



Potensi terapi berbasis siRNA untuk knockdown HIV-1 conserved region sebagai terapi HIV/AIDS: Tinjauan sistematis

Oda Rivana¹, Ali Santosa², Ayu Munawaroh³

^{1,2,3} Universitas Jember

odarivanaiw@gmail.com

Info Artikel :

Diterima :

10 Maret 2023

Disetujui :

26 Maret 2023

Dipublikasikan :

25 Maret 2023

ABSTRAK

Human immunodeficiency virus merupakan patogen yang dapat menyerang sistem imun manusia, sedangkan AIDS (Acquired Immunodeficiency Syndrome) merupakan kondisi immunosupresif karena infeksi HIV. Saat ini, kombinasi ART (Antiretroviral Therapy) adalah terapi andalan HIV. Pengobatan saat ini masih menemui beberapa kendala, sehingga peneliti mencari alternatif lain dalam mengatasi HIV/AIDS. Ada beberapa penelitian yang membahas mengenai terapi HIV/AIDS berbasis siRNA dengan hasil yang bagus. Oleh karena itu, peneliti tertarik melakukan tinjauan sistematis untuk mengetahui secara keseluruhan terapi HIV/AIDS yang memiliki hasil lebih baik dalam mengatasi HIV/AIDS. Tujuan dari penulisan ini adalah untuk mengetahui terapi berbasis siRNA untuk knockdown HIV-1 conserved region sebagai terapi HIV/AIDS dapat menurunkan viral load dan/atau meningkatkan sel CD4⁺. Artikel diseleksi menggunakan metode PRISMA (Preferred Reporting Items for Systemic Reviews and Meta-Analyses). Artikel ditinjau dengan prinsip kerangka PICOS (Participants, Interventions, Comparisons, Outcomes, and Study design). Pencarian artikel didapatkan dari empat basis data yaitu: PubMed, Science Direct, Nature, dan Springer Link. Outcome yang dinilai adalah penurunan viral load dan/atau peningkatan jumlah sel CD4⁺ dinilai dengan SYRCLE tools. Penelitian-penelitian yang diinklusi merupakan experimental studies in vivo menggunakan hewan coba tikus dan monyet rhesus dengan karakteristik yang berbeda-beda pada setiap penelitian. Hewan coba diintervensi terapi siRNA untuk knockdown HIV-1 conserved region dengan kontrol negatif (placebo) dan/atau kontrol positif (ARV). Semua penelitian yang diinklusi menunjukkan hasil yang signifikan dengan p-value <0,05 dalam menurunkan viral load dan meningkatkan jumlah sel CD4⁺.

Kata Kunci: HIV/AIDS, HIV-1, conserved region, RNAi, siRNA

ABSTRACT

Human immunodeficiency virus is a pathogen that can attack the human immune system, while AIDS (Acquired Immunodeficiency Syndrome) is an immunosuppressive condition due to HIV infection. Currently, combination ART (Antiretroviral Therapy) is the mainstay of HIV therapy. The current treatment still encounters several obstacles, so researchers are looking for other alternatives to overcoming HIV/AIDS. There are several studies discussing siRNA-based HIV/AIDS therapy with good results. Therefore, researchers are interested in making a systematic review to find out overall HIV/AIDS therapy which has better results in overcoming HIV/AIDS. The purpose of this paper is to find out that siRNA-based therapy for HIV-1 knockdown in conservation areas as HIV/AIDS therapy can reduce viral load and/or increase CD4⁺ cells. Articles were selected using the PRISMA (Preferred Reporting Items for Systemic Review and Meta-Analyses) method. The article was reviewed using the PICOS framework's principles (Participants, Interventions, Comparison, Outcomes, and Study design). Search articles obtained from four databases, namely: PubMed, Science Direct, Nature, and Springer Link. The outcome assessed was a decrease in viral load and/or an increase in CD4⁺ cell counts assessed by the SYRCLE tool. The included studies were in vivo experimental studies using rats and rhesus monkeys with different characteristics in each study. Experimental animals were treated with siRNA therapy for knockdown of HIV-1 conservation areas with negative control (placebo) and/or positive control (ARV). All included studies showed significant results with p-value <0.05 in decrease viral load and increase CD4⁺ cell counts.

Keywords: HIV/AIDS, HIV-1, conserved region, RNAi, siRNA



©2022 Penulis . Diterbitkan oleh Arka Institute. Ini adalah artikel akses terbuka di bawah lisensi Creative Commons Attribution NonCommercial 4.0 International License. (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)

PENDAHULUAN

Human immunodeficiency virus (HIV) merupakan patogen yang dapat menyerang sistem imun manusia terutama sel yang memiliki penanda CD4⁺ di permukaannya, seperti makrofag dan limfosit T, sedangkan AIDS (Acquired Immunodeficiency Syndrome) merupakan suatu kondisi immunosupresif akibat infeksi HIV¹. Berdasarkan data UNAIDS (Joint United Nations Programme on HIV/AIDS) pada

tahun 2020, terdapat sekitar 37,7 juta orang di dunia hidup dengan HIV, 1,5 juta kasus baru dan 680.000 orang meninggal karena AIDS. Sedangkan di Indonesia, menurut data Kementerian Kesehatan (Kemenkes), jumlah kasus HIV terus meningkat sejak 2010 hingga 2019 dengan puncak kasus pada tahun 2019, yaitu sebanyak 50.282 kasus². Virus HIV termasuk *Retroviridae* yang merupakan famili virus RNA untai tunggal berselubung dan bereplikasi dalam sel inang melalui proses *reverse transcription*³. Genom HIV-1 mengkode protein virus yang penting untuk proses replikasi virus. Protein virus ini dapat diklasifikasikan dalam tiga kelompok, yaitu protein struktural (*gag, pol, env*), elemen regulator esensial (*tat, rev*), dan protein *accessory* (*nef, vpr, vif, vpu*). HIV-1 menginfeksi populasi sel, seperti limfosit T CD4⁺, makrofag di darah dan jaringan, serta makrofag perivaskular. Infeksi HIV-1 pada CD4⁺ limfosit dapat menyebabkan aktivasi kekebalan kronis yang menyebabkan penipisan sel-sel ini dan timbulnya penyakit AIDS. Pada Infeksi HIV, RNA virus ditranskripsi terbalik dan menghasilkan DNA virus yang dibawa menuju nukleus dan diintegrasikan ke dalam kromosom sel inang oleh integrase.

Saat ini, terapi kombinasi atau *Highly Active Antiretroviral Therapy* (HAART) adalah terapi andalan HIV⁴. Meskipun ART berhasil mengendalikan HIV/AIDS, tingkat mutasi HIV yang tinggi dapat mengarah pada perkembangan *strain* HIV resisten, keberadaan situs reservoir virus yang tidak dapat diakses oleh metode penghantaran obat saat ini, bioavailabilitas oral yang rendah, kepatuhan rejimen obat dan farmakokinetik yang buruk, peningkatan efek samping akibat dosis tinggi dan jangka panjang, serta biaya mahal adalah beberapa faktor yang mengakibatkan kegagalan terapi ART. Berbagai tantangan ART mengarahkan peneliti untuk mencari pilihan terapi alternatif dan strategi melawan HIV-1⁵.

Baru-baru ini, *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats* (CRISPR) digunakan untuk menargetkan HIV-1. Namun, terdapat beberapa kekurangan terapi CRISPR, yaitu lebih mahal, membutuhkan terjemahan CRISPR mRNA dan *guide* RNA (gRNA) dalam sel yang terinfeksi virus dan terdapat respon kekebalan terkait CRISPR sehingga perlu dipertimbangkan ketika menggunakan CRISPR dalam uji klinis⁶. Terapi berbasis asam nukleat telah aktif dikembangkan sebagai agen alternatif untuk mengatasi kelemahan tersebut^{7,8}. Mekanisme RNAi dapat diinduksi oleh siRNA (*silencing* RNA)^{9,10}. siRNA merupakan jenis dari RNAi yang memiliki efisiensi transfeksi yang tinggi dan hambatan yang lebih sedikit, spesifik, mengikat sempurna ke target dengan 100% komplementaritas, dan memediasi pembelahan transkrip secara lebih optimal^{11,12}. Terapi berbasis siRNA memiliki potensi terapeutik untuk pengobatan infeksi HIV-1 karena seluruh genom virus dapat menjadi target^{13,14}. Ada beberapa penelitian yang membahas mengenai terapi HIV/AIDS berbasis siRNA dengan hasil yang bagus. Oleh karena itu, peneliti tertarik melakukan tinjauan sistematis untuk mengetahui secara keseluruhan terapi HIV/AIDS yang memiliki hasil lebih baik dalam mengatasi HIV/AIDS.

METODE PENELITIAN

Artikel diseleksi menggunakan metode PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systemic Reviews and Meta-Analyses*). Artikel ditinjau dengan prinsip kerangka PICOS (*Participants, Interventions, Comparisons, Outcomes, and Study design*). Proses pencarian artikel dilakukan pada empat *database*, seperti PubMed, Science Direct, Nature, dan Springer Link. Penyusunan kata kunci menggunakan metode *Boolean operator*. Sinonim kata kunci dicari menggunakan *Medical Subject Heading* (MeSH) *database*. Semua artikel yang ditemukan oleh peneliti selanjutnya dimasukkan ke *web Rayyan* untuk diseleksi sesuai dengan topik penelitian. Artikel yang terkumpul akan diseleksi berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi. Penilaian kualitas studi dan risiko bias pada studi ini menggunakan *The Systematic Review Centre for Laboratory Animal Experimentation* (SYRCLE).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengumpulan data dari artikel yang diterbitkan pada empat *database* yaitu: PubMed, Science Direct, Nature, dan Springer Link. Penilaian kualitas dan risiko bias menggunakan *The Systematic Review Centre for Laboratory animal Experimentation* (SYRCLE). Kriteria inklusi yang digunakan adalah: (1) studi yang membahas terkait potensi terapi siRNA beserta ligan penargetan untuk *knockdown* HIV-1 *conserved region* sebagai terapi HIV/AIDS, (2) berbahasa Indonesia dan Inggris, (3) artikel penelitian yang lolos penilaian kualitas dan risiko bias

SYRCLE dengan risiko bias rendah atau *concern*, (4) dapat diakses secara *full text*, (5) artikel penelitian diterbitkan dalam waktu 10 tahun terakhir (2012-2022), (6) desain studi yang dapat digunakan adalah studi eksperimental *in vivo*.

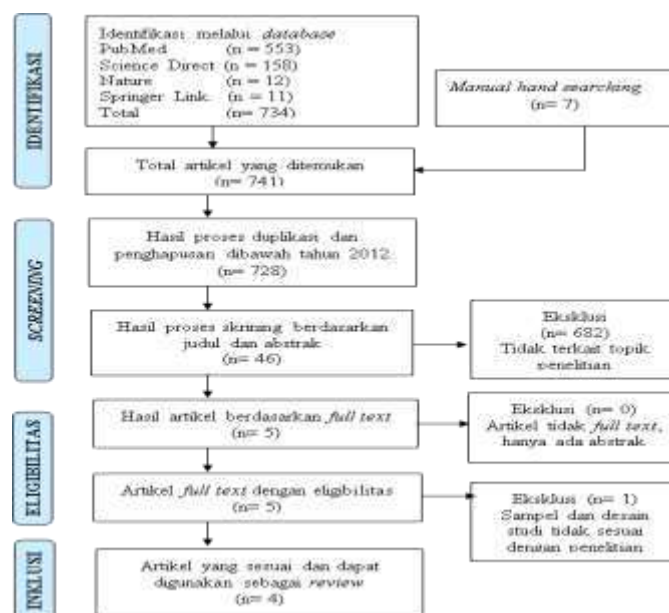
Jumlah artikel yang didapat sebanyak 741 artikel yang terakumulasi dari 553 PubMed, 158 artikel dari Science Direct, 12 artikel dari Nature, 11 artikel Springer Link, dan 7 artikel didapatkan dari *manual hand searching*. Semua studi disimpan di perpustakaan penulis di *Rayyan QCRI*. Detail total artikel yang ditemukan dari empat database terdapat pada Tabel 1.

Tabel 1 Hasil identifikasi artikel

Database	Boolean Operator	Jumlah
Pubmed	("HIV-1" OR "AIDS") AND ("RNAi" OR "siRNA" OR "Peptide Chimera" OR "Dendrimer" OR "CMD-TMC-SPIONS" OR "Aptamer")	553
Science Direct	("HIV-1" OR "AIDS") AND ("RNAi" OR "siRNA") AND ("Peptide Chimera" OR "Dendrimer" OR "CMD-TMC-SPIONS" OR "Aptamer")	158
Nature	("HIV-1" OR "AIDS") AND ("RNAi" OR "siRNA") AND ("Peptide Chimera" OR "Dendrimer" OR "CMD-TMC-SPIONS" OR "Aptamer")	12
Springer Link	("HIV-1" OR "AIDS") AND ("RNAi" OR "siRNA") AND ("Peptide Chimera" OR "Dendrimer" OR "CMD-TMC-SPIONS" OR "Aptamer")	11
Total artikel		734

Proses seleksi jurnal diawali dengan acuan artikel yang dibuat maksimal tahun 2012 dan dilakukan identifikasi duplikasi artikel. Selanjutnya dilakukan seleksi artikel berdasarkan judul, abstrak, dan akses *full text*. Langkah terakhir adalah disesuaikan dengan eligibilitas atau kriteria kelayakan dengan membaca keseluruhan artikel.

Tahapan pertama adalah seleksi duplikasi artikel dan didapatkan 13 artikel dieksklusi. Total artikel sementara adalah 728 artikel. Proses selanjutnya dilakukan seleksi berdasarkan judul dan abstrak penelitian, terdapat 682 artikel yang dieksklusi karena tidak terkait dengan topik penelitian sehingga didapatkan total artikel sementara 46 artikel. Tahapan ketiga adalah seleksi *full text*, didapatkan semua artikel diinklusi karena dapat diakses secara *full text*. Tahapan terakhir yaitu penilaian artikel sesuai dengan kriteria *full text* dengan eligibilitas berdasarkan kriteria kelayakan, sampel, desain studi yang bukan eksperimental *in vivo*, dan kurangnya data pada artikel untuk dimasukkan ke dalam tabel ekstraksi. Total 43 artikel dieksklusi, sehingga didapatkan 4 artikel yang sesuai dengan topik penelitian yang digunakan sebagai bahan tinjauan sistematis. Hasil dan proses seleksi studi artikel dapat dilihat dalam diagram alir pada Gambar 1.



Gambar 1 Flowchart PRISMA seleksi artikel.

Dikutip dari: Page, 2021¹⁵

Risiko Bias dalam Setiap Studi

Kriteria penilaian menggunakan SYRCLE’s tool yang diadaptasi dari *Cochrane Risk of Bias* (RoB). Interpretasi hasil penilaian untuk menilai apakah studi yang disaring memiliki risiko bias rendah, *concern*, atau tinggi. Studi yang memiliki risiko bias tinggi akan dieksklusikan dan risiko bias rendah atau *concern* akan diinklusi. Hasil *critical appraisal* dapat dilihat pada Gambar 2.

	Random sequence generation (selection bias)	Baseline characteristics (selection bias)	Allocation concealment (selection bias)	Random housing (performance bias)	Blinding (performance bias)	Random outcome assessment (detection bias)	Blinding (detection bias)	Incomplete outcome data (attrition bias)	Selection outcome reporting (reporting bias)	Other bias
Boyapalle dkk., 2015	+	+	+	?	?	+	+	+	+	+
Serramía dkk., 2015	+	+	?	-	-	+	+	+	+	+
Wheeler dkk., 2013	+	+	+	+	?	+	+	+	+	+
Zhou dkk., 2013	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Zhou dkk., 2018	+	+	?	+	?	+	+	+	+	+

Gambar 2 Critical Appraisal.

Dikutip dari: Hooijmans, 2014¹⁶

Karakteristik Studi yang Diinklusi

Semua artikel merupakan studi eksperimental *in vivo*. Bahasa yang terpilih pada semua artikel adalah berbahasa Inggris dan berasal dari negara penelitian yang sama. Negara tempat dilaksanakan penelitian, yaitu USA (empat artikel). Tahun publikasi artikel yang digunakan yaitu sepuluh tahun terakhir. Sampel pada penelitian-penelitian tersebut adalah tikus dan monyet dengan karakteristik berbeda-beda.

PEMBAHASAN

Empat artikel yang telah diperoleh melalui proses pencarian literatur dan analisis kelayakan studi, selanjutnya diekstraksi dalam bentuk tabel dengan mengelompokkan berdasarkan negara, intervensi, besar sampel, dosis terapi, desain studi, karakteristik studi, dan temuan penelitian (Tabel 3).

Tabel 1 Hasil ekstraksi artikel

Penulis, Tahun	Subjek penelitian	Intervensi	Desain studi	Hasil Penelitian
Zhou dkk., 2018	Tikus NOD/SCID/IL2 γ^{null} (hu-NSG) dengan 18 sampel dibagi menjadi 4 kelompok.	Aptamer bertarget gp120 dengan siRNA bertarget LTR (A-1- <i>stick</i> -LTR-362 27) dan <i>tat/rev</i> (A-1- <i>stick-tat/rev</i> 27). Dosis 1,0 nmol (1,65-2,15 mg/kg konjugat aptamer- <i>stick</i> -siRNA) dalam volume 200 L dan kontrol positif menggunakan ARV.	Eksperimental <i>in vivo</i>	Penurunan <i>viral load</i> sebesar 99% dan 100 % pemulihan sel T CD4 ⁺ menggunakan A-1- <i>stick</i> -LTR-362 27 ($p < 0.05$ dari <i>paired T-test</i>).
Zhou dkk., 2013	Tikus Rag2 ^{-/-c} /-yang (RAG-hu) dengan 23 sampel dibagi menjadi 4 kelompok.	siRNA bertarget HIV-1 <i>tat/rev</i> dan dua HIV-1 HDFs, yaitu CD4 dan TNPO3 dengan aptamer bertarget HIV gp120. Dosis 0,25 nmol dalam volume 40 μ l dan kontrol negatif menggunakan PBS.	Eksperimental <i>in vivo</i>	Penurunan <i>viral load</i> sebesar 99,6% pada perawatan pertama ($p=0,0005$). Pengobatan ulang menghasilkan penurunan <i>viral load</i> sebesar 99% ($p=0,0143$). Jumlah sel T CD4 ⁺ mengalami peningkatan ($p=0,0348$).
Wheeler dkk., 2013	Tikus NOD/SCID/ IL2 $\gamma^{\text{-}}$ (NSG) /Tikus BLT dengan 8 sampel dibagi menjadi 3 kelompok.	CD4 ⁺ aptamer siRNA chimera (CD4-AsiCs) yang menargetkan koreseptor HIV <i>CCR5</i> , <i>gag</i> , dan <i>vif</i> . Dosis 40–80 pmol dan kontrol negatif menggunakan PBS.	Eksperimental <i>in vivo</i>	Penurunan <i>viral load</i> sebesar 60%. CD4-AsiC menurunkan <i>viral load</i> lebih substansial jika diberikan lebih cepat setelah terpapar dan meningkatkan jumlah sel CD4 ⁺ ($p < 0.05$ dari <i>T-test</i>).
Boyapalle dkk., 2015	Monyet rhesus dengan 5 sampel dibagi menjadi 2 kelompok.	<i>Multifunctional chitosan-lipid nanocomplexes</i> atau chitosan-lipid (chlipid) yang dikomplekskan dengan campuran plasmid yang mengkode siRNA spesifik HIV-1 (psiRNAs). Dosis chitosan (1 mg/ml) dan <i>lipofectamine</i> 2000 dicampur dengan perbandingan 2:1 (2 μ g kitosan dengan 1 μ g <i>lipofectamine</i> dalam volume total 20 μ l) dan kontrol negatif menggunakan PBS.	Eksperimental <i>in vivo</i>	Pengobatan monyet dengan campuran krim dan nanokompleks chlipid yang mengandung koktail plasmid siRNA menghasilkan penurunan <i>viral load</i> pada monyet yang terinfeksi SHIV SF162. Meningkatkan jumlah sel CD4 ⁺ mengurangi replikasi HIV-1 empat kali lipat dibandingkan dengan kontrol.

Terdapat empat artikel yang menyatakan adanya pengaruh terapi berbasis siRNA untuk *knockdown* HIV-1 *conserved region* terhadap penurunan *viral load* dan/atau peningkatan sel CD4⁺. Adanya hubungan tersebut dibuktikan dengan hasil uji statistik dengan $p\text{-value} < 0,05$. Terdapat tiga artikel menggunakan tikus dan satu artikel menggunakan monyet dengan karakteristik yang berbeda-beda. Terapi berbasis siRNA diinjeksikan pada model HIV dengan dosis tertentu.

Penelitian Zhou (2018) menggunakan aptamer bertarget gp120 dengan siRNA bertarget LTR (A-1-*stick*-LTR-362 27) dan *tat/rev* (A-1-*stick-tat/rev* 27) *in vivo* pada tikus NOD/SCID/IL2 γ^{null} (hu-NSG) yang diinjeksi intraperitoneal HIV-1 Bal (200 ng p24/tikus). Penurunan *viral load* sebesar 99% dan 100 % pemulihan sel T CD4⁺ menggunakan A-1-*stick*-LTR-362 27. Penelitian menggunakan ligan penargetan aptamer sebagai agen revolusioner untuk pengiriman siRNA karena spesifisitas dan aviditasnya yang tinggi. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa gp120 aptamer dapat secara fungsional mengirimkan siRNA yang ditargetkan ke transkrip *Tat/Rev* dan merusak ekspresi HIV-1. Aptamer juga dikenal sebagai antibodi kimia yang merupakan molekul DNA atau RNA untai tunggal dan dapat mengikat reseptor permukaan sel tertentu dengan afinitas tinggi karena struktur tiga dimensinya. Hal ini menunjukkan bahwa A-1-*stick*-LTR-362 27 dan A-1-*stick-tat/rev* 27 dapat secara efektif menekan HIV-1 *in vivo* ($p < 0.05$ dari *paired T-test*)¹⁷.

Penelitian Zhou (2013) menggunakan siRNA bertarget HIV-1 *tat/rev* dan dua HIV-1 HDFs, yaitu CD4⁺ dan TNPO3 dengan aptamer bertarget HIV gp120 *in vivo* pada tikus Rag2^{-/-c} /- $\gamma^{\text{-}}$ (RAG-hu). Aptamer *in vivo* menunjukkan stabilitas siRNA. Penurunan *viral load* sebesar 99,6% pada perawatan pertama ($p=0,0005$). Pengobatan ulang menghasilkan penurunan *viral load* sebesar 99% ($p=0,0143$). Ketika tikus yang terinfeksi diobati dengan konjugat aptamer-siRNA, jumlah sel T CD4⁺ mengalami

peningkatan ($p=0,0348$). Hal ini menunjukkan bahwa pengobatan secara signifikan berdampak pada viabilitas sel T CD4⁺. Selain itu, tidak ada respon imun dan toksisitas seluler dari tikus yang diobati konjugat aptamer-siRNA¹⁸.

Penelitian Wheeler (2013) menggunakan CD4⁺ aptamer siRNA chimera (CD4-AsiCs) yang menargetkan koreseptor HIV *CCR5*, *gag*, dan *vif* melindungi tikus dari penularan HIV-1 seksual secara *in vivo*. Penurunan *viral load* sebesar 60%. AsiCs dapat diformulasikan dalam gel mikrovisida yang dapat diterapkan secara klinis tanpa kehilangan spesifisitas tipe sel, aktivitas knockdown atau efektivitas. CD4-AsiC menurunkan *viral load* lebih substansial jika diberikan lebih cepat setelah terpapar dan meningkatkan jumlah sel CD4⁺ ($p<0.05$ dari *T-test*)¹⁹.

Penelitian Boyapalle (2015) menggunakan *multifunctional chitosan-lipid nanocomplexes* atau chitosan-lipid (chlipid) yang dikomplekskan dengan campuran plasmid yang mengkode siRNA spesifik HIV-1 (psiRNAs). Terapi menargetkan *tat*, *rev*, *gag*, 5'-LTR, *CCR5*, dan *CXCR4*. Pengobatan monyet dengan campuran krim dan nanokompleks chlipid yang mengandung koktail plasmid siRNA menghasilkan penurunan *viral load* pada monyet yang terinfeksi SHIV SF162. Meningkatkan jumlah sel CD4⁺ mengurangi replikasi HIV-1 empat kali lipat dibandingkan dengan kontrol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengobatan dengan nanopartikel kitosan tidak menyebabkan toksisitas pada monyet rhesus. Kitosan memiliki aktivitas anti-mikroba, anti-HIV, sifat penyembuhan luka, tidak ada aktivitas sitotoksik, dan memfasilitasi pengiriman gen mukosa²⁰.

Keempat artikel berpengaruh terhadap terapi berbasis siRNA untuk *knockdown* HIV-1 *conserved region* dapat menurunkan *viral load* dan/atau meningkatkan sel CD4⁺ berdasarkan data yang diekstraksi. Dalam melakukan tinjauan sistematik ini didapatkan keterbatasan penelitian, yaitu pada setiap penelitian tidak menggunakan metode, dosis, ukuran, dan ligan penargetan yang sama.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian tinjauan sistematik yang dilakukan, kesimpulan yang dapat diambil adalah terapi berbasis siRNA untuk *knockdown* HIV-1 *conserved region* dapat menurunkan *viral load* dan meningkatkan jumlah sel CD4⁺, sehingga berpotensi sebagai terapi HIV/AIDS. Berdasarkan kesimpulan penelitian, saran yang dapat diberikan pada penelitian, yaitu peneliti selanjutnya perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan uji klinis untuk meningkatkan hasil penelitian dan perlu dilakukan penelitian lain mengenai penghambatan dalam penggunaan terapi berbasis siRNA untuk *knockdown* HIV-1 *conserved region* sebagai terapi HIV/AIDS *conserved region* pada hewan uji.

DAFTAR PUSTAKA

- Mohapatra A, Sahoo D. Review on HIV AIDS. *Int J Psychosoc Rehabil*. 2019;23(6):521–7.
- KEMENKES RI. Infodatin HIV AIDS. Kesehatan. 2020;1–8.
- Qureshi A, Tantray VG, Kirmani AR, Ahangar AG. A review on current status of antiviral siRNA. *Rev Med Virol*. 2018;28(4):1–11.
- Adesina SK, Akala EO. Nanotechnology Approaches for the Delivery of Exogenous siRNA for HIV Therapy. *Mol Pharm*. 2015;12(12):4175–87.
- Gu J, Yang S, Ho EA. Biodegradable Film for the Targeted Delivery of siRNA-Loaded Nanoparticles to Vaginal Immune Cells. *Mol Pharm*. 2015;12(8):2889–903.
- Charlesworth CT, Deshpande PS, Dever DP, Camarena J, Lemgart VT, Cromer MK, et al. Identification of preexisting adaptive immunity to Cas9 proteins in humans. 2020;25(2):249–54.
- Shim MS, Wong S, Kwon YJ. SiRNA as a conventional drug in the clinic? Challenges and current technologies. *Drug Discov Today Technol*. 2012;9(2):e167–73.
- Bajan S, Hutvagner G. RNA-Based Therapeutics: From Antisense Oligonucleotides to miRNAs. *Cells*. 2020;9(1):1–27.
- Herrera-Carrillo E, Liu YP, Berkhout B. The impact of unprotected T cells in RNAi-based gene therapy for HIV-AIDS. *Mol Ther*. 2014;22(3):596–606.
- Zhou J, Rossi JJ. Therapeutic potential of aptamer-siRNA conjugates for treatment of HIV-1. *BioDrugs*. 2012;26(6):393–400.
- Sajid MI, Moazzam M, Tiwari RK, Kato S, Cho KY. Overcoming barriers for siRNA therapeutics: From bench to bedside. *Pharmaceuticals*. 2020;13(10):1–25.
- Kaymaz BT, Kosov B. Advances in Therapeutic Approaches Using RNA Interference as a Gene Silencing Tool. *Adv Tech Biol Med*. 2013;1(2).

- Zhou J, Satheesan S, Li H, Weinberg MS, Morris K V., Burnett JC, et al. Cell-specific RNA aptamer against human CCR5 specifically targets HIV-1 susceptible cells and inhibits HIV-1 infectivity. *Chem Biol*. 2015;22(3):379–90.
- Liu X, Liu C, Catapano C V., Peng L, Zhou J, Rocchi P. Structurally flexible triethanolamine-core poly(amidoamine) dendrimers as effective nanovectors to deliver RNAi-based therapeutics. *Biotechnol Adv* [Internet]. 2014;32(4):844–52. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.08.001>
- Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ*. 2021;372.
- Hooijmans CR, Rovers MM, De Vries RBM, Leenaars M, Ritskes-Hoitinga M, Langendam MW. SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. *BMC Med Res Methodol*. 2014;14(1):1–9.
- Zhou J, Lazar D, Li H, Xia X, Satheesan S, Charlins P, et al. Receptor-targeted aptamer-siRNA conjugate-directed transcriptional regulation of HIV-1. *Theranostics*. 2018;8(6):1575–90.
- Zhou J, Neff CP, Swiderski P, Li H, Smith DD, Aboellail T, et al. Functional in vivo delivery of multiplexed anti-HIV-1 siRNAs via a chemically synthesized aptamer with a sticky bridge. *Mol Ther*. 2013;21(1):192–200.
- Wheeler LA, Vrbanac V, Trifonova R, Brehm MA, Gilboa-Geffen A, Tanno S, et al. Durable knockdown and protection from HIV transmission in humanized mice treated with gel-formulated CD4 aptamer-siRNA chimeras. *Mol Ther*. 2013;21(7):1378–89.
- Boyapalle S, Xu W, Raulji P, Mohapatra S, Mohapatra SS. A multiple siRNA-based anti-HIV/SHIV Microbicide shows protection in both in vitro and in vivo models. *PLoS One*. 2015;10(9):1–16.