina yang sekarang telah diidentifikasi sebagai virus

corona baru yang dinamai *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2) oleh *International Committee of Taxonomy of Viruses* (ICTV). COVID-19 dengan cepat berubah menjadi pandemi global.^{4,5,6}

Ada banyak obat COVID-19 yang saat ini sedang diuji antara lain antivirus seperti remdesivir, favipiravir, lopinavir, ritonavir, dan arbidol, agen antimalaria seperti hydroxychloroquine, dan antikanker seperti interferon-alpha 2b. Kandidat obat ini tidak menargetkan virus secara khusus sehingga kespesifikan terhadap SARS-CoV-2 belum terbukti.^{7,8} Oleh karena itu, pengobatan berbasis *small interference RNA* (siRNA) dapat memberikan solusi yang efektif dalam memerangi COVID-19. siRNA adalah sekuens RNA yang

bersama dengan *RNA-Induced Silencing System* (RISC) mengikat molekul target mRNA, yang kemudian akan menghambat translasi dan ekspresinya. Sejak penemuan mekanisme interferensi RNA (RNAi) di akhir 90-an dan efeknya secara tepat menekan gen apa pun dengan kecocokan urutan basa, potensi penerapannya menjadi jelas sehingga ia menjadi alat yang ada di mana-mana dalam penelitian dan aplikasi biologis, dari genomik fungsional hingga biomedis, dan pengendalian hama. Setelah '*Silent Revolution*' ini, pada tahun 2018 Badan Pengawas Obat dan Makanan AS menyetujui terapi RNAi pertama.^{9,10}

Meskipun vaksin yang baru-baru ini disetujui untuk COVID-19 menimbulkan harapan, para peneliti di seluruh dunia masih mencari dan berusaha menemukan cara baru untuk menyembuhkan pandemi virus ini sehingga dapat ditemukan pengobatan khusus untuk mereka yang sudah terinfeksi oleh SARS-CoV-2.⁹ Oleh sebab itu, tinjauan ini mengkaji penelitian yang mampu menargetkan genom RNA SARS-CoV-2 dengan pendekatan interferensi RNA sehingga dapat menjadi solusi yang memungkinkan dalam mengatasi pandemi dan meningkatkan kualitas hidup masyarakat Indonesia.

Metode

Metode yang digunakan adalah *literature review* naratif yang didapat dari analisis beberapa referensi terkait. Penulis memilih jurnal dalam waktu lima tahun terakhir melalui Google Scholar, CDC, WHO, PubMed, Science Direct, dan Clinicalkey dengan kata kunci: *COVID-19, nanoparticle, LNP, SARS-CoV-2, and siRNA*. Pencantuman kriteria menggunakan jurnal bahasa Inggris dan bahasa Indonesia dengan tema dan kata kunci terkait topik.

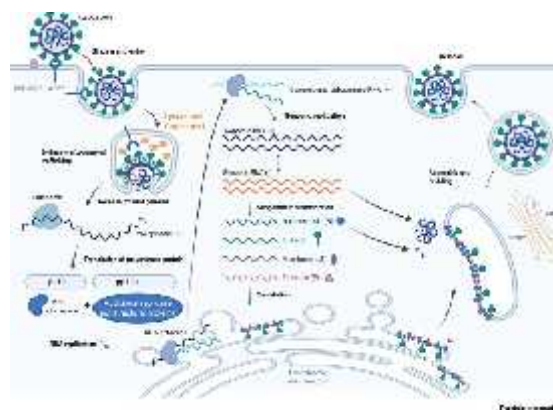
Hasil dan pembahasan

Gambaran umum genome COVID-19

SARS-CoV-2, kelompok betacoronavirus dari keluarga Coronaviridae, adalah virus RNA untai tunggal positif dengan genom berukuran di bawah 30kb.⁹ Genom virus ini terdiri dari 14 *open reading frames* (ORFs), dua pertamanya mengkode 16 *nonstructural protein* (nsp 1-16) yang membentuk kompleks replika dan sepertiga sisanya mengkode sembilan protein aksesori dan empat protein struktural seperti *Spike* (S), *Envelope* (E), *Membrane* (M), dan *Nucleocapsid* (N), di mana *Spike* memediasi masuknya SARS-CoV-2 ke dalam sel inang melalui ikatannya dengan *Angiotensin Converting Enzyme 2* (ACE2).^{4,5,6}

Fusi membran sel virus pada permukaan sel dan kompartemen endosom dimediasi oleh TMPRSS 2 dan/atau endolisosomal cathepsin L. Selanjutnya,

genom RNA akan dilepaskan ke dalam sitosol dan akan diterjemahkan kedalam ORF1a/b menghasilkan pp1a dan pp1b yang akan dipecah oleh protease menjadi nsp. Proses replikasi RNA genomik dan subgenomik (sgRNA) dimulai ketika terbentuknya *Double-Membrane Vesicles* (DMV) yang berasal dari *Endoplasmic Reticulum* (ER). Terjemahan sgRNA menghasilkan protein struktural dan protein aksesori (N, S, M, dan E) yang dimasukkan ke dalam *ER-Golgi Intermediate Compartment* (ERGIC) untuk perakitan virion. Akhirnya, genom *positive-sense* RNA berikutnya dimasukkan ke dalam virion yang baru disintesis, yang disekresikan dari membran plasma (Gambar 1).⁴



Gambar 1. Siklus Hidup SARS-CoV-2⁴

Potensi SiRNA sebagai agen terapeutik penyakit

Terapi gen sangat menjanjikan karena langsung menargetkan gen yang menyebabkan penyakit sehingga lebih tepat dan efektif untuk pengobatan penyakit. Salah satu terapi gen yang berpotensi adalah siRNA, yaitu molekul yang digunakan untuk memicu inhibisi gen.⁹ siRNA adalah molekul RNA *non-coding* untai ganda dengan panjang 18-25 pasangan basa. siRNA mengatur ekspresi gen dengan fenomena yang dikenal sebagai *RNA interference* (RNAi).

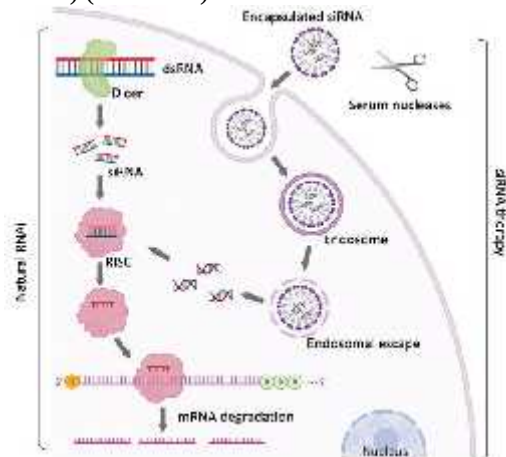
Beberapa siRNA telah dikembangkan sebagai terapi potensial untuk melawan infeksi virus khususnya virus yang memiliki pilihan pengobatan terbatas, seperti virus hepatitis B, Ebola, dan virus sinitium saluran pernapasan.⁹

Pada tahun 1990, Jorgensen et al untuk pertama kalinya mengamati *Post-Transcriptional Gene Silencing* (PTGS) pada bunga petunia. Percobaan ini dilakukan adalah untuk mengekspresikan *Chalcone Synthase* (CHS) secara berlebihan pada tanaman petunia berpigmen dengan memperkenalkan transgen CHS pada bunga. Namun, di luar dugaan transgen ini mengakibatkan hilangnya warna pada bunga. Fenomena ini disebut sebagai *cosuppression*. Pada tahun 1995, Geo dan Kemhues

mengungkapkan bahwa RNA untai tunggal dapat menimbulkan PTGS pada nematoda *Caenorhabditis elegans*. Pada tahun 1998, A. Fire dan C. Mello melaporkan konfirmasi bahwa *double-stranded RNA* (dsRNA) dapat menyebabkan pembungkaman gen yang efisien dibandingkan dengan *single-stranded RNA* (ssRNA).¹⁰ Hal ini sesuai dengan siRNA yang merupakan molekul dsRNA.

Awal dari terapi RNA di dunia dimulai pada tahun 1998, dengan penemuan Andrew Fire dan Craig Mello tentang RNAi sebagai mekanisme dasar untuk regulasi ekspresi gen. RNAi bekerja dengan cara melakukan pembungkaman gen, mendegradasi mRNA pada protein tertentu melalui aksi RNA untai ganda dan berbagai reaksi biokimia kompleks. siRNA menjadi bukti bahwa metode pembungkaman gene merupakan terapi yang inovatif dan dapat digunakan di masa depan.¹¹

Mekanisme jalur interferensi RNA dimulai dari RNA untai ganda yang dibelah oleh Dicer menjadi siRNA. siRNA ini kemudian akan berikatan dengan protein argonaute-2 (AGO2) serta protein lainnya dan membentuk kompleks *RNA-induced silencing complex* (RISC). siRNA akan mengenali dan mengarahkan RISC untuk berikatan pada mRNA komplementer dan memandu pembelahannya. Ketika diterapkan secara artifisial melalui nanopartikel, siRNA akan masuk ke dalam sel, membentuk endosom awal, dan kemudian mengalami pelepasan endosom, siRNA akan terlepas ke sitoplasma di mana mereka akan bergabung dengan RISC, yang selanjutnya akan berikatan dan mendegradasi mRNA target. Pembelahan ini dikatalisis oleh protein argonaute-2 (AGO2) (Gambar 2).¹²



Gambar 2. Mekanisme Jalur interferensi RNA¹²

Wu et al dan Li et al menggunakan pendekatan siRNA serupa pada RNA virus SARS-CoV-1, yang merupakan homolog dari virus SARS-CoV-2, untuk menghambat ekspresi protein virus dalam sel yang terinfeksi. Mereka melaporkan bahwa setelah masuknya partikel virus, interaksi RNA virus

dengan siRNA mengakibatkan degradasi RNA virus dan memblokir replikasi virus serta penyebaran partikel SARS-CoV-1.¹³

Fenomena RNAi telah banyak dimanfaatkan untuk menyembuhkan kanker, penyakit neurodegeneratif, dan beberapa penyakit langka. Administrasi makanan dan obat-obatan Amerika Serikat (FDA) baru-baru ini menyetujui tiga produk siRNA untuk digunakan manusia yang menjadi harapan signifikan dalam terapi siRNA terhadap virus SARS-CoV-2.¹⁴

Potensi Penggunaan SiRNA pada COVID-19

Target siRNA terhadap penyakit COVID-19 berpotensi diarahkan pada dua kategori target yang berbeda. Target pertama adalah faktor *host* yang terlibat dalam masuk dan perkembangannya virus. Target lainnya adalah protein virus yang penting dalam kelangsungan hidup serta replikasi SARS-CoV-2.¹⁵

Pada target *host*, proses autofagi dan jalur endositik menjadi target RNAi. Pada tahun 2012, Bernasconi et al melaporkan peran baru dari *non-lipidated Light-Chain 3* (LC3), yang dikenal sebagai protein autofagi, dalam *Endoplasmic Reticulum Associated Degradation* (ERAD). Virus CoV menggunakan LC3 untuk replikasi. Oleh karena itu, membungkam LC3 dapat menghambat replikasi virus berdasarkan penelitian *in vivo* yang dilakukan pada *Mouse Hepatitis Virus* (MHV), yang dikenal sebagai prototipe CoV.¹⁶

Komponen jalur endositik telah diusulkan menjadi target penting dalam pengembangan strategi terapeutik pada semua spesies keluarga CoV.¹⁶ SARS-CoV-2 menggunakan ACE2 sebagai reseptor untuk internalisasi virus. ACE2 yang dibelah oleh TMPRSS2 meningkatkan internalisasi SARS-CoV-2. Penargetan ACE2 oleh siRNA memiliki potensi dan manfaat sebagai terapi strategi dalam menghadapi COVID-19.¹⁵

Pada target virus, empat protein struktural yang dikodekan oleh virus (S, E, M, dan N) semuanya menjadi target siRNA yang potensial. Dari keempatnya, glikoprotein S merupakan target utama untuk pengembangan vaksin dan pengobatan. S-glikoprotein adalah protein 150 kDa yang mengandung domain fusi, domain transmembran, dan *Receptor Binding Domain* (RBD) yang berinteraksi dengan domain peptidase ACE2. Penargetan glikoprotein S dengan menggunakan RNAi berpotensi mengurangi jumlahnya di dalam sel, menyebabkan perakitan virus menjadi kurang optimal, dan dapat menurunkan daya penularannya.^{12,15}

Selain protein S, protein struktural E, M, dan N juga terlibat dalam pembentukan lapisan virus dan

merupakan target RNAi. Protein E adalah protein esensi kecil 8-12 kDa yang berguna untuk perakitan dan pelepasan virus. Protein M ditemukan di virion sebagai dimer dan berguna untuk mempertahankan kelengkungan membran virus serta membentuk ikatan dengan nukleokapsid. Protein N adalah bagian dari nukleokapsid dengan masing-masing domain dapat berikatan dengan RNA melalui residu terfosforilasi. Semua protein ini adalah target potensial untuk terapi RNAi terhadap SARS-CoV-2.^{12,15}

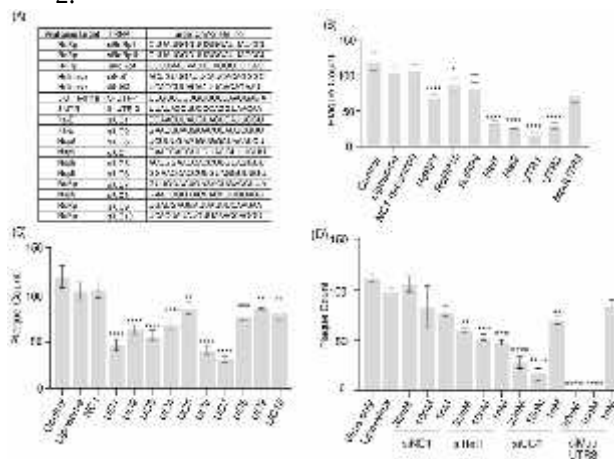
Li et al melaporkan penggunaan siRNA pada primata yaitu kera Rhesus (*Macaca mulatta*) yang terinfeksi SARS-CoV sebagai model. Mereka melaporkan bahwa setelah terjadi infeksi pada kera model, dua siRNA duplex siSC2 dan siSC5 yang menargetkan protein spike dan protein non struktural-12 (ORF1b) pada daerah pengkodean genom SARS-CoV yang diberikan secara intranasal memberikan hasil yang sangat baik, yaitu mengurangi demam, mengurangi SARS-CoV load, dan mengurangi gejala akut kerusakan alveoli pada kera model tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa *sequence specific targeting* genom virus adalah kekuatan terapi siRNA antivirus.¹⁷

Pada percobaan Gu et al yang dilakukan secara *in vitro* dan *in vivo* pada hamster Suriah dan kera Rhesus dengan SiRNA, menjadikan RdRp sebagai targetnya⁹. RdRp adalah komponen inti dalam memediasi replikasi virus. Pembungkaman gen RdRp yang bermaksud untuk memperlambat pertumbuhan SARS-CoV-2 mungkin menjadi pilihan yang menjanjikan. Di sini, langkah-langkah berbasis bioinformatika yang meyakinkan dan ekstensif dilakukan untuk merancang siRNA terhadap RdRp SARS-CoV-2.¹⁸

Selain itu, terdapat percobaan lain yang mengembangkan siRNA untuk menargetkan gen ORF-128 dan RdRp29, yang masing-masing dilakukan secara *in vitro* dan *in vivo*. Semua penelitian yang menggunakan siRNA dilaporkan dapat menekan aktivitas gen secara efektif terhadap SARS-CoV-2, hal ini menunjukkan siRNA sebagai pendekatan yang menjanjikan untuk mengobati COVID-19.⁹

Untuk menentukan keefektifan RNAi terhadap SARS-CoV-2, Kandidat siRNA teratas dipilih untuk skrining terhadap SARS-CoV-2. Sel-sel VeroE6 diberi perlakuan awal tanpa (Liposom, Lipo+virus) atau dengan 30nM siRNA yang dikomplekskan dengan Lipofectamine 2000 selama 24 jam sebelum infeksi. Dari pendekatan bioinformatika yang ketat ini, 18 siRNA dipilih (Gambar 3A). Beberapa siRNA ditargetkan ke wilayah seperti pada RdRp, Helicase (Hel), dan 5'UTR. Penargetan siRNA ini kemudian menampilkan berbagai efek pada SARS-

CoV-2 *in vitro* (Gambar 3B-C), dengan siRNA Hel1, Hel2, siUC7 dan siUTR3 menunjukkan represi ekspresi virus yang paling kuat serta terdapat pula hasil pemberian siRNA yang telah disesuaikan dosisnya (Gambar 3D). Kandidat siHel1 dan siHel2 berada dalam wilayah yang sangat terkonservasi dan dapat menargetkan SARS-CoV-1 dan SARS-CoV-2.⁸



Gambar 3. Skrining SiRNA terhadap SARS-CoV-2⁸

Sistem Pengantaran SiRNA

siRNA yang berfungsi dalam pembungkaman gen memiliki potensi yang tinggi sebagai terapi terhadap infeksi virus. Namun, siRNA masih memiliki tantangan dan hambatan dalam pengirimannya di dalam tubuh.²⁰ siRNA memiliki sifat makromolekul hidrofilik bermuatan negatif sehingga mereka tidak dapat melintasi membran biologis melalui difusi untuk mencapai tempat kerjanya, yaitu sitoplasma sel target. Sistem pengiriman yang cerdas dibutuhkan untuk melindungi siRNA yang relatif labil dari degradasi enzimatik, serta untuk memediasi penyerapan seluler dan melepaskan asam nukleat di dalam sel.¹²

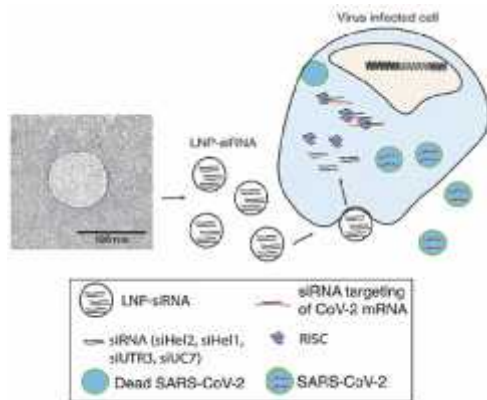
Dalam beberapa kasus, virus patogen seperti adenovirus, telah digunakan sebagai pembawa siRNA untuk memastikan perlindungan siRNA. Tetapi masalah utama yang terkait dengan pengiriman berbasis virus adalah respons imun tubuh terhadap virus yang diberikan. Pada beberapa lentivirus juga terjadi penyisipan acak dalam kromosom yang menyebabkan disfungsi gen. Oleh karena itu, metode pengiriman yang efisien, tidak beracun, biokompatibel, dan bertarget tetap menjadi tujuan mendesak.¹⁷

Masalah pengiriman siRNA ini dapat diatasi secara signifikan menggunakan *nanocarrier* canggih yang menawarkan keuntungan luar biasa karena sangat baik dalam mengurangi degradasi enzimatik dan sekuestrasi atau pengurungan siRNA sebagai benda asing oleh sistem retikuloendotel.¹⁷ Sejumlah besar *nanocarrier* organik, anorganik dan logam seperti

silika, emas, dendrimer, nanopartikel polimer, dan lipid telah dilaporkan untuk pengiriman biomolekul terapeutik *in vivo* yang ditargetkan. Namun, di antara ini, lipid dianggap sebagai bahan yang menjanjikan untuk merancang *nanocarrier* multifungsi untuk pengiriman siRNA karena biokompatibilitas dan sifat biodegradasi yang lebih baik.¹⁷

Nanopartikel lipid telah diakui sebagai sistem pengiriman siRNA yang paling mahir. Berbagai jenis *nanocarrier* lipid telah digunakan untuk pengiriman siRNA termasuk nanopartikel lipid padat, lipid berstruktur nano dan liposom. Gomes-da-Silva et al telah melaporkan bahwa lipid *nanocarrier* melindungi siRNA dari nuklease serum, memperpanjang sirkulasi mereka dan meningkatkan akses mereka ke situs target.¹⁷

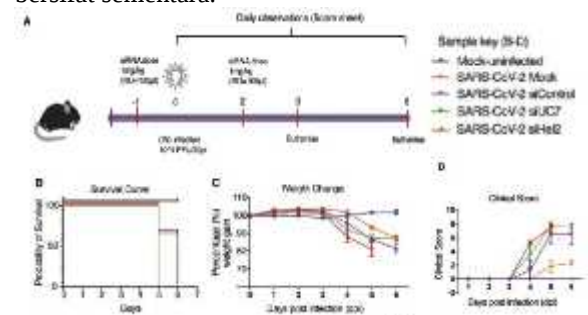
Lipid Nanoparticle siRNAs (LNP-siRNAs), baik sLNP-siRNAs atau dmLNP-siRNAs yang mengandung siRNA (siHel2, siUTR3, siHel1, dan siUC7) ditargetkan ke RNA SARS-CoV-2. Hasilnya menunjukkan bahwa, ketika LNP-siRNA diambil dalam sel yang terinfeksi virus SARS-CoV-2, siRNA melibatkan kompleks RNAi RISC dan menargetkan RNA SARS-CoV-2 untuk degradasi yang mengakibatkan hilangnya partikel infeksius yang dihasilkan dalam sel yang terinfeksi virus⁸ (Gambar 5).



Gambar 4. Terapi SiRNA terhadap infeksi SARS-CoV-2 menggunakan sistem pengiriman LNP¹⁷

Enkapsulasi siRNA dalam LNP yang di injeksi *in vivo* pada tikus menunjukkan represi atau penekanan virus yang kuat di paru-paru dan memberikan keuntungan memperpanjang kelangsungan hidup pada tikus yang diobati. Untuk menunjukkan kemampuan LNP-siRNAs dalam menekan secara fungsional SARS-CoV-2, tikus K18-hACE2 diperlakukan dengan diberi formulasi *Stealth* LNP (sLNP)-siRNA secara intravena sehari sebelum dan 2 hari setelah inokulasi dengan 1.10^4 PFU virus. Ditemukan bahwa, pada tikus yang terinfeksi SARS-CoV-2 tetapi tidak diobati yang diwakili oleh garis merah memiliki potensi kelangsungan hidup lebih

rendah dibandingkan dengan tikus yang diobati dengan sLNP-siRNA, serta sLNP-siHel2 yang diwakili oleh garis jingga menunjukkan hasil yang paling baik dalam meningkatkan potensi kelangsungan hidup tikus yang terinfeksi SARS-CoV-2 (Gambar 6B). Tikus yang diberikan intervensi sLNP-siRNA (kontrol, sLNP-siUC7, sLNP-siHel2) yang diwakili oleh garis ungu, hijau, dan jingga menunjukkan penurunan berat badan yang lebih sedikit daripada tikus yang terinfeksi virus tetapi tidak diobati yang diwakili oleh garis merah (Gambar 6C). Kemudian, skor manifestasi klinis pada tikus yang diobati dengan sLNP-siRNA (kontrol, sLNP-siUC7, sLNP-siHel2) yang diwakili oleh garis ungu, hijau, dan jingga secara keseluruhan lebih rendah bila dibandingkan dengan tikus yang terinfeksi virus tetapi tidak diobati yang diwakili oleh garis merah, serta sLNP-siHel2 menunjukkan hasil yang paling baik (Gambar 6D). Secara kolektif, semua data ini menunjukkan bahwa, sLNP-siRNA yang disuntikkan dapat menekan SARS-CoV-2 *in vivo* dan menunda timbulnya gejala COVID-19, data juga menunjukkan bahwa siHel2 merupakan siRNA yang paling kuat untuk menekan ekspresi virus saat diberikan secara intravena yang diformulasikan dengan sLNP⁸. Akan tetapi, pada tikus yang diobati dengan sLNP-siUC7 dan sLNP-siHel2 secara fungsional menekan SARS-CoV-2 *in vivo* pada hari ke-3 berdasarkan analisis pertumbuhan virus dari paru-paru (Gambar 6D), tetapi efek ini hilang pada hari ke-6 yang menunjukkan bahwa efek represif dari siRNA bersifat sementara.⁸



Gambar 5. Represi sLNP-siRNA yang diberikan secara intravena terhadap COVID-19 *in vivo*⁸

Tantangan SiRNA sebagai agen terapi

Terapi siRNA merupakan alat potensial dari jalur RNAi untuk mengendalikan infeksi virus manusia secara efisien dengan menghambat replikasi virus RNA dan ekspresi antigen virus. Terapi antivirus siRNA memiliki banyak keunggulan dibandingkan obat anti virus dan vaksin konvensional karena terapi siRNA memiliki tindakan yang cepat dengan efisiensi tinggi dan spesifisitas pada berbagai tahap infeksi virus. Sejumlah siRNA sub-stoikiometri saja sudah cukup secara drastis menurunkan *viral load* RNA dalam 24 jam, dan dapat secara selektif menghambat gen tertentu.¹⁷

Namun, represi siRNA dari SARS-CoV-2 tampaknya bersifat sementara, dan efek dari penekanan virus hilang setelah 48 jam, hal ini menunjukkan bahwa formulasi LNP-siRNA sebagai agen terapeutik, kemungkinan besar akan memerlukan rejimen intravena setiap hari selama infeksi virus puncak. Modifikasi siRNA diperlukan untuk mengurangi stimulasi imun, peningkatan spesifisitas, dan meningkatkan waktu paruh siRNA. Modifikasi 2'-O-Methyl dan phosphorothioate disarankan dapat meningkatkan stabilitas siRNA.⁸ Optimalisasi lebih lanjut dari modifikasi semacam itu kemungkinan besar akan memberikan siRNA yang sangat kuat, aman, dan stabil untuk pengiriman *in vivo*.

Simpulan

Pandemi COVID-19 terus menyebar dan mendesak berbagai perusahaan bioteknologi, lembaga penelitian, dan pemerintah untuk mengkonsolidasikan upaya mereka dalam pengembangan pendekatan terapeutik yang manjur terhadap SARS-CoV-2. Penggunaan siRNA dianggap sebagai agen terapi antivirus yang kuat karena degradasi spesifik urutan RNA target (virus) dengan spesifisitas dan kemanjuran yang tinggi. Kami menyarankan untuk melakukan lebih banyak lagi sistem *in vivo* mengenai administrasi siRNA agar dapat menjadi teknologi dimasa mendatang yang stabil dan relatif aman, serta memiliki banyak hal untuk ditawarkan sebagai terapi untuk secara khusus menargetkan SARS-CoV-2 dan mengobati COVID-19.

Daftar Pustaka

1. United Nations. Health - United Nations Sustainable Development [Internet]. United Nations Sustainable Development. 2018.
2. World Health Organization. WHO COVID-19 dashboard [Internet]. covid19.who.int. 2021.
3. World Health Organization. Novel Coronavirus
4. Harrison AG, Lin T, Wang P. Mechanisms of SARS-CoV-2 Transmission and Pathogenesis. Trends Immunol [Internet]. 2020;41(12):1100–15.
5. Singhal T. A Review of Coronavirus Disease-2019 (COVID-19). Indian J Pediatr. 2020;87(4):281–6.
6. Ouassou H, Kharchoufa L, Bouhrim M, Daoudi NE, Imtara H, Bencheikh N, et al. The Pathogenesis of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Evaluation and Prevention. J Immunol Res. 2020;2020.
7. Ghosh S, Mohammad Firdous S, Nath A, Professor A. Letter to the editor: siRNA COULD BE A POTENTIAL THERAPY FOR COVID-19. EXCLI J [Internet]. 2020;19:528–31.
8. Idris A, Davis A, Supramaniam A, Acharya D, Kelly G, Tayyar Y, et al. A SARS-CoV-2 targeted siRNA-nanoparticle therapy for COVID-19. Mol Ther [Internet]. 2021;29(7):2219–26.
9. Medeiros IG, Khayat AS, Stransky B, Santos S, Assumpção P, Estefano J, et al. A small interfering RNA (siRNA) database for SARS-CoV-2. Sci Reports [Internet]. 2021;11:8849.
10. Nikam, R. R., & Gore KR. Journey of siRNA: Clinical Developments and Targeted Delivery. Nucleic Acid Ther [Internet]. 2018;28(4):209–24.
11. Rinaldi A. RNA to the rescue . EMBO Rep. 2020;21(7):1–6.
12. Mehta A, Michler T, Merkel OM. PROGRESS REPORT www.advhealthmat.de siRNA Therapeutics against Respiratory Viral Infections-What Have We Learned for Potential COVID-19 Therapies? 2021
13. Niktab I, Haghparast M, Beigi M-H, Megraw TL, Kiani A GK. Design of advanced siRNA therapeutics for the treatment of COVID-19. Meta Gene [Internet]. 2021;
14. Sajid MI, Moazzam M, Cho Y, Kato S, Xu A, Way JJ et al. siRNA Therapeutics for the Therapy of COVID-19 and Other Coronaviruses. Mol Pharm [Internet]. 2021;18(6):2105–21.
15. Uludağ H, Parent K, Aliabadi HM, Haddadi A. Prospects for RNAi Therapy of COVID-19. Front Bioeng Biotechnol. 2020;8(July):1–15.
16. Yang N, Shen H-M. Targeting the Endocytic Pathway and Autophagy Process as a Novel Therapeutic Strategy in COVID-19. Int J Biol Sci [Internet]. 2020;2020(10):1724–31.
17. Ullah A, Qazi J, Rahman L, Kanaras AG, Khan WS, Hussain I, et al. Nanoparticles-assisted delivery of antiviral-siRNA as inhalable treatment for human respiratory viruses: A candidate approach against SARS-COV-2. 2020;
18. Mahfuz Ali Khan Shawan M, Ranjan Sharma A, Bhattacharya M, Mallik B, Akhter F, Salman Shakil M, et al. Designing an effective therapeutic siRNA to silence RdRp gene of SARS-CoV-2 siRNA Post-transcriptional gene silencing SARS-CoV-2 RNA-dependent RNA polymerase. 2021;
19. Hasan M, Ashik AI, Chowdhury MB, Tasnim AT, Nishat ZS, Hossain T, et al. Computational prediction of potential siRNA and human miRNA sequences to silence orf1ab associated genes for future therapeutics against SARS-CoV-2. Informatics Med Unlocked [Internet]. 2021;24:100569.

20. Dana H, Chalbatani GM, Mahmoodzadeh H, Karimloo R, Rezaiean O, Moradzadeh A, et al. Molecular Mechanisms and Biological Functions of siRNA. Int J Biomed Sci [Internet]. 2017;13(2):48–57.
21. Robert K, Arkadiusz D. Molecular and Serological Tests for COVID-19 . A Comparative Review of SARS-CoV-2 Coronavirus Laboratory and Point-of-Care Diagnostics. Diagnostics. 2020;10(6)

