

REVIEW ARTIKEL: ANTI-miRNA-99b DAN miRNA-223 DALAM VAKSIN
INFLUENZA SEBAGAI INOVASI TERAPI TUBERKULOSIS

Frederick Alexander, Bela Anisa Fitriani, Indriani Saraswati
Fakultas Farmasi Universitas Padjajaran
Jalan Raya Bandung-Sumedang KM 21, Jatinangor 45363, Telp/Fax 022-7796200
frederick811alexander@gmail.com

Abstrak

Penularan *Tuberculosis* yang disebabkan oleh *Mycobacterium Tuberculosis* dapat terjadi melalui interaksi penderita kepada individu disekitarnya yang lebih rentan melalui percikan dahak (droplet). Dalam laporan *World Health Organization* (WHO) yang dirilis pada tahun 2015, hampir 9,6 juta kasus TB baru telah muncul dan angka kejadian kematian pada tahun 2014 berjumlah 1,5 juta. Terapi yang umum diberikan pada pasien TB saat ini melalui pemberian obat anti-TB per oral. Lamanya durasi pengobatan meningkatkan peluang ketidakpatuhan pasien selama pengobatan yang akhirnya akan mengakibatkan risiko *Multi Drug Resistance* (MDR-TB). Penyisipan Anti-miRNA-99b dan miRNA-223 dalam vaksin influenza sebagai inovasi terapi baru diharapkan dapat meningkatkan efikasi, efektifitas, dan kepraktisan pengobatan TB.

Kata kunci: Tuberculosis, anti-miRNA-99b, miRNA-223, dan Vaksin Influenza.

Abstract

Tuberculosis caused by Mycobacterium Tuberculosis can be transmitted by splashes (droplets) from a patient to another vulnerable individual. According to the World Health Organization (WHO) report in 2015, nearly 9.6 million new TB cases have emerged and the incidence of deaths in 2014 amounts to 1.5 million. Treatment is commonly given to current TB patients through oral administration of anti-TB drugs. The duration of TB treatment increases the chances of noncompliance during treatment which will eventually result in the risk of Multi Drug Resistance (MDR-TB). The insertion of Anti-miRNA-99b and miRNA-223 in influenza vaccine as a novel therapeutic innovation is expected to improve the efficacy, effectiveness, and practicality of TB treatment.

Keywords: Tuberculosis, anti-miRNA-99b, miRNA-223, and Influenza Vaccine.

PENDAHULUAN

Tuberculosis (TB) merupakan salah satu masalah kesehatan global yang bersifat masif dan sulit diatasi. Berdasarkan laporan *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2015, hampir 9,6 juta kasus TB baru telah muncul dan angka kejadian kematian pada tahun 2014 berjumlah 1,5 juta (WHO, 2015). Pada negara-negara berkembang, 7% angka kematian disebabkan karena penyakit ini. Bahkan, WHO menggolongkan TB sebagai penyakit infeksi pertama yang menyebabkan darurat kesehatan secara global (*global health emergency*) (Zaman, 2010). Prevalensi *Tuberculosis* di Indonesia pada tahun 2013 sebesar 272 per 100.000 penduduk dan tingkat insidensi mencapai 153 per 100.000 penduduk dengan angka kematian pada penderita *Tuberculosis* mencapai 25 orang per 100.000 penduduk (WHO, 2014). Selama ini, pencegahan dan pengobatan TB hanya terbatas pada vaksin Bacille-Calmette-Guérin (BCG) dan obat anti-TB oral seperti rifampisin dan isoniazid. Vaksin BCG terbukti hanya mencegah berkembangnya penyakit pada anak-anak, sedangkan obat anti-TB sudah banyak yang mengalami *multi drug resistance* (MDR). Fakta menunjukkan, keberhasilan pengobatan TB menggunakan

obat anti-TB sebesar 83% pada tahun 2014, 53% untuk *multi drug resistance Tuberculosis* (MDR-TB) pada 2013, dan hanya sebesar 28% untuk *extensively multi drug resistance Tuberculosis* (XDR-TB) (WHO, 2016).

Tuberculosis (TBC atau TB) merupakan penyakit infeksi yang diakibatkan oleh bakteri kompleks *Mycobacterium tuberculosis*. Penyebaran TB dapat menginfeksi bagian tubuh lainnya seperti tulang, ginjal, nodus limfe dan meningen. *Mycobacterium Tuberculosis* termasuk kedalam kelompok bakteri berbentuk batang dengan ukuran panjang 1-4 mm dan tebal 0,3-0,6 mm. Kandungan lemak/ lipid pada *M. Tuberculosis* membuat bakteri memiliki kemampuan bertahan dalam kondisi asam serta tahan terhadap zat kimia dan faktor fisik. *M. Tuberculosis* termasuk mikroorganisme yang bersifat aerob yaitu menyukai lingkungan dengan kadar oksigen tinggi (Somantri, 2007).

Penyebaran penyakit TB terjadi melalui udara dalam bentuk *droplet*. Di dalam paru-paru, makrofag alveolar melakukan fungsi fagositosis terhadap bakteri penginfeksi (*Mycobacterium Tuberculosis*). Interaksi antara *M. Tuberculosis* dan reseptor makrofag (*Toll-like receptors* / TLRs) menghasilkan

kemokin (IL-8, *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1), *macrophage inflammatory protein-1 alpha* (MIP-1 α)) dan sitokin (interferon- γ (IFN- γ), interleukin-2 (IL-2), IL-12, IL-18, *tumour necrosis factor- α* (TNF- α)), yang berperan sebagai sinyal adanya infeksi (Day, et al., 2010). Sinyal tersebut menginduksi migrasi monosit dan sel-sel dendrit dari aliran darah menuju ke bagian paru-paru yang mengalami infeksi. Sel-sel dendrit selanjutnya akan meliputi bakteri, kemudian matang, dan bermigrasi ke pembuluh limpa. Bakteri tersebut akan dihancurkan oleh CD4 dan CD8 sel T di pembuluh limpa. Adanya respon mediator inflamasi membuat sel T kembali bermigrasi menuju situs infeksi di paru-paru. Fenomena migrasi sel yang berkelanjutan menuju situs infeksi kemudian menumpuk dan lama kelamaan menghasilkan granuloma. Granuloma merupakan karakter khusus yang terbentuk dan terdapat pada pasien penderita TB. Granuloma terbentuk dari tumpukan makrofag, sel T, sel B, sel endotel, sel dendrit, dan epitel, serta sel-sel lainnya yang bervariasi seiring berjalannya waktu (Jordao dan Otilia, 2011). Di dalam granuloma, makrofag mengandung banyak lipid, yang merupakan lingkungan yang baik untuk perkembangan bakteri persisten (Peyron, et al., 2008). Fungsi granuloma adalah untuk memfasilitasi interaksi antara

sitokin yang disekresikan oleh makrofag dan sel T melalui induksi sistem imun serta untuk mencegah terjadinya penyebaran bakteri dalam makrofag. Namun, granuloma ini juga menyediakan tempat tinggal bagi *M. Tuberculosis* dalam jangka waktu yang relatif lama. Bakteri yang bersifat laten dapat teraktivasi kembali ketika adanya ketidakseimbangan sitokin (Jordao dan Otilia, 2011).

Pasien baru TBC adalah pasien yang belum pernah mengalami perawatan TBC sebelumnya, atau pasien yang memiliki riwayat pengobatan obat anti-TBC selama kurang dari satu bulan. Pasien baru TBC direkomendasikan menerima pengobatan berkelanjutan selama 6 bulan dengan menggunakan rifampisin (2HRZE/4HR) (WHO, 2010). standar pengobatan pasien baru TB berdasarkan *guideline* WHO dapat dilihat sbb:

Tabel 1. Standar Pengobatan Pasien Baru TB

Fase Intensif	Fase Berkelanjutan
2 months of HRZE	4 months of HR

Keterangan:

H = isoniazid, R = rifampisin,

Z = pirazinamid, E = etambutol

(WHO, 2010)

Pengobatan penyakit TBC terbagi menjadi fase intensif selama 2 bulan dan fase kelanjutan selama 4 sampai 7 bulan. Sehingga total perawatan pasien TBC adalah 6-9 bulan (CDC, 2016).

The global plan to stop TB 2006-2015 menyebutkan bahwa seluruh pasien TBC yang sebelumnya telah mendapatkan perawatan sebelumnya, harus mengikuti *Drug Susceptibility Testing (DST)* diawal pengobatan. Tujuan dilakukannya DST adalah untuk mengidentifikasi adanya *Multi Drug Resistance (MDR)* pada pasien, sehingga dapat segera ditangani (WHO, 2010).

Dalam *End TB Strategy* disebutkan bahwa DST dapat diakses secara umum. Sehingga dalam setiap kasus TB, dapat dilakukan DST setidaknya terhadap rifampisin. Selain itu pada kasus TB dengan resistensi rifampisin dilakukan DST setidaknya untuk obat golongan florokuinolon dan obat golongan kedua. Berdasarkan WHO, pengobatan pasien MDR-TB dapat menggunakan sistem pengobatan jangka pendek dengan menggunakan *Second line Drug*. Klofazimin dan linezolid merupakan *Second Line Drug* yang direkomendasikan oleh WHO untuk mengobati MDR-TB (WHO, 2016).

miRNA merupakan asam ribonukleat yang tidak mengkode protein dengan transkrip akhir sepanjang 18-25 nukleotida yang berinteraksi dengan target gen yang mengkode mRNA. miRNA bekerjasama dengan elemen pengatur lain seperti faktor transkripsi untuk mengontrol translasi mRNA. Kebanyakan miRNA

dikode pada bagian genom yang dulu dianggap sebagai daerah bukan pengkode. Gen-gen miRNA tersebar di dalam genom dan diperkirakan berjumlah 2-5% dari gen-gen manusia. miRNA sering diekspresikan sebagai transkrip polisistronik. Satu miRNA dapat mempunyai banyak mRNA target sehingga diperkirakan bahwa lebih dari 1/3 gen-gen manusia diatur oleh miRNA (Wuchty *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2011). Terdapat beberapa alasan mengapa para peneliti menggunakan miRNA sebagai agen biomarker dan terapi, diantaranya adalah bersifat stabil dalam plasma maupun cairan tubuh lainnya, sulit terdegradasi dan diekskresikan dalam bentuk eksosom atau mikrosesikel (Chen *et al.*, 2011).

Fu *et al* melakukan penelitian terhadap sirkulasi miRNA pada pasien dengan TB paru aktif. Hasil penelitian menunjukkan terdapat 59 miRNA yang mengalami over ekspresi dan 33 miRNA mengalami kurang ekspresi dibandingkan kontrol (Fu *et al*, 2011). Produksi TNF- α terhambat dengan adanya induksi miRNA-99b dari infeksi *M. Tuberculosis* (Singh *et al.*, 2013). Di samping itu, over ekspresi miRNA 29 meningkatkan kerentanan terhadap TB dengan menghambat ekspresi INF- γ oleh sel T (Ma F *et al.*, 2011). Dalam penelitian lain, salah satu miRNA yang ditemukan teregulasi dalam darah dan

paru dari pasien TB adalah miRNA-223 (Dorhoi *et al.*, 2013).

Vaksin merupakan antigen berupa mikroorganisme yang masih utuh bagiannya, masih hidup namun dilemahkan, sudah mati, atau yang telah diolah misalnya toksin mikroorganisme yang telah diolah menjadi toksoid, protein rekombinan yang bila diberikan kepada seseorang akan menimbulkan kekebalan spesifik secara aktif terhadap penyakit infeksi tertentu (Depkes RI, 2013).

VAKSIN miRNA SEBAGAI AGEN TERAPI TUBERCULOSIS

Durasi pengobatan yang panjang dan kompleks serta kemungkinan terjadinya *Multi Drug Resistance* (MDR) TB, mendorong pada pengembangan dan penemuan pengobatan TB yang lebih baik.

Menurut Laurenzi *et al.* (2007), pengembangan dan peningkatan terapi TB sampai saat ini sudah berfokus mulai dari jangka pendek seperti memperpendek durasi pengobatan pada TB aktif untuk meningkatkan kepatuhan pasien sampai kepada jangka panjang seperti mengurangi beban sarana dan prasarana kesehatan, mengurangi angka kejadian MDR-TB dan XDR-TB dengan cara meningkatkan tingkat keamanan, tingkat toleransi dan mekanisme obat TB. Hingga saat ini, fokus mengenai perkembangan obat TB yang aman dan efektif masih terus

berlanjut, salah satunya dengan mekanisme mengurangi enzim induksi dan inhibitor hati sitokrom P450 untuk memfasilitasi pengobatan pasien yang terinfeksi *M.Tb* dan HIV dan memperpendek pengobatan LTBI (Laurenzi *et al.*, 2007).

Oleh karena itu, perlu adanya vaksin sebagai terapi alternatif *Tuberculosis* yaitu vaksin miRNA.

miRNA-99B DAN miRNA-223 SEBAGAI AGEN TERAPI TUBERCULOSIS YANG POTENSIAL

Penemuan terkini, *Ribonucleic Acid interference* (RNAi), dapat diterapkan sebagai alternatif terapi baru terhadap berbagai penyakit infeksi yang menginduksi *innate immune* (Kumar *et al.*, 2008). RNAi merupakan suatu mekanisme spesifik dan efisien dalam mengontrol ekspresi gen suatu sel yang terdiri dari miRNA, siRNA, dan shRNA (Ebbesen *et al.*, 2008). Mekanisme regulasi sel ini menggunakan *double-stranded RNA* (dsRNA) sebagai pencetus *direct homology-dependent control gene activity* seperti tercantum pada gambar 4 (Kim dan Rossi, 2008).

MicroRNA (miRNA) adalah nukleotida rantai pendek (19-24), non-coding RNA dan hasil evolusi dari prokariot ke eukariot. miRNA berperan dalam mengatur ekspresi gen suatu target melalui pengikatan messenger RNA

(mRNA) dan menstimulasi degradasi mRNA sehingga mencegah terjadinya translasi (O' Connel et al., 2010). miRNA merupakan suatu agen terapi yang berpotensi untuk melawan infeksi virus yang non-imunogenik, membutuhkan kapasitas koding yang rendah, dan dapat dengan cepat berubah untuk menyesuaikan terhadap perkembangan target. Selain itu, miRNA juga memiliki spesifisitas yang tinggi dalam menyerang mRNA target dan dapat meregulasi *multiple transcripts to varying degrees* (Kanthikeel dan Nair, 2015).

Singh *et al.* (2013) dalam penelitiannya menjelaskan bahwa terdapat sejumlah miRNA pada pasien TB yang mengalami peningkatan, di antaranya: miRNA-710, miRNA-881*, miRNA-882, miRNA-877, miRNA-146a, miRNA-125a-5p, miRNA-99b, dan miRNA-122. Namun, hanya miRNA-99b yang mengalami peningkatan jumlah secara drastis. Terjadinya over ekspresi miRNA-99b dalam sel selanjutnya diketahui menurunkan ekspresi TNF- α tetapi tidak IFN- γ . Hal ini membuktikan bahwa miRNA-99b bekerja dengan target reseptor gen TNF- α dan TNSRF-4. Seperti diketahui, TNF- α merupakan salah satu sitokin pro-inflamasi yang bekerja menginduksi molekul pro-inflamasi lainnya seperti sitokin, kemotaktik sitokin, kemokin, IL-8, CCL3, CCL4, CCL2,

prostaglandin, matriks metallopeptidase (MMPs), *reactive oxygen species* (ROS), dan *reactive nitrogen intermediates* (RNI) (Sigma-Aldrich, 2017). Pada penelitian tersebut kemudian dilakukan blokade miRNA-99b oleh antagomir (anti-miRNA-99b) yang berlangsung sangat baik, dengan nilai efisiensi transfeksi >95%. Lebih lanjut, blokade miRNA-99b meningkatkan produksi TNF- α protein, IL-6, IL-12, dan IL-1 β . Baik secara langsung maupun tidak langsung, peningkatan produksi substrat sitokin akan meningkatkan beban hidup bakteri (*bacterial burden*) di dalam sel, yang akhirnya akan meningkatkan *clearance* bakteri dalam sel yang terinfeksi. Hal tersebut mengindikasikan pentingnya blokade miRNA-99b dalam penyembuhan penyakit TB aktif maupun laten (Singh *et al.*, 2013).

Penelitian lainnya membuktikan adanya peningkatan jumlah miRNA-223 yang ditemukan dalam darah dan jaringan parenkim paru-paru pasien TB. Lebih lanjut, diketahui miRNA-223 bertanggung jawab dalam regulasi respons inflamasi fagosit mononuklear dengan cara menghambat ekspresi NF- κ B kinase subunit α (IKK α). Proses tersebut terjadi ketika monosit berubah menjadi makrofag. miRNA-223 juga memiliki tempat kerja target langsung, di antaranya: CXCL2, CCL3, dan IL-6. Penghilangan gen miRNA-223 pada tikus menyebabkan

peningkatan kerentanan sistem imun terhadap TB. Hal tersebut diakibatkan adanya kelainan migrasi *polymorphonuclear* (PMN) dan eksaserbasi inflamasi paru-paru (Dorhoi *et al.*, 2013). PMN merupakan sel darah putih bergranul (neutrofil, eosinofil, dan basofil) yang diproduksi ketika terjadi inflamasi dan reaksi alergi (National Cancer Institute, 2017). Dalam penelitian Dorhoi *et al.* (2013), sejumlah miRNA meningkat pada penderita TB paru-paru (aktif maupun laten), di antaranya: miRNA-629, miRNA-197, miRNA-625, miRNA-223, miRNA-22, dan miRNA-335*. Over ekspresi miRNA-223 diteliti lebih lanjut, kemudian diketahui memegang peranan penting dalam patogenensis TB dan proteksi sel, terutama melalui mekanisme penggabungan sel darah putih. Selain itu, over ekspresi miRNA-223 menurunkan aktivitas NF- κ B, suatu protein yang bertanggung jawab terhadap transkripsi DNA, produksi sitokin, dan kelangsungan hidup sel. Hal-hal ini mengindikasikan pentingnya over ekspresi miRNA-223 sampai tingkat jenuh dalam sel untuk menurunkan kerentanan sel inang terhadap TB.

Berikut susunan urutan basa nitrogen miRNA-99b, antisense miRNA-99b, anti-miRNA-99b, dan miRNA-223 yang akan digunakan sebagai inovasi terapi:

Jenis miRNA	Urutan Basa Nitrogen
miRNA-99b	5'-CAC CCG UAG AAC CGA CCU UGC G-3'
Antisense miRNA-99b	3'-GUG GGU AUC UUG GCU GGA ACG C-5'
Anti-miRNA-99b	5'-C GCA AGG UCG GUU CUA UGG GUG- 3'
miRNA-223	5'-CGU GUA UUU GAC AAG CUG AGU U-3'

(mirbase.org, 2017)

VIRUS INFLUENZA SEBAGAI VIRAL VECTOR AGEN TERAPI MIRNA

Dalam penerapan miRNA atau anti-miRNA sebagai suatu agen terapi, maka diperlukan agen khusus untuk menghantarkan materi genetik yang berfungsi meningkatkan produksi ataupun menghambat pembentukan miRNA endogen. Salah satunya adalah dengan menggunakan *delivery system*. *Delivery system* miRNA dapat dilakukan dengan menggunakan *viral* dan *non-viral vector*. Virus dapat digunakan sebagai *delivery system* dengan memodifikasi virus di beberapa posisi tertentu, yang dapat menurunkan tingkatan virulen sehingga dapat meningkatkan keamanan. Penggunaan virus sebagai *delivery system* memiliki beberapa keunggulan, seperti

memiliki tingkat transfeksi dan efisiensi serta memiliki tingkat ekspresi yang sangat konstan (Yang, 2015).

Salah satu *viral vector* yang dapat digunakan adalah virus influenza yang juga digunakan sebagai vaksin terhadap flu. Vaksin ini merupakan salah satu imunisasi yang disarankan untuk diberikan pada bayi atau *infant* (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2013). Penggunaan virus influenza sebagai *viral vector* merupakan suatu tindakan pendukung program pemerintah dalam penyelenggaraan imunisasi dan peningkatan kualitas hidup yang salah satunya dapat dicapai dengan menurunkan kasus TB. Selain itu, alasan lain yang mendukung virus influenza dijadikan *viral vector* agen miRNA adalah (1) genom RNA virus influenza merupakan pemicu kekebalan tubuh yang potensial dengan menstimulasi pembentukan RIG-1 dan IFN- β , (2) dapat menginduksi respon imun selular yang kuat setelah dilakukannya imunisasi, (3) dapat menstimulasi respon sel T, (4) praktis dan efisien, (5) terdapat beberapa segmen gen yang dapat dimodifikasi dalam proses pembentukan virus influenza rekombinan dengan menyisipkan gen asing dalam segmen yang tersedia pada genom virus influenza (Li, Arevalo dan Zeng, 2013).

LANGKAH IMPLEMENTASI VAKSIN ANTI-miRNA-99B DAN miRNA-223

Sebagai bahan terapi, miRNA-99b dapat diisolasi dari pasien TB aktif. Karena yang digunakan adalah antagonis miRNA-99b, maka perlu dilakukan proses lebih lanjut dengan membuat rantai antisense miRNA-99b yang kemudian diputar atau dengan cara yang lebih efektif dan efisien yaitu pembentukan rekayasa genetika (*mimics*) dengan menyusun urutan basa nitrogen sesuai dengan urutan basa penyusun anti-miRNA-99b. Hal yang sama dapat diimplementasikan pada miRNA-223. Setelah masing-masing bahan didapat, dilakukan penyisipan miRNA kedalam *vector*.

miRNA yang akan digunakan (agen miRNA) dapat disisipkan ke dalam virus influenza sebagai *vector* yang mampu memuat 8-11 KB. Sebagai tempat penyisipan miRNA pada virus, diperlukan suatu protein dominan vRNA. Salah satu vRNA dominan pada virus influenza yang dapat digunakan adalah PB1 (salah satu subunit *RNA-dependent RNA polymerase*). Namun, adanya protein dominan vRNA sebagai tempat penyisipan miRNA saja tidak cukup, diperlukan suatu tempat melekatnya miRNA pada virus (*binding site*). Oleh karena itu, dibutuhkan suatu *miRNA Response Element* (MRE). Dengan adanya MRE, virus akan mengenali agen

miRNA. PB1 yang telah mengandung MRE dan agen miRNA, disebut sebagai mu-PB1 (mutan-PB1) yang kemudian diperbanyak dengan amplifikasi menggunakan PCR (Shen, et al., 2015; Tenover, 2010).

Penyisipan agen miRNA ke dalam mu-PB1 ini dibawa oleh plasmid pDP2000 yang kemudian ditransfeksikan pada campuran kultur HEK293T dan MDCK. Proses transfeksi bertujuan untuk membentuk miRT-H1N1 yang mengandung mu-PB1. Virus rekombinan ini kemudian di titrasi, kemudian dianalisis dan siap di gunakan (Shen, et al., 2015). Kombinasi anti-miRNA 99b dan miRNA 223 dengan menggunakan teknologi virus rekombinan merupakan inovasi baru untuk pengobatan TB. Inovasi baru ini memiliki potensi yang tinggi untuk dikembangkan sebagai pengobatan utama dalam penyakit TB yang diharapkan dapat menyelesaikan salah satu penyakit epidemi terbesar di dunia. Hal ini selaras dengan tujuan *Sustainable Development Goals* (SDGs) yang tercantum pada poin 3.3 yaitu mengakhiri epidemi TB di seluruh dunia.

Proses pengembangan dan penelitian vaksin anti-miRNA-99b dan miRNA-223 harus dilakukan pada laboratorium dengan tingkat keamanan biologi minimal tiga atau *Biosafety level 3* (BSL 3). Penerapan BSL 3 digunakan untuk agen-agen eksotik yang dapat

berpotensi terjangkit penyakit berbahaya seperti fasilitas klinis, riset, diagnostik, dan produksi. Perbedaan mendasar antara BSL 1 dan BSL 2 dengan BSL 3 terletak pada fasilitas-fasilitas khusus dan prosedur yang mendukung kegiatan penelitian. Seluruh prosedur yang menyangkut penanganan material berbahaya harus dilakukan dalam wadah tertutup oleh pekerja yang memakai peralatan dan baju pelindung khusus. Sebelumnya, para pekerja laboratorium harus mendapatkan pelatihan khusus terlebih dahulu dalam hal penanganan agen-agen patogenik berbahaya. Kegiatan penelitian pada BSL 3 diawasi langsung oleh ilmuwan yang berkompotensi dan berpengalaman dalam bekerja dengan agen-agen tersebut. Contoh agen biologi dengan kategori level keselamatan biologi tiga antara lain: virus anthrax, HIV, SARS, tuberculosis, virus cacar, thypus dan avian influenza. Salah satu laboratorium tingkat BSL 3 di Indonesia berada di Kementerian Kesehatan Republik Indonesia di Jakarta.

Beberapa langkah penerapan vaksin miRNA sebagai inovasi terapi diantaranya:

1. Pengajuan usulan kepada pemerintah.

Usulan mengenai penggunaan vaksin miRNA yang telah terbukti menurunkan epidemi TB sebagai inovasi terapi dapat disampaikan melalui kementerian kesehatan RI.

2. Bekerja sama dengan industri farmasi dalam pembuatan vaksin. Kerja sama dengan industri farmasi yang kompatibel dan memiliki wewenang dalam pembuatan vaksin untuk memproduksi anti-miRNA-99b dan miRNA-223 berbasis vaksin influenza.
3. Sosialisasi vaksin. Sosialisasi vaksin dapat dilakukan baik oleh pemerintah, tenaga kesehatan, maupun tenaga pendidikan kepada masyarakat tentang pentingnya vaksinasi. Dalam sosialisasi ini juga ditekankan pengaruh vaksin miRNA untuk mengakhiri epideimi TB.
4. Penerapan vaksin sebagai terapi *Tuberculosis*. Anti-miRNA-99b dan miRNA-223 dapat diberikan *pre* dan *pasca* paparan *M.tb*. Penggunaan miRNA-223 berperan meningkatkan respon imun pada pasien *pre* TB, sedangkan anti-miRNA-99b berperan dalam delesi bakteri *M.Tb pasca* paparan TB. Kedua mekanisme tersebut merupakan langkah preventif sekaligus penanggulangan penyakit TB.

Peningkatan produksi sitokin dalam tubuh dapat dilakukan dengan penggunaan agen terapi Anti-miRNA-99b. Hal ini berujung pada meningkatnya *clearance* bakteri *M.Tb* dalam sel. Sedangkan penggunaan miRNA-223 berfungsi dalam peningkatan sistem imun pada pasien penyakit TB. Efektivitas inovasi terapi ini sudah teruji secara praklinis sehingga dapat diaplikasikan baik *pra* ataupun *pasca* paparan bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Centers for Disease Control and Prevention. 2016. Treatment for TB disease. US department of Health and Human Services. Available online at <https://www.cdc.gov/tb/topic/treatment/tbdisease.htm> [diakses online 14 Maret 2017].
- Chen SH, Yeh TM, Chen CC. 2011. Integration servqual model and performance control matrix to improve service quality for the hot spring industry. *Journal Business*.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2013. *Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 42 Tahun 2013 Tentang Penyelenggaraan Imunisasi*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta: Depkes RI.

SIMPULAN

- Dorhoi A, Iannaccone M, Farinacci M, Fae KC, Schreiber J, Moura-Alves P., Nouailles G., Mollenkopf, H.J., Oberbeck-Müller D., Jorg S., Henemann E., Hahnke K., Lowe D., Nonno F.D., Goletti D., Capparelli R., Kaufmann S.H.E. 2013. MicroRNA-223 controls susceptibility to tuberculosis by regulating lung neutrophil recruitment. *J Clin Invest* 123(11): 4836-4848.
- Ebbesen M., Jensen T.G., Andersen S., Pedersen S. 2008. Ethical perspectives on RNA interference therapeutics. *Int J Med Sci.* 5(3): 159-168
- Fu Y., Yi Z., Wu X., Li J., Xu F. 2011. Circulating microRNAs in patients with active pulmonary tuberculosis. *J Clin Microbiol* 49(12): 4246-4251.
- Jordao, L. Dan Otilia V. Vieira. 2011. Tuberculosis: new aspects of an old disease. *International Journal of Cell Biology.* Volume 2011.
- Kanthikeel S.P. dan Nair M.P.N. 2015. Interaction of drugs of abuse and microRNA with HIV: a brief review. *Front. Microbiol.* 6(967). Doi: 10.3389/fmicb.2015.00967.
- Kim D.H. dan Rossi J.J. 2008. RNAi mechanism and applications. *Biotechniques.* 44(5): 613-616
- Kumar P., Ban, H.S., Kim S.S., Wu H., Pearson T., Greiner D.L., Laouar A., Yao J., HARidas V., Habiro K., Yang YG., Jeong JH., Lee KY., Kim YH., Kim SW., Peipp M., Fey GH., Manjunath N., Shultz LD., Lee SK., Shankar P. 2008. T cell-specific siRNA delivery suppresses HIV-1 infection in humanized mice. *Cell.* 134(4): 577-586.
- Laurenzi, M., A. Ginsberg dan M. Spigelman. 2007. challenges associated with current and future TB treatment. *Infectious Disorders - Drug Targets* 2007, 7, 105-119.
- Li J, Arevalo M.T., dan Zeng M. 2013. Engineering influenza viral vectors. *Bioengineered.* 4(1): 9-14
- Li M, Ding X., He M., Cheung S. 2011. MicroRNA and cancer. *APPS J.* 2011 Bovell L, Putcha B, Samuel T, Manne U. Clinical implications of microRNAs in cancer. *Biotech Histochem.* 88(7):388-96.
- Ma F, Xu S, Liu X, Zhang Q, Xu X, Liu M, Hua M, Li N, Yao H, Cao X. 2011. The microRNA miR-29 controls innate and adaptive immune responses to intracellular bacterial infection by targeting

- interferon-gamma. *Nat Immunol* 12(9): 861-869.
- Mirbase.org. 2017. Stem-loop sequence hsa-mir-223. Available online at http://www.mirbase.org/cgi-bin/mirna_entry.pl?acc=MI0000300 [diakses online 19 Maret 2017].
- National Cancer Institute. 2017. Polymorphonuclear Leukocyte. Available online at <https://www.cancer.gov/publication/dictionaries/cancer-terms?cdrid=633963> [diakses online 19 Maret 2017].
- O' Connel, R.M., Rao D. S., Chaudhuri A. A., dan Baltimore D. 2010. Physiological and pathological roles for microRNAs in the immune system. *Nat Rev Immunol* 10(2): 111-122
- Peyron P., J. Vaubourgeix, Y. Poquet, F. Levillain, C. Botanch, F. Bardou, M. Da'é, J.F. Emile, B. Marchou, P.J. Cardona, C. de Chastellier and F. Altare. 2008. Foamy macrophages from tuberculous patients' granulomas constitute a nutrient-rich reservoir for *M. Tuberculosis* persistence. *PLoS Pathog.* 4: e1000204.
- Shen X., Sun W., Shi Y., Xing Z., Su X. 2015. Altered viral replication and cell responses by inserting microRNA recognition element into PB1 in pandemic influenza A virus (H1N1) 2009. *Mediators of Inflammation.* 1-15. doi: 10.1155/2015/976575.
- Sigma-Aldrich. 2017. Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α). Available online at <http://www.sigmaaldrich.com/life-science/cell-biology/cell-biology-products.html?TablePage=14576697> [diakses online 19 Maret 2017].
- Singh Y, Kaul V, Mehra A, Chatterjee S, Tousif S, Dwivedi VP, Suar M, Van Kaer L, Bishai WR, Das G. 2013. Mycobacterium tuberculosis controls microRNA-99b (miR-99b) expression in infected murine dendritic cells to modulate host immunity. *Journal of Biological Chemistry.* Volume 288. No.7.
- Somantri, I. 2007. Keperawatan Medikal Bedah: Asuhan Keperawatan pada Pasien dengan Gangguan Sistem Pernapasan. Jakarta: Salemba Medika.
- Tenoever B. 2010. Live attenuated influenza virus vaccines comprising microRNA response elements. Google Patents.
- World Health Organization (WHO) . 2010. Treatments of Tuberculosis Guideline fourth Edition. World Health Organization. Jenewa.

- World Health Organization (WHO). 2014. Global Tuberculosis Report 2014. World Health Organization. Jenewa.
- World Health Organization (WHO). 2015. Global Tuberculosis Report 2015. World Health Organization. Jenewa.
- World Health Organization (WHO). 2016. Global Tuberculosis Report 2016. World Health Organization. Jenewa.
- Wuchty S, Arjona D, Bozdog S, Bauer PO. 2012. Involvement of microRNA families in cancer. *Nucleic Acids Res.* 40(17):8219–26.
- Yang, N. 2015. An overview of viral and nonviral delivery system for microRNA. *Int J Pharm Investig.* 5(4): 179-181.
- Zaman, K. 2010. Tuberculosis: a global health problem. *J Health Popul Nutr.* Vol. 2: 111-113.
- Zhang Y., Wang Z., Gemeinhart R.A. 2013. Progress in microRNA delivery. *J Control Release.* 172 (3): 962-974.