

POTENSI *SMALL INTERFERENCE RNA* (siRNA) INHALASI DALAM MENGHAMBAT REPLIKASI DAN TRANSKRIPSI SARS-CoV-2

Putri Mahirah Afladhanti¹, Fara Syafira¹, Raehan Satya Deanasa¹

¹Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya

ABSTRAK

Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) adalah penyakit menular disebabkan oleh *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2) yang menginfeksi sistem pernapasan, pencernaan, dan saraf dengan penularan yang cepat dan mortalitas cukup tinggi. Namun, hingga saat ini belum ada terapi khusus untuk mengobati COVID-19. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa *small interference RNA* (siRNA) diketahui memiliki efikasi yang baik mengobati infeksi virus DNA dan RNA. Tinjauan pustaka ini bertujuan untuk mengetahui potensi inhalasi siRNA dalam menghambat replikasi dan transkripsi SARS-CoV-2. Literatur dicari menggunakan mesin pencari seperti *Google Scholar*, *Science Direct*, *ResearchGate*, dan *National Centre for Biotechnology Information* (NCBI). Kriteria inklusi dan eksklusi digunakan untuk mengeliminasi jurnal yang tidak berhubungan sehingga diperoleh 46 jurnal. Hasil penelitian menunjukkan bahwa siRNA berpotensi menghambat replikasi dan transkripsi SARS-CoV-2 melalui pendekatan *gene silencing*. siRNA memiliki keunggulan seperti ketahanan ekspresi, efek penghambatan spesifik, efisiensi pada konsentrasi lebih rendah, dan toksisitas rendah. Penggunaan PEG-AuNP sebagai sistem penghantaran siRNA secara inhalasi dapat menurunkan toksisitas dan meningkatkan konsentrasi siRNA. Oleh karena itu, terapi siRNA melalui inhalasi berbasis PEG-AuNP *carrier* perlu dipertimbangkan untuk terapi COVID-19. Studi klinis lebih lanjut mengenai sistem pengiriman yang ideal dan dosis optimal siRNA berbasis PEG-AuNP melalui inhalasi untuk COVID-19 diperlukan.

Kata kunci: *small interference RNA* (siRNA), *polyethylene glycol-coated gold nanoparticles* (PEG-AuNP), replikasi dan transkripsi SARS-CoV-2

ABSTRACT

Coronavirus disease 2019 (COVID-19) is an infectious disease caused by *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2) infects the respiratory, digestive, and nervous systems with rapid transmission and high mortality. However, heretofore there is no specific therapy to treat COVID-19. Previous studies have shown that *small interference RNA* (siRNA) is known to have good efficacy in DNA and RNA viral infections. This literature review aimed to investigate the potential of inhaled siRNA in inhibiting the replication and transcription of SARS-CoV-2. Literature was searched using *Google Scholar*, *Science Direct*, *ResearchGate*, and *National Centre for Biotechnology Information* (NCBI). Inclusion and exclusion criteria were used to eliminate unrelated journals thus 46 journals were obtained. The results showed that siRNA has the potential to inhibit the replication and transcription of SARS-CoV-2 through a *gene silencing* approach. siRNA had several advantages such as robustness of expression, specific inhibitory effect, efficiency at lower concentrations, and low toxicity. The use of PEG-AuNP as a siRNA delivery system by inhalation can reduce toxicity and increase siRNA concentration. Therefore, siRNA therapy through inhalation based on PEG-AuNP carriers needs to be considered for COVID-19 therapy. Further clinical study about ideal delivery system and optimal dosage of inhaled siRNA based PEG-AuNP for COVID-19 are needed.

Keywords: *small interference RNA* (siRNA), *polyethylene glycol-coated gold nanoparticles* (PEG-AuNP), SARS-CoV-2 replication and transcription

Korespondensi: putrimahirah2022@gmail.com

Pendahuluan

Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) merupakan penyakit infeksi jenis baru yang disebabkan oleh virus *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2). SARS-CoV-2 termasuk dalam jenis virus RNA rantai tunggal positif kelompok β -*coronavirus* yang merupakan satu famili dengan *severe acute respiratory syndrome coronavirus* (SARS-CoV) dan *Middle-East respiratory syndrome coronavirus* (MERS-CoV).¹ Virus ini menyerang sistem pernafasan, pencernaan, dan persarafan dengan proses penularan yang cepat serta angka kematian yang cukup tinggi.² Berdasarkan data dari *World Health Organization* (WHO) hingga 12 Februari 2023 kasus COVID-19 terkonfirmasi global mencapai 672.581.763 kasus dengan 6.852.711 jiwa meninggal dunia, sementara di Indonesia telah mencapai 6.732.799 kasus dan 160.843 kasus meninggal dunia.^{3,4}

Penggunaan kombinasi *repurposed drug* masih menjadi terapi yang digunakan pada pasien COVID-19 yang memiliki gejala berat dan dirawat di rumah sakit.⁵ Beberapa *repurposed drug* seperti molnupiravir, remdesivir, lopinavir, *hydroxychloroquine*, dan interferon tidak menargetkan virus secara khusus sehingga kespesifikan terhadap SARS-CoV-2 belum terbukti.^{6,7}

Beberapa dekade terakhir penelitian terapi target dengan pendekatan biomolekular seperti CRISPR-Cas12/13 berbasis SHERLOCK, DETECTR, CARVER dan PAC-MAN, ASO, *antisense peptide nucleic acids*, *ribozymes*, *aptamers*, dan RNAi *silencing therapy* banyak dikembangkan.^{8,9} Salah satu terapi gen yang berpotensi pada pengobatan COVID-19 adalah *small interference RNA* (siRNA). siRNA merupakan molekul dsRNA *non-coding* yang

memiliki panjang 21-25 bp. siRNA memiliki beberapa kelebihan dibanding terapi gen lainnya seperti stabilitas dan penghantaran yang baik, spesifitas dan efisiensi yang tinggi, serta toksisitas yang rendah.¹⁰ siRNA sebagai terapi biologi molekular berbasis pengeditan gen bekerja dengan menargetkan mRNA untuk mensupresi transkripsi genom virus dan memblokir replikasi virus.¹¹ Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, siRNA diketahui memiliki efikasi yang baik pada penyakit infeksi virus DNA dan RNA seperti SARS, MERS, ebola, influenza, hepatitis C, hepatitis B, rabies, dan chikungunya.^{12,13}

Pada terapi SARS-CoV-2, diperlukan suatu terapi dalam bentuk inhalasi untuk menurunkan toksisitas dan meningkatkan konsentrasi siRNA dalam mencapai epitel paru yang terinfeksi. Selain itu, pemberian secara inhalasi juga dapat meningkatkan bioavailabilitas yang lebih tinggi dan waktu paruh yang lebih lama dibanding dengan pemberian oral dan intravena.¹⁴ siRNA dapat diberikan secara inhalasi melalui sistem penghantaran nanopartikel. Penggunaan nanopartikel memiliki potensi besar untuk membantu pendistribusian obat dengan berbagai sifat yang dimilikinya seperti ukuran yang kecil sehingga memudahkan penghantaran obat pada tempat yang sulit dicapai.¹⁵ Inhalasi melalui nanopartikel sebagai penghantar obat diketahui memiliki retensi pada paru-paru yang lebih lama dan penetrasi pada lendir mukosa yang lebih baik.¹⁶ Salah satu jenis nanopartikel yakni nanopartikel emas (AuNP) diketahui memiliki biokompatibilitas baik dari segi ukuran, bentuk, stabilitas, dan sifat mudah disintesis.^{15,17} Selain itu, AuNP diketahui memiliki aktivitas antivirus intrinsik yang baik. Berdasarkan penelitian AuNP efektif melawan berbagai jenis virus yakni HIV-1, H1N1, H3N2, H5N1, *hand foot and mouth*

disease (HFMD), dan virus dengue.¹⁶

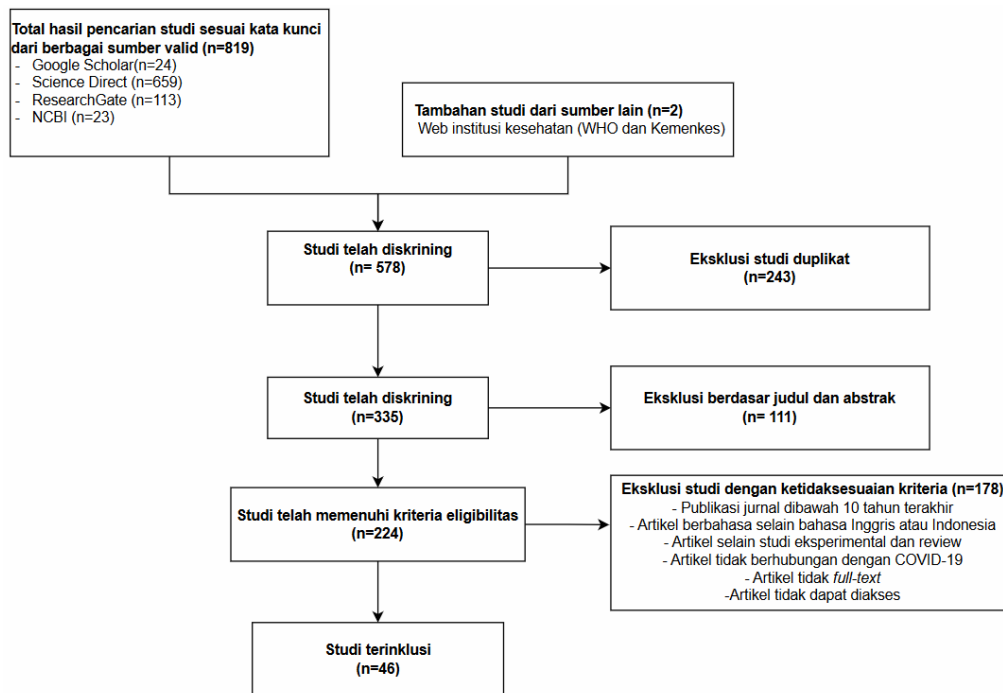
Modifikasi enkapsulasi asam nukleat dalam liposom melalui kondensasi menggunakan bahan polimer seperti *polyethylene glycol* (PEG) dapat meningkatkan sifat sistem nanopartikel dalam meningkatkan efisiensi penghantaran obat.¹⁷ Berdasarkan penelitian oleh Chen *et al.*, tahun 2020 dilaporkan bahwa penggunaan AuNP berlapis PEG (PEG-AuNP) dapat mengurangi klirens obat yang cepat dari sistem retikuloendotelial, memperpanjang waktu sirkulasi obat, dan menghantarkan obat ke target secara efektif dan aman.¹⁸

Berdasarkan tingginya kasus COVID-19 dan belum adanya terapi spesifik COVID-19, maka *literature review* ini dibuat untuk mengetahui potensi siRNA berbasis inhalasi dengan penghantar PEG-AuNP dalam menghambat replikasi dan transkripsi SARS-CoV-2.

Metode

Metode yang digunakan dalam penulisan tinjauan pustaka ini adalah *literature review* dengan menggunakan kata kunci yaitu ("*Small Interference*

RNA") OR (*siRNA*) AND (*Inhalation*) AND ("*Replication and Transcription SARS-CoV-2*") OR ("*Replication and Transcription COVID-19*"). Pencarian literatur dilakukan menggunakan mesin pencari berupa *Google Scholar*, *Science Direct*, *ResearchGate*, dan *National Centre for Biotechnology Information* (NCBI). Kriteria inklusi pada pencarian literatur ini yaitu jurnal penelitian eksperimental secara *in silico*, *in vitro*, dan *in vivo*, serta artikel *review* mengenai penggunaan siRNA dalam menghambat replikasi dan transkripsi SARS-CoV-2 dengan ketentuan publikasi dalam kurun waktu 10 tahun terakhir. Adapun kriteria eksklusi yang digunakan ialah studi yang tidak tersedia dalam bentuk dokumen yang lengkap serta berbahasa selain Indonesia dan Inggris. Dari hasil pencarian literatur, evaluasi kriteria inklusi dan eksklusi dilakukan dengan menilai judul dan abstrak sebagai langkah awal, kemudian teks lengkap ditinjau apabila terdapat korelasi kata kunci satu sama lain pada jurnal sehingga dapat mendukung penulisan deskripsi atau analisis pada *literature review* ini.



Gambar 1. Alur Hasil Penyaringan Studi Inklusi.

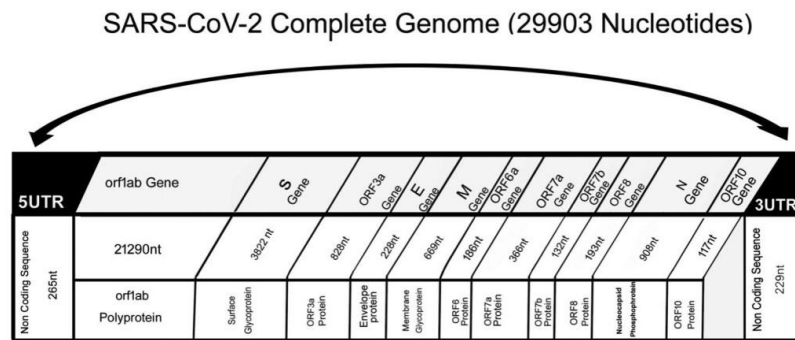
Hasil dan Pembahasan

1. Patogenesis dan Potensi Terapi Target terhadap SARS-COV-2

SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*) merupakan virus RNA strain positif *nonsegmented* yang mengandung struktur 5' *cap* bersama dengan 3' *poly-A tail*.⁸ Respon imun terhadap COVID-19 menyebabkan peningkatan sitokin inflamasi dan kemokin yang dihasilkan dengan sintesis protein dari genom SARS-CoV-2. Setelah terhirup melalui tetesan aerosol yang mengandung virus, SARS-CoV-2 berikatan dengan reseptor ACE2 dari epitel nasal.^{19,20} Infeksi SARS-CoV-2 terjadi melalui proses endositosis pada pengikatan subunit virus S1 dari protein *spike* (S) ke reseptor sel *human angiotensin-converting enzyme-2* (ACE2). Jika penghambatan virus tetap tidak berhasil, virus akan menyebar ke organ lain di tubuh yang memiliki reseptor ACE2, termasuk organ seperti jantung, hati,

ginjal, dan usus. Hal ini memicu aktivasi respon imun bawaan tipe interferon dan peningkatan neutrofil; sitokin pro-inflamasi seperti TNF, IL-6, IL-1 β , dan IL-17 diamati, yang pada akhirnya menyebabkan peradangan.²¹

Dua pertiga dari genom SARS-CoV-2 terdiri dari gen *nonstructural proteins* (Nsp) dan sisanya terdiri dari protein struktural. Protein struktural berasal dari sekuens ORF2 - ORF10 dari SARS-CoV-2 yang mengkode protein *spike* (S), protein membran (M), protein *envelope* (E), dan protein nukleokapsid (N). Protein S, M, dan E terlibat dalam pembentukan dinding virus, sementara protein N terlibat sebagai dinding genom RNA. Protein lainnya dihasilkan sebagai dua poliprotein (ORF1a dan ORF1ab), yang disiapkan menjadi 12 protein nonstruktural oleh tiga protease virus.²² Semua protein ini memiliki peran penting dalam replikasi dan transkripsi, menjadikan masing-masing target obat yang potensial.²¹



Gambar 2. Struktur Genom SARS-CoV-2.

(Sumber: Khailany RA, Safdar M, Ozaslan M, 2020)

Terapi yang bekerja pada SARS-CoV-2 dapat dibagi menjadi beberapa kategori berdasarkan jalur spesifik: (1) pada enzim atau protein fungsional yang penting bagi virus, mencegah sintesis, dan replikasi RNA virus; (2) pada protein struktural virus, menghalangi virus untuk mengikat reseptor sel manusia, atau menghambat proses perakitan virus sendiri; (3) pada faktor penghasil virulensi; (4) pada reseptor atau enzim spesifik inang, mencegah virus masuk ke dalam sel inang.²³ Protein target terkait termasuk Nsp1, Nsp3 (Nsp3b, Nsp3c, PLpro, and Nsp3e), Nsp7–Nsp8 *complex*, Nsp9–Nsp10, dan Nsp14–Nsp16, 3CLpro, *E-channel* (*E protein*), ORF7a, *Spike*, ACE2, *C-terminal RNA binding domain* (CRBD), *N-terminal RNA binding domain* (NRBD), helikase, RdRp, dan TMPRSS2.²³

Mekanisme *RNA interference* (RNAi), sebagai salah satu terapi dengan pendekatan *gene editing*, yaitu *silencing gene* dimana mencegah ekspresi dari gen tertentu yang terkait dengan kanker, infeksi virus, dan penyakit autoimun.⁷ siRNA dapat menginduksi *gene silencing* pasca-transkripsi dengan menghambat mRNA, sehingga memungkinkan untuk mengobati penyakit yang saat ini belum ada obat spesifik yang tersedia.²⁴ Dibandingkan dengan pendekatan terapi gen lainnya, siRNA memberikan beberapa manfaat seperti ketahanan ekspresi, spesifisitas

efek inhibisi, efisiensi tinggi bahkan pada konsentrasi rendah, dan mengurangi toksisitas.²⁵ Lebih jauh, tidak seperti DNA, siRNA tidak perlu dihantarkan ke inti sel, tetapi hanya ke sitoplasma untuk menghasilkan efek terapeutiknya.²² siRNA dapat digunakan dalam mekanisme *silencing gene* SARS-CoV-2 yang mengkode protein struktural dan nonstruktural. Pendekatan *gene silencing* dapat dilakukan untuk mengurangi efek inflamasi di paru-paru dan organ lain yang menyebabkan kematian pada kasus COVID-19 yang parah.²⁶

2. Peran *Small Interference RNA* (siRNA) dalam Menghambat Replikasi dan Transkripsi SARS-CoV-2

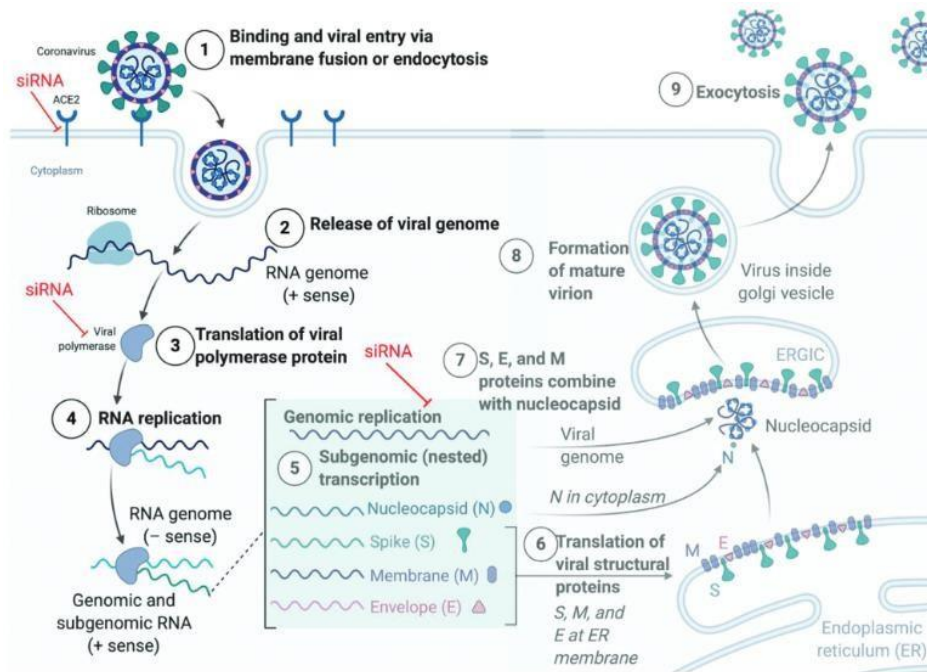
Terapi pengeditan gen berbasis interferensi RNA merupakan pendekatan terapi dengan modifikasi RNA meliputi proses pengaturan pasca-transkripsi, termasuk penyambungan RNA, lokalisasi, stabilitas, dan translasi sehingga terjadi perubahan urutan RNA tersebut tanpa mengubah urutan DNA genomiknya.²⁷ Terapi pengeditan gen berbasis interferensi RNA yang banyak digunakan sebagai terapi mutakhir saat ini ialah siRNA.²⁸ siRNA adalah molekul *double-stranded RNA* (dsRNA) *non-coding* dengan panjang 21–25 bp.⁷ siRNA bersama dengan enzim Argonaute 2 (Ago 2) membentuk *RNA induced silencing complex* (RISC) yang dapat menyebabkan degradasi

target mRNA sehingga proses transkripsi dapat dihambat.^{7,29}

siRNA telah menunjukkan beberapa potensi terapeutik terhadap infeksi virus di saluran pernapasan dan beberapa penyakit lainnya.²⁷ siRNA memiliki peran dalam *gene silencing* SARS-CoV-2 melalui protein struktural maupun protein nonstruktural. Genom dari SARS-CoV-2 mengkodekan empat protein struktural yang penting dalam perakitan virus dan penghambatan replikasi virus pada manusia.⁷ siRNA memiliki afinitas kuat terhadap protein S sehingga dapat menghambat replikasi virus.²⁶ SARS-CoV-2 memiliki 15 Nsp, Nsp1 hingga Nsp10 dan Nsp12 hingga Nsp16 yang dikodekan oleh gen ORF1ab dan ORF1a. Nsp3, *papain-like protease*, bertanggung jawab dalam memecah poliprotein 1a untuk pembuatan Nsp1, Nsp2, dan Nsp3. Nsp5 (terutama *3C-like protease*) dan Nsp12 (*RNA-dependent RNA polymerase*) berperan mengatur replikasi virus. Kompleks Nsp10/ Nsp16 dan Nsp10/ Nsp14 memfasilitasi aktivitas metiltransferase. Sedangkan Nsp9 dan Nsp10 diketahui dapat menginduksi IL-8 dan IL-6 melalui *NF-κB-repressing factor* (NKRFB), penting untuk homeostasis nukleolus dan kelangsungan hidup sel, yang ditargetkan dalam sel epitel paru-paru. Dengan menargetkan Nsp9 dan Nsp10 dalam agen terapi siRNA, induksi IL-8/IL-6 dapat dikurangi, sehingga meminimalkan kerusakan paru oleh respon inflamasi. siRNA dengan menargetkan Nsp memiliki potensi dalam penghambatan replikasi virus dan

perbaikan klinis pasien.⁷ Selain itu, siRNA dapat dirancang untuk menghambat interaksi inang-virus dengan menargetkan faktor pada inang seperti reseptor ACE2 atau genomik dan subgenomik RNA.²⁸

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Khaitov *et al.* tahun 2021 bahwa siRNA memiliki efek dalam mengurangi *viral load* secara signifikan dan mengurangi peradangan paru-paru pada hamster yang diinfeksi SARS-CoV-2 dengan 3,453 mg/kg/hari sebagai dosis optimal melalui pemberian inhalasi.³⁰ siRNA sebelumnya telah dikembangkan sebagai terapi profilaksis dan kuratif untuk virus SARS-CoV, influenza H5N1, dan infeksi virus pernapasan lainnya.²⁸ siRNA telah terbukti sangat efektif dalam menghambat virus herpes simpleks (HSV) dan *respiratory syncytial virus* (RSV) pada model hewan.³⁰ Pada penelitian eksperimental pengobatan SARS-CoV dan MERS-CoV yang telah dilakukan oleh Coleman *et al.* tahun 2016 menunjukkan bahwa siRNA menurunkan level ABL1 dan ABL2 dalam sel Vero E6 menyebabkan penghambatan yang cukup besar untuk replikasi SARS-CoV dan MERS-CoV.³¹ Dibandingkan dengan pendekatan terapi gen lainnya, siRNA memberikan beberapa manfaat seperti ketahanan ekspresi, spesifisitas, dan efisiensi yang tinggi bahkan pada konsentrasi yang rendah serta memiliki toksisitas rendah.³²



Gambar 3. Target terapi siRNA dan mekanismenya dalam menghambat replikasi dan transkripsi SARS-CoV-2. (Sumber: Mehta A, Michler T, Merkel OM, 2021)

siRNA dapat diberikan pada pasien COVID-19 melalui rute paru-paru secara inhalasi.⁷ Pada pemberian inhalasi siRNA dapat diformulasikan menjadi aerosol cair yang dihasilkan oleh inhaler, nebulizer, atau sebagai aerosol bubuk kering.³² Berbeda dengan pemberian secara sistemik, rute paru-paru memungkinkan akses obat baik ke semua wilayah sistem pernapasan secara luas, bioavailabilitas sistemik yang dimediasi oleh banyaknya pasokan darah paru-paru, aksi obat yang cepat, serta distribusi langsung ke target organ dapat mengurangi efek samping sistemik. Oleh karena itu, siRNA secara inhalasi dipilih sebagai terapi yang sesuai untuk pasien COVID-19.²⁸

3. Penghantaran *Small Interference RNA (siRNA)* Secara Inhalasi

Paru-paru rentan terhadap sejumlah penyakit tertentu karena berkaitan dengan lokasi dan fungsinya yang secara langsung dapat terpapar oleh zat serta patogen berbahaya.³² Salah satu penyakit infeksi pada paru-

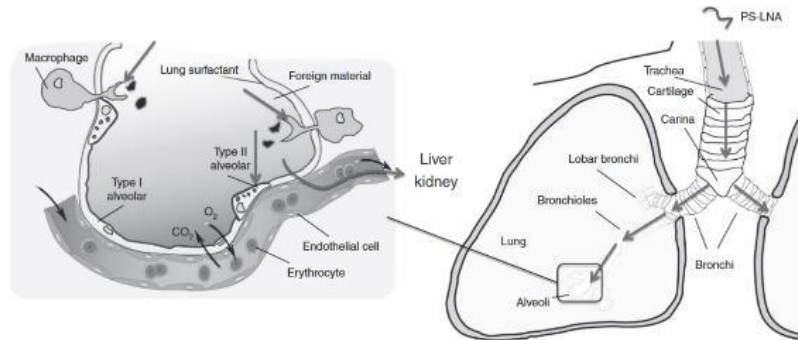
paru dengan morbiditas dan mortalitas yang tinggi saat ini ialah COVID-19 yang diakibatkan oleh infeksi virus SARS-CoV-2. COVID-19 menyebabkan kerusakan utamanya pada sel-sel paru dengan tampilan sebagai pneumonia viral.³³ Oleh karena itu, paru-paru dapat menjadi salah satu target terapeutik organ pada penyakit infeksi saluran pernafasan khususnya infeksi SARS-CoV-2.⁸

Paru-paru dapat dijadikan sebagai target terapeutik organ. Hal ini dikarenakan paru-paru memiliki luas permukaan yang besar dan perfusi sangat baik (5 l/menit), epitel yang sangat tipis (0,1–0,2 m), volume darah yang tinggi di kapiler paru (0,25 L), aktivitas enzim yang rendah, dan pembersihan permukaan yang lambat.³² Paru-paru sebagai target terapeutik memberikan akses langsung ke alveoli dan parenkim paru-paru untuk mengobati gangguan paru-paru secara noninvasif. Selain itu, pemberian obat secara inhalasi pada organ terkait dapat menghindari perubahan oleh enzim yang terjadi di usus dan hati maupun

degradasi sistemik yang terjadi pada pemberian secara oral dan efek samping yang lebih tinggi pada pemberian intravena.³⁴

Agen terapi siRNA memiliki hambatan biologis dalam mencapai mukosa epitel paru. Hambatan tersebut

berupa struktur saluran udara yang bercabang secara luas dengan panjang dan diameter yang bervariasi, diikuti oleh adanya cairan paru-paru, seperti lendir dan surfaktan, serta mekanisme pertahanan mukosiliar termasuk makrofag alveolar.³²



Gambar 4. Ilustrasi penghantaran intratrakeal dan penangkapan makrofag dari PS-LNA di paru. PS- LNA terakumulasi dalam makrofag dan sel alveolar yang selanjutnya memfasilitasi migrasi sistemik ke ginjal dan hati. Ket: LNA, *locked nucleic acid*; PS, *phosphorothioate*. (Sumber: Moschos *et al.*, 2011)

Untuk meningkatkan stabilitas dan efikasi, siRNA dapat dimodifikasi dengan sistem penghantar yang sesuai.³² Pada penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, diketahui bahwa AuNP yang terkonjugasi dengan siRNA mampu menargetkan gen virus tertentu dan terjadi peningkatan stabilitas dibandingkan dengan siRNA yang tidak terkonjugasi. siRNA memiliki ukuran yang kecil dan bersifat anionik sehingga rentan terhadap degradasi oleh nuklease serum dan eliminasi yang cepat. Konjugasi siRNA dengan AuNP mengurangi kedua efek merugikan tersebut.³⁵

Optimalisasi sistem penghantaran dan desain siRNA adalah pertimbangan penting yang perlu diperhatikan untuk memungkinkan aplikasi klinis terapi gen berbasis RNA ke paru-paru. Kemajuan dalam nanoteknologi memberikan solusi potensial untuk tantangan penghantaran siRNA, khususnya persyaratan untuk melintasi hambatan biologis dan penghantaran intraseluler transmembran.^{35,36}

4. Peran Nanopartikel Emas Berlapis Poliethylene Glycol (PEG-AuNP) sebagai Sistem Penghantar siRNA Melalui Inhalasi

Nanopartikel emas (AuNP) merupakan *nanocarrier* koloid yang sering digunakan di bidang medis karena biokompatibilitasnya yang sangat baik, stabilitas kimia dan fisiknya yang tinggi, dan mudah difungsikan dengan molekul atau atom organik yang aktif secara biologis.³⁵ AuNP dapat langsung berkonjugasi dan berinteraksi dengan beragam molekul yang mengandung protein, obat-obatan, antibodi, enzim, asam nukleat (DNA atau RNA), dan pewarna fluoresen di permukaannya, untuk beragam aplikasi medis dan aktivitas biologis.³⁷

Dalam penghantaran obat antiviral melalui inhalasi, ukuran nanopartikel harus dalam kisaran 3 nm - 7nm.³⁸

Partikel berukuran nano memiliki karakteristik deposisi yang ideal untuk penghantaran ke daerah alveolar paru, mengendap secara luas, dan menyebar lebih merata di paru-paru. Penghantaran obat dalam partikel berukuran nano memberikan keuntungan tambahan yaitu dapat lolos dari pembersihan makrofag dan menembus epitel maupun menuju sel target terapi di paru-paru.³⁹

Penelitian Kjems dan Howard tahun 2012 menyoroti pentingnya siRNA dengan reagen pengiriman seperti lipid dan *polyplexes* untuk meningkatkan efisiensi *knockdown* gen dalam jaringan paru.⁴⁰ Kelemahan dari *nanocarrier* berbasis lipid ini adalah bahwa pengirimannya terbatas pada hati dan sistem retikuloendotelial karena epitel kapiler sinusoidal di jaringan ini menyediakan ruang yang cukup besar untuk memungkinkan masuknya nanopartikel yang relatif besar ini.⁴¹ Karakteristik siRNA dimana ukurannya yang kecil dan sifat anioniknya menyebabkan rentan terhadap degradasi oleh nuklease serum dan eliminasi yang cepat.⁴² siRNA yang dikonjugasikan dengan AuNP ditemukan telah meningkatkan stabilitas dibandingkan dengan siRNA yang tidak terkonjugasi dan dapat mengurangi replikasi virus dengue. Partikel terkonjugasi juga muncul untuk menghambat pelepasan virion dengue yang menular.⁴³

Modifikasi permukaan *nanocarrier* diketahui dapat meningkatkan sifat sistem nanopartikel.⁴³ Salah satu modifikasinya adalah dengan penambahan ligan atau pencangkakan (*grafting*) pada permukaan *nanocarrier*.³⁵ Polimer sintetik yang ditanamkan ke permukaan nanopartikel bertujuan untuk mengubah fungsionalitas kelompok permukaan pada nanopartikel dan mengubah topologi permukaan. Enkapsulasi PEG pada *nanocarrier* menyebabkan NP tidak berinteraksi dengan NP lain

dan/atau komponen darah sehingga dapat memperpanjang waktu sirkulasi sampai mencapai target yang diinginkan.^{44,45} Pemberian lapisan tambahan pada permukaan AuNP berupa PEG diyakini memberi tambahan manfaat yakni meningkatkan masa sirkulasi konjugasi dengan mencegah atau memperlambat eliminasinya di sistem retikuloendotelial, membantu menemukan dan melekatkan molekul obat pada sel yang ditargetkan secara spesifik, meningkatkan stabilitas, dan mengurangi sitotoksitas nonspesifik.⁴⁶ Namun, efek samping minimal yang dapat terjadi pada penggunaan penghantar tersebut yaitu toksisitas yang dapat diakibatkan oleh muatan kationik yang berlebihan sehingga dosis yang rasional dan efisien harus tetap diperhatikan dalam penggunaannya.²⁹

Penghantaran obat menggunakan AuNP dilaporkan dapat menghambat replikasi virus influenza H1N1 dengan mengatur ekspresi dari IFN- β dan IFN-*stimulated-genes* (ISG) lainnya serta mengakibatkan penurunan replikasi asam hialuronat. AuNP dan kompleks IFN telah digunakan untuk pengobatan infeksi hepatitis C (HCV). AuNP juga berfungsi menekan virus influenza, HSV, dan HIV. AuNP dengan fungsi asam sialat menghambat infeksi virus influenza dengan interaksi multivalen, relatif lebih baik daripada beberapa obat klinis sintetik seperti zanamivir dan oseltamivir yang rentan terhadap resistensi oleh virus influenza. Oleh karena itu, selain sebagai sistem penghantar terapi AuNP juga memiliki peran penting dalam aktivitas antivirus.^{44,46}

Simpulan

siRNA memiliki potensi besar sebagai terapi SARS-CoV-2 melalui inhalasi dengan sistem penghantar nanopartikel emas. siRNA mampu menghambat replikasi dan transkripsi SARS-CoV-2 melalui pendekatan *gene*

silencing. Berdasarkan studi *in vitro* dan *in vivo*, siRNA memiliki beberapa keunggulan yaitu ketahanan ekspresi, spesifisitas efek inhibisi, efisiensi tinggi bahkan pada konsentrasi rendah dan penggunaannya dalam berbagai penyakit infeksi. Penggunaan nanopartikel emas melalui inhalasi dapat menurunkan toksisitas dan meningkatkan konsentrasi siRNA dalam mencapai epitel paru yang terinfeksi. Modifikasi permukaan AuNP dengan pelapisan PEG sebagai diketahui dapat meningkatkan sistem nanopartikel termasuk memperpanjang waktu sirkulasi sampai mencapai target yang diinginkan. Namun, efek samping minimal yang dapat terjadi pada penggunaan AuNP tersebut yaitu diakibatkan oleh muatan kationik yang berlebihan sehingga dosis yang rasional dan efisien harus tetap diperhatikan dalam penggunaannya.

Penelitian lebih lanjut terkait properti khusus siRNA dengan sistem penghantar PEG-AuNP melalui inhalasi yang ideal, dosis yang optimal sebagai terapi COVID-19, serta sistem pengaturan penghantaran obat melalui inhalasi sangat diperlukan. Sinergi peneliti, tenaga kesehatan, dan pemerintah juga sangat diperlukan guna terciptanya langkah implementatif dalam penelitian terkait COVID-19.

Daftar Pustaka

1. Wang L, Wang Y, Ye D, Liu Q. Review of the 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) based on current evidence. *Int J Antimicrob Agents*. 2020;55(6):1–7.
2. Bhavana V, Thakor P, Singh SB, Mehra NK. COVID-19: Pathophysiology, treatment options, nanotechnology approaches, and research agenda to combating the SARS-CoV2 pandemic. *Life Sci*. 2020;261:118336.
3. World Health Organization. Weekly operational update on COVID-19. (Online) 2023 di <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-operational-update-on-covid-19---12-february-2023> [diakses tanggal 12 Februari 2023].
4. Kementerian Kesehatan RI. Situasi virus COVID-19 di Indonesia. (Online) 2023 di <https://infeksiemerging.kemkes.go.id/dashboard/covid-19> [diakses tanggal 12 Februari 2023].
5. WHO Solidarity Consortium. Repurposed Antiviral Drugs for Covid-19 — Interim WHO Solidarity Trial Results. *N Engl J Med*. 2021;384(6):497–511.
6. Piscoya A, Ng-Sueng LF, del Riego AP, Cerna-Viacava R, Pasupuleti V, Roman YM, et al. Efficacy and harms of remdesivir for the treatment of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2020;15:1–19.
7. Hassanipour S, Arab-Zozani M, Amani B, Heidarzad F, Fathalipour M, Martinez-de-Hoyo R. The efficacy and safety of Favipiravir in treatment of COVID-19: a systematic review and meta-analysis of clinical trials. *Sci Rep*. 2021;11(1):1–11.
8. Rossi JJ, Rossi D. Oligonucleotides and the COVID-19 Pandemic: A Perspective. *Nucleic Acid Ther*. 2020;30(3):129–32.
9. Sharad S. Antisense Therapy: An Overview. *Intechopen*. 2020,1–15.
10. Sohrab SS, El-Kafrawy SA, Mirza Z, Kamal MA, Azhar EI. Design and Delivery of Therapeutic siRNAs: Application to MERS-Coronavirus. *Curr*

- Pharm. 2018;24(1):62–77.
11. Pawestri HA, Subangkit. siRNA as an alternative therapy against viral infections. *Heal Sci J Indones.* 2012;1(1):57–63.
 12. Falzarano MS, Passarelli C, Ferlini A. Nanoparticle delivery of antisense oligonucleotides and their application in the exon skipping strategy for duchenne muscular dystrophy. *Nucleic Acid Ther.* 2014;24(1):87–100.
 13. Singh P, Pandit S, Mokkapati VRSS, Garg A, Ravikumar V, Mijakovic I. Gold nanoparticles in diagnostics and therapeutics for human cancer. *Int J Mol Sci.* 2018;19(7):1–16.
 14. Kuzmov A, Minko T. Nanotechnology approaches for inhalation treatment of lung diseases. *J Control Release.* 2015;219:500–18.
 15. Raji V, Pal K, Zaheer T, Kalarikkal N, Thomas S, De Souza FG, et al. Gold nanoparticles against respiratory diseases: Oncogenic and viral pathogens review. *Ther Deliv.* 2020;11(8):521–34.
 16. DK N, M M. Herbal gold nanoparticles for attenuating pandemic infection of COVID-19 virus. *J Nanomed Nanotechnol.* 2020;5(3):30.
 17. Li D, Gao C, Kuang M, Xu M, Wang B, Luo Y, et al. Nanoparticles as drug delivery systems of rna in cancer therapy. *Molecules.* 2021;26(8):1–27..
 18. Chen K, Li Q, Zhao X, Zhang J, Ma H, Sun X, et al. Biocompatible melanin based theranostic agent for In vivo detection and ablation of orthotopic micro-hepatocellular carcinoma. *Biomater Sci.* 2020;8(15):4322–33.
 19. Ahidjo BA, Loe MWC, Ng YL, Mok CK, Chu JJH. Current Perspective of Antiviral Strategies against COVID-19. *ACS Infect Dis.* 2020;6(7):1624–34.
 20. Lan J, Ge J, Yu J, Shan S, Zhou H, Fan S, et al. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature.* 2020;581(7807):215–20.
 21. Mousavizadeh L, Ghasemi S. Genotype and phenotype of COVID-19: Their roles in pathogenesis. *J Microbiol Immunol Infect.* 2020;54(2):159–63.
 22. Khailany RA, Safdar M, Ozaslan M. Genomic characterization of a novel SARS-CoV-2. *Gene Reports.* 2020;19:100682.
 23. Wu C, Liu Y, Yang Y, Zhang P, Zhong W, Wang Y, et al. Analysis of therapeutic targets for SARS-CoV-2 and discovery of potential drugs by computational methods. *Acta Pharm Sin B.* 2020;10(5):766–88.
 24. Merkel OM, Kissel T. Nonviral pulmonary delivery of siRNA. *Am Chem Soc.* 2020;45(7):961–70.
 25. Ray A, Mandal A, Mitra AK. Recent Patents in Pulmonary Delivery of Macromolecules. *Recent Pat Drug Deliv Formul.* 2015;9(3):225–36.
 26. Piyush R, Rajarshi K, Chatterjee A, Khan R, Ray S. Nucleic acid-based therapy for coronavirus disease 2019. *Heliyon.* 2020;6(9):1–10.
 27. Ye Y, Zhang Z, Liu Y, Diao L, Han L. A Multi-Omics Perspective of Quantitative Trait Loci in Precision Medicine. *Trends Genet.* 2020;36(5):318–36.
 28. Mehta A, Michler T, Merkel OM. siRNA Therapeutics against

- Respiratory Viral Infections—What Have We Learned for Potential COVID-19 Therapies? *Adv Healthc Mater.* 2021;10(7):1–16.
29. Dhuri K, Bechtold C, Quijano E, Pham H, Gupta A, Vikram A, et al. Antisense Oligonucleotides: An Emerging Area in Drug Discovery and Development. *J Clin Med.* 2020;9(6):1–24.
 30. Khaitov M, Nikonova A, Shilovskiy I, Kozhikhova K, Kofiadi I, Vishnyakova L, et al. Silencing of SARS-CoV-2 with modified siRNA-peptide dendrimer formulation. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol.* 2021;1–15.
 31. Coleman CM, Sisk JM, Mingo RM, Nelson EA, White JM, Frieman MB. Abelson Kinase Inhibitors Are Potent Inhibitors of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus and Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Fusion. *J Virol.* 2016;90(19):8924–33.
 32. Kandil R, Merkel OM. Pulmonary delivery of siRNA as a novel treatment for lung diseases. *Ther Deliv.* 2019;10(4):203–6.
 33. 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.* 2021;29(7):2219–26.
 34. Sheridan C. Mist begins to clear for lung delivery of RNA. *Nat Biotechnol.* 2020;38(10):1107–9.
 35. Maus A, Strait L, Zhu D. Nanoparticles as delivery vehicles for antiviral therapeutic drugs. *Eng Regen.* 2021;31–46.
 36. Moschos SA, Frick M, Taylor B, Turnpenny P, Graves H, Spink KG, et al. Uptake, efficacy, and systemic distribution of naked, inhaled short interfering RNA (siRNA) and locked nucleic acid (LNA) antisense. *Mol Ther.* 2013;19(12):2163–8.
 37. Hu X, Zhang Y, Ding T, Liu J, Zhao H. Multifunctional Gold Nanoparticles: A Novel Nanomaterial for Various Medical Applications and Biological Activities. *Front Bioeng Biotechnol.* 2020;8:1–17.
 38. Zachar O. Formulations for COVID-19 Early Stage Treatment via Silver Nanoparticles Inhalation Delivery at Home and Hospital. *ScienceOpen.* 2020;1–14.
 39. Kjems Jø, Howard KA. Oligonucleotide delivery to the lung: Waiting to inhale. *Mol Ther - Nucleic Acids.* 2013;1(1):e1.
 40. Roberts TC, Langer R, Wood MJA. Advances in oligonucleotide drug delivery. *Nat Rev Drug Discov.* 2020;19(10):673–94.
 41. Artiga Á, Serrano-Sevilla I, De Matteis L, Mitchell SG, De La Fuente JM. Current status and future perspectives of gold nanoparticle vectors for siRNA delivery. *J Mater Chem B.* 2019;7(6):876–96.
 42. Paul AM, Shi Y, Acharya D, Douglas JR, Cooley A, Anderson JF, et al. Delivery of antiviral small interfering RNA with gold nanoparticles inhibits dengue virus infection in vitro. *J Gen Virol.* 2014;95(PART 8):1712–22.
 43. Chakravarty M, Vora A. Nanotechnology-based antiviral therapeutics. *Drug Deliv Transl Res.* 2021;11(3):748–87.
 44. Suk JS, Xu Q, Kim N, Hanes J, Ensign LM. PEGylation as a strategy for improving nanoparticle-based drug and gene

- delivery. *Adv Drug Deliv.* 2016;176(3):139–48.
45. Jokerst J V, Lobovkina T, Zare RN, Gambhir SS. Nanoparticle PEGylation for imaging and therapy. *Nanomedicine (Lond).* 2014;23(1):1–7.
46. Gurunathan S, Qasim M, Choi Y, Do JT, Park C, Hong K, et al. Antiviral potential of nanoparticles—can nanoparticles fight against coronaviruses? *Nanomaterials.* 2020;10(9):1–29.