

Penerapan DNA Rekombinan Dalam Terapi Gen: Vaksin DNA SARS-CoV-2 dan Terapi Kanker

Rofi Yoga Ardandi¹, Suci Nurhliza¹, Pitha Maykania Poty¹, Nindy Putri Sha¹, Rani Himayani², Soraya Rahmanisa³

¹ Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

²Bagian Ilmu Kedokteran Mata, Fakultas Kedokteran Mata, Universitas Lampung

³Bagian Biokimia dan Biomolekuler, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

Abstrak

Teknologi DNA rekombinan merupakan penggabungan materi genetik dari dua sumber yang berbeda. DNA rekombinan mengacu pada penggabungan materi genetik dari dua sumber yang berbeda untuk menciptakan organisme yang baru atau untuk memproduksi protein yang tertentu. Tujuan utama dari rekombinasi genetik adalah untuk menghasilkan organisme yang lebih berkembang dan beradaptasi, serta mengembangkan strategi bioteknologi, seperti produksi protein rekombinan. Teknologi ini diterapkan dalam klinis dan pengobatan seperti vaksin. Vaksin rekombinan dibuat dengan memanfaatkan teknologi DNA rekombinan, yaitu teknik kloning gen yang dimodifikasi untuk menghasilkan produk protein spesifik yang dicari. Kloning gen adalah prosedur dimana DNA atau gen asing dimasukkan ke dalam sel inang menggunakan vektor. Kloning gen melibatkan penyisipan gen yang diinginkan ke dalam vektor, sehingga menghasilkan penciptaan DNA rekombinan yang dapat bereplikasi di dalam sel inang, contohnya adalah vaksin DNA SARS-CoV-2. Virus onkolitik, *Gendicine*, *Modified Virus Ankara* (MVA) merupakan teknologi DNA rekombinan untuk terapi kanker. Keunggulan terapi ini yaitu kemampuannya untuk membentuk kombinasi materi genetik yang baru dengan cara penyisipan molekul; teknologi rekombinasi DNA memungkinkan produksi molekul protein tertentu dalam jumlah besar, yang dapat digunakan dalam pembuatan obat-obatan; produksi zat terapeutik oleh strain organisme dapat dicapai melalui penggunaan teknologi DNA rekombinan; obat yang memiliki sifat unik yang sulit atau tidak mungkin diperoleh melalui pendekatan tradisional dapat dibuat melalui rekombinasi DNA; serta rekombinasi DNA memainkan peran penting dalam pembuatan obat dengan memfasilitasi sintesis molekul terapeutik penting untuk kesehatan manusia. Sementara kelemahannya yakni berdampak negatif pada lingkungan, memerlukan pengawasan yang ketat untuk memastikan keselamatan dan keamanan, serta kontroversi etis. Teknologi ini memiliki banyak manfaat, namun perlu dipertimbangkan beberapa kerugian serta dampak buruk yang dapat ditimbulkan.

Kata Kunci: DNA rekombinan, kanker, terapi gen, vaksin

Application of Recombinant DNA in Gene Therapy: SARS-CoV-2 DNA Vaccine and Cancer Therapy

Recombinant DNA technology is the fusion of genetic material from two different sources. Recombinant DNA refers to combining genetic material from two different sources to create a new organism or to produce a specific protein. The main purpose of genetic recombination is to produce more evolved and adapted organisms, as well as develop biotechnology strategies, such as recombinant protein production. This technology is applied in clinical and medicine such as vaccines. Recombinant vaccines are made by utilizing recombinant DNA technology, which is a gene cloning technique that is modified to produce the specific protein product sought. Gene cloning is a procedure by which foreign DNA or genes are inserted into a host cell using a vector. Gene cloning involves the insertion of a gene of interest into a vector, resulting in the creation of recombinant DNA that can replicate within the host cell, an example being the SARS-CoV-2 DNA vaccine. Oncolytic virus, *Gendicine*, *Modified Virus Ankara* (MVA) are recombinant DNA technologies for cancer therapy. The advantages of this therapy are its ability to form new combinations of genetic material by insertion of molecules; DNA recombination technology allows the production of large quantities of certain protein molecules, which can be used in the manufacture of drugs; the production of therapeutic substances by strains of organisms can be achieved through the use of recombinant DNA technology; drugs that have unique properties that are difficult or impossible to obtain through traditional approaches can be made through DNA recombination; and DNA recombination plays an important role in drug manufacturing by facilitating the synthesis of therapeutic molecules important for human health. The disadvantages are that it has a negative impact on the environment, requires strict supervision to ensure safety and security, and ethical controversies. This technology has many benefits, but it is necessary to consider some of the disadvantages and adverse effects that can be caused.

Keywords: Cancer, gene therapy, vaccine, recombinant DNA

Korespondensi: Rofi Yoga Ardandi, alamat Jl. Anggrek No. 86 Rajabasa Jaya, Kec. Rajabasa, Bandar Lampung, Lampung, HP 085156864301, e-mail rofiyogaardandi@gmail.com

Pendahuluan

Bioteknologi merupakan perpaduan antara ilmu biologi dan teknologi yang memanfaatkan prinsip-prinsip biologi molekuler, genetika, dan teknologi rekayasa genetika. Pada modern ini, bioteknologi telah berkembang pada bidang kesehatan, khususnya dalam meningkatkan diagnosis, pengobatan, dan pencegahan berbagai penyakit manusia. Dalam beberapa dekade terakhir, kemajuan signifikan dalam bidang ini telah membawa perubahan besar dalam paradigma pengobatan. Teknologi DNA rekombinan memungkinkan produksi obat-obatan biologis seperti insulin rekombinan untuk diabetes, vaksin DNA untuk pencegahan penyakit menular, dan terapi gen yang menjanjikan untuk mengatasi penyakit genetik yang sulit diobati.⁸

Pada abad sebelumnya, konsep teknologi DNA rekombinan hanyalah sebuah gagasan hipotesis yang berupaya meningkatkan sifat-sifat yang diinginkan dalam organisme hidup melalui pengaturan ekspresi gen target. Namun, di zaman modern, bidang ini telah menunjukkan pengaruh yang khas dalam mendorong kemajuan umat manusia. Teknologi ini memungkinkan produksi protein penting yang aman, hemat biaya, dan berlimpah yang diperlukan untuk mengatasi masalah kesehatan dan kebutuhan makanan. Teknik ini memiliki beragam penerapan di berbagai disiplin ilmu dan memiliki kemampuan untuk mengatasi bidang-bidang penting dalam kehidupan, seperti kesehatan yang lebih baik, peningkatan sumber daya pangan, dan peningkatan ketahanan terhadap berbagai dampak buruk terhadap lingkungan. Selain itu, obat-obatan rekombinan saat ini digunakan dengan percaya diri dan dengan cepat memperoleh izin komersial. Teknologi DNA rekombinan, terapi gen, dan perubahan genetik banyak digunakan untuk bioremediasi dan pengobatan penyakit parah. Artikel ini berfokus pada potensi dan pentingnya penerapan teknologi DNA rekombinan untuk terapi gen, yang telah mengalami kemajuan signifikan dan memiliki berbagai tujuan praktis.⁶

Isi

DNA rekombinan mengacu pada penggabungan materi genetik dari dua sumber yang berbeda untuk menciptakan organisme yang baru atau untuk memproduksi protein yang tertentu. Tujuan utama dari rekombinasi genetik adalah untuk menghasilkan organisme yang lebih berkembang dan beradaptasi, serta mengembangkan strategi bioteknologi, seperti produksi protein rekombinan. Beberapa contoh organisme yang dihasilkan melalui rekombinasi genetik meliputi organisme dari sel darah agar-agar dan sel jantung, maupun bakteri produksi protein rekombinan.⁴

Teknologi ini memerlukan penggabungan fragmen DNA dari berbagai sumber, yang mengandung urutan gen yang diinginkan, menggunakan vektor yang sesuai. Proses pembelahan enzimatik digunakan untuk menghasilkan fragmen DNA yang berbeda dengan menggunakan endonuklease restriksi yang menargetkan sekuens DNA tertentu. Selanjutnya, aktivitas DNA ligase digunakan untuk menggabungkan fragmen-fragmen tersebut dan menyisipkan gen yang sesuai ke dalam vektor. Selanjutnya, vektor dimasukkan ke dalam organisme inang, yang dibudidayakan untuk menghasilkan beberapa salinan fragmen DNA terintegrasi dalam lingkungan yang terkendali. Pada akhirnya, klon spesifik yang membawa fragmen DNA yang diinginkan dipilih dan dikumpulkan.⁶

Pembuatan vaksin rekombinan merupakan salah satu contoh pemanfaatan DNA rekombinan. Vaksin adalah metode untuk membangkitkan respons imun terhadap patogen berbahaya. Vaksin generasi awal, yang menggunakan mikroorganisme berbahaya yang dilemahkan, telah banyak digunakan. Vaksinasi generasi pertama sering kali mengalami mutasi yang kembali menjadi ganas, sehingga menimbulkan efek buruk pada sel inang. Vaksin generasi kedua terdiri dari mikroorganisme yang tidak aktif, yang biasanya diolah dengan bahan kimia tertentu seperti formalin atau fenol. Vaksin-vaksin ini sering kali terbukti tidak efektif dan tidak memberikan respons imunologi yang diinginkan dalam tubuh. Vaksinasi generasi ketiga, yang dikenal sebagai vaksin subunit protein rekombinan,

dirancang untuk mengatasi keterbatasan yang terdapat pada vaksin generasi pertama dan kedua. Vaksin subunit protein dibuat dengan memanfaatkan teknologi DNA rekombinan untuk menghasilkan fragmen antigenik yang berasal dari mikroba. Pengembangan vaksin DNA terjadi bersamaan dengan kemajuan teknologi DNA rekombinan, yang mewakili vaksin generasi keempat.⁷

Berbagai kategori vaksinasi yang saat ini digunakan di lingkungan komersial termasuk vaksin konvensional, vaksin rekombinan, dan vaksin antigen murni. Vaksin rekombinan dibuat dengan memanfaatkan teknologi DNA rekombinan, yaitu teknik kloning gen yang dimodifikasi untuk menghasilkan produk protein spesifik yang dicari. Kloning gen adalah prosedur dimana DNA atau gen asing dimasukkan ke dalam sel inang menggunakan vektor. Kloning gen melibatkan penyisipan gen yang diinginkan ke dalam vektor, sehingga menghasilkan penciptaan DNA rekombinan yang dapat bereplikasi di dalam sel inang.⁷

Salah satu contoh penggunaan teknologi ini ialah vaksin DNA SARS-CoV-2. Vaksin DNA tampaknya solusi yang menjanjikan karena vaksin DNA dapat dikembangkan dengan cepat dalam memunculkan antibodi penawar terhadap antibodi baru. Selain mengekspresikan antigen protein utuh, vaksin DNA juga dapat dibuat untuk menyertakan antigen spesifik gen nukleotida yang mengkode epitop yang sangat terkonservasi dan imunogenik dari protein S dan juga dari protein lainnya protein struktural/non-struktural untuk mengembangkan vaksin yang efektif melawan varian yang menjadi perhatian.⁵

Berbagai pendekatan, seperti memasukkan gen penekan tumor ke dalam imunoterapi, viroterapi onkologi, dan pengobatan prodrug enzim yang diarahkan pada gen, telah digunakan untuk mengobati berbagai bentuk kanker. *Oncolytic viruse* (OV) adalah organisme yang memiliki kemampuan untuk secara khusus mengenali, menyerang, dan menghancurkan sel-sel tertentu di dalam lingkungan mikro tumor, dengan tujuan menstabilkan dan mengurangi pertumbuhan tumor. Virus ini mungkin menunjukkan afinitas yang melekat pada sel kanker atau memiliki

modifikasi genetik yang memungkinkannya mengenali target tertentu.¹

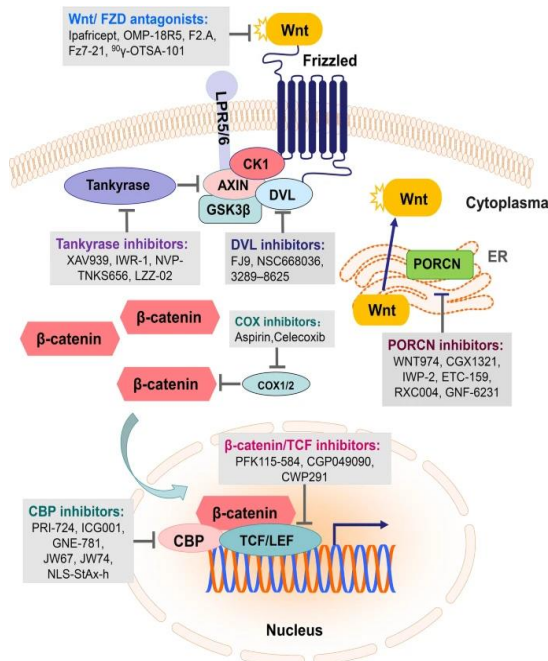
Salah satu virus onkolitik yang sering digunakan dalam terapi kanker adalah dari keluarga adenovirus, termasuk adenovirus tipe 5 yang sering digunakan untuk terapi onkolitik karena kemampuannya untuk dikenali oleh *Toll-like receptor* (TLR) baik pada membran sel (TLR-2) atau di dalam sel (TLR-9), sehingga memicu beberapa jalur untuk menginduksi respons inflamasi profil Th1. Selain itu, Adenovirus memiliki kemampuan untuk memicu jalur tambahan dari sistem kekebalan tubuh, seperti sistem komplemen, yang pada gilirannya menstimulasi proses opsonisasi. Hal ini menyebabkan peningkatan tingkat migrasi sel inflamasi dan pembentukan sitokin inflamasi, yang pada akhirnya membantu penghancuran sel yang terinfeksi.¹

Pada akhirnya, infeksi virus dan proses inflamasi menginduksi stres seluler, yang mengakibatkan kematian sel tumor melalui nekrosis, autofagi, atau apoptosis. Hal ini juga menyebabkan pelepasan DAMP atau PAMP di lingkungan inflamasi, yang pada gilirannya memicu pematangan dan pergerakan sel inflamasi, serta produksi sitokin. Selain itu, selain secara langsung membunuh sel tumor, adenovirus juga memiliki kemampuan untuk memicu perkembangan memori imunologis terhadap tumor, yang membantu dalam memerangi penyebaran kanker ke bagian tubuh lainnya.¹

Gen p53, yang sering ditransfer, berfungsi sebagai komponen penting dalam upaya pengobatan kanker sebagai penekan tumor. Gendicine (*Recombinant Human P53 Adenovirus* [Ad5RSV-P53]) adalah vektor adenoviral non-replikasi, di mana gen E1 diganti dengan gen cDNA penekan tumor p53. Ekspresi p53 dalam sel tumor memicu efek antitumor dengan mengaktifkan jalur apoptosis, menghambat perbaikan DNA yang rusak, dan aktivitas anti-apoptosis. Mutasi gen P53 lazim terjadi pada beberapa jenis kanker. Oleh karena itu, Gendicine menginduksi ekspresi p53 mengembalikan aktivitasnya dan menghancurkan sel tumor. Secara umum, manajemen Gendicine menunjukkan 30-40% respons lengkap dan 50-60% respons parsial dengan tingkat respons total 90%-96% dalam

penggunaan terapi yang berbeda. Hingga saat ini, lebih dari 30.000 pasien telah ditangani oleh Gendicine.²

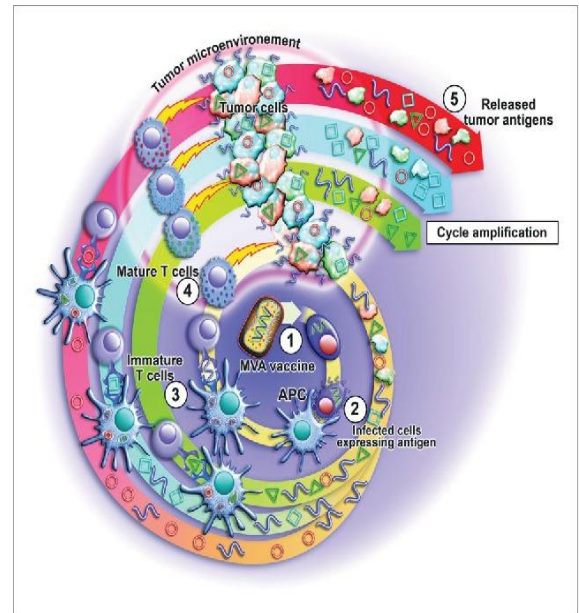
Jalur pensinyalan *Wnt/β-catenin* yang tidak lazim mendorong pembaruan sel punca kanker, serta proliferasi dan diferensiasi sel. Akibatnya, jalur ini memainkan peran penting dalam perkembangan tumor dan respons terhadap terapi. Ada beberapa intervensi yang menargetkan jalur pensinyalan *Wnt/β-catenin*, seperti antarmuka ligan/reseptor *Wnt*, kompleks penghancuran *β-catenin* dan kompleks transkripsi *TCF/β-catenin* dengan mekanisme seperti yang ditunjukkan pada **Gambar 1**.¹⁰



Gambar 1. Target Jalur Pensinyalan *Wnt/β-catenin*.¹⁰

Modified Virus Ankara (MVA) telah diproduksi dengan cara menginfeksi fibroblas embrio ayam secara berulang-ulang. MVA telah membuat virus induknya, virus *Chorioallantois Vaccinia Ankara*, menjadi tidak patogen dengan memodifikasi genomnya, yang mengakibatkan hilangnya 15% materi genetiknya. Virus ini memiliki kekurangan dalam kapasitasnya untuk bereplikasi di dalam sel manusia, oleh karena itu menjamin keamanan dan tolerabilitasnya untuk aplikasi terapeutik. Selain itu, ia menawarkan sistem

seluler yang hemat biaya untuk menghasilkan virus dalam jumlah besar dalam proses manufaktur yang mengandalkan telur.³



Gambar 2. Mekanisme Kerja Vaksin MVA.³

Mekanisme kerja vaksin MVA pada tingkat sel terdiri dari Infeksi sel (1), diikuti dengan intervensi *Antigen Presenting Cells (APC)* profesional (2) dan presentasi komponen virus termasuk transgen antigenik (3). Setelah *priming* dan pematangan, sel T efektor masuk ke dalam lokasi tumor dan mengerahkan aksi sitolitiknya pada sel tumor yang menyajikan antigen yang ditargetkan (4). Akibatnya, kematian sel tumor dapat melepaskan antigen kanker lain yang kemudian menyebabkan penyebaran respons (5).³

Jika dibandingkan dengan metode rekayasa genetika lainnya, rekombinasi DNA memiliki keunggulan yaitu memungkinkan penyisipan molekul untuk menciptakan kombinasi materi genetik baru. Beberapa contoh manfaatnya adalah sebagai berikut: teknologi rekombinasi DNA memungkinkan produksi molekul protein tertentu dalam jumlah besar, yang dapat digunakan dalam pembuatan obat-obatan; produksi zat terapeutik oleh strain organisme dapat dicapai melalui penggunaan teknologi DNA rekombinan; obat yang memiliki sifat unik yang sulit atau tidak mungkin diperoleh melalui pendekatan tradisional dapat dibuat melalui rekombinasi DNA; serta rekombinasi DNA

memainkan peran penting dalam pembuatan obat dengan memfasilitasi sintesis molekul terapeutik penting untuk kesehatan manusia.⁹

Menurut pihak berwenang yang dimintai pendapatnya, rekombinasi DNA memiliki sejumlah kelemahan bagi kesehatan Indonesia jika dibandingkan dengan metode rekayasa genetika lainnya. Beberapa kelemahan tersebut antara lain: penggunaan rekombinasi DNA dapat menimbulkan dampak buruk terhadap lingkungan, terutama jika makhluk hidup yang dihasilkan tidak terkendali dan mengganggu ekosistem; keselamatan dan keamanan umat manusia harus dijamin melalui peraturan ketat mengenai rekombinasi DNA, khususnya yang berkaitan dengan penciptaan spesies transgenik dan penerapan produk DNA rekombinan dalam aplikasi medis; serta penggunaan rekombinasi DNA dapat menimbulkan pertanyaan etis tentang penggunaan produk DNA rekombinan di masyarakat dan modifikasi genetik manusia dan makhluk lainnya.⁹

Ringkasan

Teknologi DNA rekombinan merupakan penggabungan materi genetik dari dua sumber yang berbeda. Teknologi ini diterapkan dalam klinis dan pengobatan seperti insulin rekombinan untuk diabetes, vaksin DNA untuk pencegahan penyakit menular, dan terapi gen. Vaksin rekombinan dibuat dengan teknik kloning gen yang dimodifikasi, contohnya vaksin DNA SARS-CoV-2. Teknologi ini juga diterapkan dalam terapi gen untuk pengobatan kanker, dengan cara memasukkan gen penekan tumor ke dalam imunoterapi, viroterapi onkologi, dan pengobatan prodrug enzim yang diarahkan pada gen.

Keunggulan terapi ini yaitu kemampuannya untuk membentuk kombinasi materi genetik yang baru dengan cara penyisipan molekul. Selain itu beberapa kelebihan lainnya ialah produksi protein spesifik, pengembangan strain organisme, dan pengembangan obat dengan karakteristik khusus. Sementara kelemahannya yakni berdampak negatif pada lingkungan, memerlukan pengawasan yang ketat untuk memastikan keselamatan dan keamanan, serta kontroversi etis terkait dengan modifikasi

genetik pada manusia dan organisme lain. Teknologi ini memiliki banyak manfaat, namun perlu dipertimbangkan beberapa kerugian serta dampak buruk yang dapat ditimbulkan.

Simpulan

Teknologi DNA rekombinan dapat diterapkan dalam berbagai terapi, diantaranya insulin rekombinan untuk diabetes, vaksin DNA contohnya vaksin DNA SARS-CoV-2, dan terapi gen yang diterapkan dalam pengobatan kanker. Teknologi DNA rekombinan memiliki keunggulan dalam menciptakan materi genetik baru, namun, masih memiliki kekurangan seperti, berdampak negatif pada lingkungan, masalah etis terkait modifikasi genetik makhluk hidup, dan memerlukan pengawasan terkait keamanan.

Daftar Pustaka

1. Apolonio JS, Goncalves VLS, Santos MLC, Luz MS, Souza JCS, Pinheiro SLR. Oncolytic virus therapy in cancer: A current review. *World Journal of Virology* [Internet]. 2021 [disitasi tanggal 21 Desember 2023]; 10(5): 229–255. Tersedia dari: <https://doi.org/10.5501/wjv.v10.i5.229>
2. Belete TM. The current status of gene therapy for the treatment of cancer. *Biologics: Targets and Therapy* [Internet]. 2021 [disitasi tanggal 22 Desember 2023]; 15:67–77. Tersedia dari: <https://doi.org/10.2147/BTT.S302095>
3. Bendjama K, Quemeneur E. Modified Vaccinia virus Ankara-based vaccines in the era of personalized immunotherapy of cancer. *Human Vaccines and Immunotherapeutics* [Internet]. 2017 [disitasi tanggal 19 Desember 2023]; 13(9). Tersedia dari: <https://doi.org/10.1080/21645515.2017.1334746>
4. Gordon SV, Yimenu D, Demissie A, Ameni G, Aseffa A, Tschopp R, dkk. *Ismael Special Issue on Bovine Tuberculosis in Ethiopia*. 2009.
5. Khalid K, Poh CL. The development of DNA vaccines against SARS-CoV-2. *Advances in medical sciences* [Internet]. 2023 [disitasi tanggal 21 Desember 2023]; 68(2): 213–226. Tersedia dari:

- <https://doi.org/10.1016/j.advms.2023.05.003>
6. Khan S, Ullah MW, Siddique R, Nabi G, Manan S, Yousaf M, dkk. Role of Recombinant DNA Technology to Improve Life. *International journal of genomics* [Internet]. 2016 [disitasi tanggal 21 Desember 2023]; 2405954. Tersedia dari: <https://doi.org/10.1155/2016/2405954>
 7. Susmiarsih TP. Kajian DNA Rekombinan pada Vaksin DNA dan Vaksin Subunit Protein. *Majalah Kesehatan PharmaMedika*. 2018; 10(2): 108-128.
 8. Tajuddin T. *Bioteknologi*. Edisi ke-2. Tangerang Selatan: Universitas Terbuka. 2021.
 9. Vipra M, Patil N, Sivaram A. Applications of Recombinant DNA Technology. In: Kalyuzhny AE, editor. *A Complete Guide to Gene Cloning: From Basic to Advanced*. Cham: Springer; 2022. p. 143-57.
 10. Zhang Y, Wang X. Targeting the Wnt/ β -catenin signaling pathway in cancer. *Journal of Hematology and Oncology* [Internet]. 2020 [disitasi tanggal 21 Desember 2023]; 13(1). Tersedia dari: <https://doi.org/10.1186/s13045-020-00990-3>