

Teknik Penyuntingan Gen Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats-Cas9 (CRISPR-Cas9) sebagai Terapi Penyakit Genetik Bawaan

Suryadi Islami¹, Rais Amara Haq², Nayla Nadhifah Arianto³, Diana Larisa Sabina⁴

^{1,2,3,4}Fakultas Kedokteran Universitas Lampung

Abstrak

Pengembangan terapi penyakit genetik bawaan dengan menggunakan teknologi CRISPR-Cas9 telah menunjukkan progres yang signifikan. Artikel ini membahas sejarah dan prinsip kerja CRISPR-Cas9, menyoroti aplikasinya dalam terapi penyakit genetik bawaan. Fokus penelitian ini mencakup penyakit seperti fibrosis kistik, talasemia, dan distrofi otot Duchenne. Terapi genetik dengan CRISPR-Cas9 melibatkan penyuntingan gen spesifik untuk mengoreksi mutasi penyebab penyakit, membuka peluang untuk pengobatan yang lebih efektif. Adapun penggunaan teknik tersebut memiliki berbagai hambatan, seperti potensi *off-target effects*, masalah etika, dan keamanan jangka panjang. Namun, upaya terus dilakukan untuk meningkatkan spesifisitas dan akurasi CRISPR-Cas9 sehingga pengembangan metode pengiriman yang efektif dan peningkatan keamanan menjadi fokus utama penelitian. Secara potensial, CRISPR-Cas9 dapat menjadi terapi genetik yang lebih spesifik dan personal, membuka peluang mengatasi penyakit genetik pada tingkat molekuler, serta memberikan alternatif terapi untuk penyakit-penyakit yang sulit diatasi sebelumnya. Selain itu, teknologi ini memiliki potensi untuk pencegahan penyakit genetik sejak dini dan pengembangan terapi gen yang lebih terjangkau. Kerjasama lintas disiplin menjadi kunci dalam mengoptimalkan potensi CRISPR-Cas9 untuk memastikan pengembangan terapi penyakit genetik yang etis dan bermanfaat bagi kesehatan manusia di masa depan.

Kata Kunci: CRISPR-Cas9, penyakit genetik bawaan, teknik penyuntingan gen, terapi genetik

Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats-Cas9 (CRISPR-CAS9) Gene Editing Technique as A Therapy for Inherited Genetic Diseases

Abstract

The development of therapy for inherited genetic diseases using CRISPR-Cas9 technology has shown significant progress. This article discusses the history and working principles of CRISPR-Cas9, highlighting its applications in the therapy of inherited genetic diseases. Current research focuses include diseases such as cystic fibrosis, thalassemia, and Duchenne muscular dystrophy. Genetic therapy with CRISPR-Cas9 involves editing specific genes to correct disease-causing mutations, opening up opportunities for more effective treatments. Regarding the use of this technique, there are various difficulties, such as potential off-target effects, ethical issues, and long-term safety. However, efforts continue to be made to improve the specificity and accuracy of CRISPR-Cas9 so that the development of effective delivery methods and improving safety has become a major focus of research. Potentially, CRISPR-Cas9 could become a more specific and personalized genetic therapy, opening up opportunities to treat genetic diseases at the molecular level and providing alternative therapies for diseases that were previously difficult to treat. In addition, this technology has the potential for early prevention of genetic diseases and the development of more affordable gene therapies. Interdisciplinary collaboration is key in optimizing the potential of CRISPR-Cas9 to ensure the development of genetic disease therapies that are ethical and beneficial to human health in the future.

Keywords: CRISPR-Cas9, congenital genetic diseases, gene editing, genetic therapy

Korespondensi: Rais Amara Haq, alamat Jl. Soemantri Brodjonegoro No. 1, Kec. Rajabasa, Bandar Lampung, HP 081532632490, e-mail amaralhaq12@gmail.com.

Pendahuluan

Teknik penyuntingan gen menggunakan sistem *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats-Cas9* (CRISPR-Cas9) telah muncul sebagai terobosan revolusioner dalam bidang bioteknologi, memberikan harapan baru dalam terapi penyakit genetik bawaan.^{1,2} Penyakit genetik bawaan merupakan kondisi yang terjadi karena kelainan pada DNA dan dapat diwariskan dari generasi ke generasi. Keberadaan penyakit genetik ini tidak hanya

memberikan dampak signifikan pada individu yang terkena, tetapi juga melibatkan aspek genetika yang mempengaruhi kesehatan keluarga dan generasi mendatang.³ Dalam konteks ini, literatur mencatat bahwa penyakit genetik bawaan dapat muncul dalam berbagai bentuk dan tingkat keparahan, memengaruhi berbagai sistem tubuh, seperti sistem saraf, sistem kardiovaskular, dan sistem kekebalan tubuh.³

Jenis-jenis penyakit genetik bawaan sangat bervariasi, termasuk kelainan kromosom, gangguan metabolisme, dan gangguan pada gen tunggal.^{3,4} Kelainan kromosom, seperti sindrom Klinefelter, sindrom Turner, dan sindrom Down, merupakan contoh kondisi yang disebabkan oleh ketidaknormalan jumlah atau struktur kromosom.⁵ Sementara itu, gangguan metabolisme seperti fenilketonuria (PKU) dan galaktosemia disebabkan oleh kelainan dalam proses metabolisme zat tertentu.⁶ Gangguan pada gen tunggal seperti fibrosis kistik, talasemia, dan distrofi otot Duchenne juga merupakan contoh penyakit genetik yang disebabkan oleh mutasi pada satu gen.⁷

Dampak penyakit genetik bawaan dapat mencakup berbagai masalah kesehatan, mulai dari gangguan perkembangan fisik dan mental hingga risiko tinggi terhadap penyakit tertentu.^{3,5-7} Selama ini, berbagai metode terapi telah diterapkan, termasuk terapi gen, terapi enzim, dan transplantasi sel punca (HSCT). Namun, kendala dan keterbatasan tertentu masih menghambat keberhasilan pengobatan penyakit genetik ini.⁸⁻¹⁰ Berdasarkan sebuah studi, pendekatan terapi gen memiliki beberapa tantangan, salah satunya adalah jumlah pasien yang datang seringkali tidak memiliki terapi spesifik sehingga dapat memengaruhi indikasi, pengaruh efikasi terapi, dan performa dari pengobatan.²⁰ Terapi enzim juga memiliki kekurangan dengan limitasi target sel neuron karena tidak dapat menembus sawar darah otak.⁹ Sedangkan, transplantasi sel punca membutuhkan fasilitas khusus granulosit-monosit progenitor (GMP) sehingga terbatas penggunaannya.²¹ Oleh sebab itu, pengembangan metode yang efektif untuk mengatasi penyakit genetik menjadi suatu kebutuhan mendesak.

Dalam beberapa tahun terakhir, teknologi CRISPR-Cas9 telah memperoleh perhatian besar sebagai alat penyuntingan gen yang potensial untuk mengatasi keterbatasan yang ada. CRISPR-Cas9 merupakan sistem RNA-guided endonuclease yang dapat diprogram untuk memotong dan menyunting DNA dengan tingkat presisi tinggi. Keunggulan utama dari teknik ini adalah kemampuannya untuk

memodifikasi genom secara spesifik, efisien, dan relatif mudah dibandingkan dengan metode penyuntingan gen sebelumnya.^{2,11} Potensi teknik CRISPR-Cas9 dalam memperbaiki mutasi gen yang menjadi penyebab penyakit genetik telah memicu optimisme besar dalam pengembangan terapi genetik.

Penerapan teknik CRISPR-Cas9 dalam terapi penyakit genetik membuka peluang baru untuk menyembuhkan atau mengurangi dampak penyakit secara lebih efektif. Prosedur ini melibatkan penyuntingan langsung pada level gen untuk mengoreksi mutasi sehingga potensial menghindari efek samping yang dapat muncul dibandingkan dengan metode terapi konvensional. Meskipun demikian, upaya terapi gen menggunakan CRISPR-Cas9 juga menghadapi berbagai tantangan dan risiko, seperti potensi *off-target effects*, etika penggunaan teknologi, dan masalah keamanan.^{1,12}

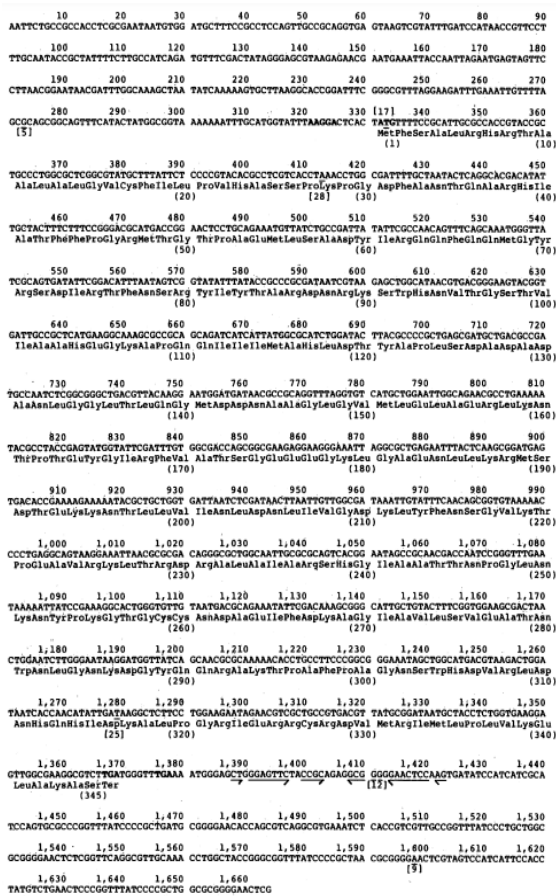
Dalam konteks ini, literatur ilmiah memiliki peran sentral dalam memahami kemajuan terkini dalam pengembangan terapi penyakit genetik dengan menggunakan teknik CRISPR-Cas9. Pemahaman mendalam mengenai prinsip dasar, metode pelaksanaan, dan hasil terkini dari penelitian-penelitian terkait akan memberikan wawasan yang lebih baik tentang potensi dan tantangan teknik ini dalam konteks terapi penyakit genetik bawaan. Oleh karena itu, artikel ini bertujuan untuk melakukan pengulasan literatur terkait teknik penyuntingan gen CRISPR-Cas9 sebagai terapi penyakit genetik bawaan.

Isi

Sejarah teknologi CRISPR-Cas9 mencakup perkembangan dan penemuan yang revolusioner dalam dunia bioteknologi. Konsep dasar CRISPR pertama kali diidentifikasi oleh Yoshizumi Ishino dan rekannya pada tahun 1987 saat mempelajari struktur genetik bakteri *Escherichia coli*.¹³ Namun, pada saat itu, belum diketahui fungsi sebenarnya dari pola DNA yang berulang ini.

Perkembangan signifikan terjadi pada tahun 2005 ketika dua ilmuwan Spanyol, Francisco Mojica dan Ruud Jansen, memperkenalkan istilah CRISPR dan

menjelaskan bahwa ini adalah bagian dari sistem kekebalan bakteri yang memungkinkan mereka mengenali dan melawan serangan virus bakteriofag. Sistem ini terdiri dari sekuens- sekuens DNA pendek dari virus yang sebelumnya diserang dan disimpan dalam urutan yang disebut spacers, yang berfungsi sebagai 'memori' genetik yang dapat diakses oleh bakteri untuk melawan serangan serupa di masa depan.¹⁴



Gambar 1. Sekuensi nukleotida bakteri *E. coli* yang diidentifikasi oleh Yoshizumi Ishino.¹³

Prinsip kerja CRISPR-Cas9 didasarkan pada kemampuan bakteri untuk menyimpan dan menggunakan informasi genetik dari serangan virus sebelumnya.¹ Sistem ini terdiri dari dua komponen utama: CRISPR, yang berisi urutan DNA pendek dari serangan virus sebelumnya, dan Cas9, yang merupakan protein yang bertindak sebagai enzim pemotong DNA.²⁴ Ketika bakteri kembali diserang oleh virus yang sama, RNA guide (gRNA) yang cocok dengan sekuens DNA virus

dihasilkan dari urutan CRISPR.²¹ Untai gRNA ini berikatan dengan protein Cas9, membimbingnya ke target DNA yang sesuai. Setelah sampai di target, Cas9 memotong DNA, memicu respons perbaikan DNA alami dari sel inang.²⁶

Pada tahun 2012, ilmuwan Jennifer Doudna dan Emmanuelle Charpentier membuat terobosan besar dengan menggabungkan gRNA yang dirancang secara sintesis dengan protein Cas9.¹ Penggabungan ini menciptakan sistem penyuntingan gen yang dapat diprogram secara spesifik untuk memotong dan menyunting sekuens DNA tertentu dalam genom organisme yang diinginkan.²⁵ Keunggulan utama CRISPR-Cas9 adalah kemampuannya untuk melakukan penyuntingan gen dengan tingkat presisi yang tinggi dan relatif mudah dibandingkan dengan metode sebelumnya seperti TALENs (*Transcription Activator-Like Effector Nucleases*) dan ZFNs (*Zinc Finger Nucleases*).²²

Prinsip kerja dari CRISPR-Cas9 dalam terapi bidang kesehatan melibatkan aplikasi teknologi ini untuk mengoreksi atau mengganti sekuens DNA yang menyebabkan penyakit genetik bawaan. Misalnya, jika suatu penyakit genetik disebabkan oleh mutasi pada gen tertentu, sistem CRISPR-Cas9 dapat diprogram untuk menyunting dan memperbaiki mutasi tersebut.²⁶ Pendekatan ini membuka peluang baru untuk mengatasi penyakit-penyakit genetik yang sulit diobati dengan metode konvensional dan bersifat lebih murah, efisien, dan mudah digunakan.²³

Awal mula penerapan CRISPR-Cas9 dalam terapi bidang kesehatan terjadi pada tahun-tahun berikutnya setelah penemuan prinsip kerjanya. Pada tahun 2013, para peneliti pertama kali berhasil menggunakan CRISPR-Cas9 untuk menyunting genom dalam sel manusia. Dalam eksperimen tersebut, gen-gen spesifik dalam sel-sel manusia berhasil dimodifikasi dengan presisi tinggi menggunakan sistem CRISPR-Cas9.^{1,11} Keberhasilan ini membuka jalan menuju penerapan teknologi ini dalam konteks terapi penyakit genetik. Sejak saat itu, penelitian dan pengembangan dalam bidang terapi genetik menggunakan CRISPR-Cas9 terus berkembang pesat. Beberapa tahun kemudian, pada tahun

2015, China mencatat sejarah dengan meluncurkan uji klinis pertama yang menggunakan teknik CRISPR-Cas9 pada manusia. Pada uji klinis tersebut, para peneliti mencoba mengedit gen pada sel-sel pasien untuk meningkatkan kekebalan terhadap virus HIV.¹⁵

Penerapan CRISPR-Cas9 dalam terapi penyakit genetik juga mencakup percobaan pada hewan model dan sel-sel manusia di laboratorium. Penelitian terus dilakukan untuk memahami efektivitas, keamanan, dan potensi efek samping dari teknologi ini dalam lingkungan biologis yang kompleks.¹⁶ Seiring waktu, teknologi CRISPR-Cas9 diharapkan dapat menjadi bagian integral dari terapi genetik di masa depan, membuka pintu bagi pengobatan penyakit-penyakit genetik yang sebelumnya sulit atau bahkan tidak mungkin diatasi.¹⁷

Terapi genetik menggunakan teknologi CRISPR-Cas9 telah menjadi sorotan utama dalam upaya mengatasi penyakit genetik bawaan. Mekanisme dasar penggunaan CRISPR-Cas9 dalam terapi penyakit genetik melibatkan penyuntingan gen spesifik untuk mengoreksi mutasi yang menyebabkan penyakit. Metode ini memanfaatkan prinsip kerja CRISPR-Cas9 yang memungkinkan pemotongan dan penyuntingan sekuens DNA tertentu dalam genom organisme yang diinginkan.^{1,11,15}

Pada tingkat dasar, terapi genetik dengan CRISPR-Cas9 dimulai dengan identifikasi gen spesifik yang menyebabkan atau berhubungan dengan penyakit genetik bawaan. Setelah identifikasi tersebut, gRNA disintesis dan diproduksi dengan desain yang sesuai dengan sekuens target di dalam genom. gRNA ini kemudian digabungkan dengan protein Cas9, membentuk kompleks yang akan mengarahkan Cas9 ke lokasi target pada DNA. Setelah sampai di target, Cas9 memotong DNA pada titik yang ditentukan, memicu respons perbaikan DNA alami sel inang. Selama proses perbaikan ini, perubahan atau koreksi DNA dapat terjadi, menggantikan sekuens yang cacat dengan sekuens normal atau diinginkan.^{1,11,17}

Sejumlah penyakit genetik bawaan telah menjadi fokus penelitian intensif untuk terapi dengan teknik CRISPR-Cas9. Salah satu contoh adalah fibrosis kistik (CF), suatu penyakit genetik yang disebabkan oleh mutasi pada gen *cystic fibrosis transmembrane conductor receptor* (CFTR) yang mengatur produksi lendir di berbagai organ tubuh.¹⁸ Upaya terapi menggunakan CRISPR-Cas9 bertujuan untuk mengoreksi mutasi pada gen CFTR dan mengembalikan fungsi normal protein CFTR. Penelitian ini telah mengalami perkembangan positif, penelitian pada sel kultur CFTE290- dan *induced pluripotent stem cells* (iPSCs) derivat dari pasien CF menunjukkan potensi dalam mengembangkan terapi untuk fibrosis kistik.²⁷ Hasil studi lain menunjukkan bahwa penggunaan CRISPR-Cas9 dapat memperbaiki lokus CFTR melalui rekombinasi homolog pada kultur sel punca saluran pencernaan pasien CF.²⁸

Selain itu, distrofi otot Duchenne (DMD) merupakan penyakit genetik yang menyebabkan kelemahan otot progresif karena mutasi pada gen DMD, juga menjadi target terapi menggunakan CRISPR-Cas9. Penyakit tersebut berbahaya karena dapat memengaruhi otot skeletal dan jantung secara bersamaan.²⁹ Penelitian dalam mengoreksi atau menggantikan mutasi pada gen DMD telah menunjukkan efikasi dalam memperbaiki fungsi otot pada tingkat sel dan hewan model.^{29,30} Salah satu studi menunjukkan bahwa penargetan pada *point mutation* di ekson 23 model tikus representatif gen DMD menghasilkan peningkatan pemulihan pada kekuatan cengkraman, kemampuan menahan, dan pengurangan serum kreatin kinase (CK).³⁰ Walaupun masih dalam tahap awal penelitian, kemajuan ini penting untuk membuka jalan pengembangan terapi potensial bagi individu yang menderita distrofi otot Duchenne.

Talasemia, suatu penyakit genetik yang memengaruhi produksi hemoglobin, juga menjadi fokus penelitian intensif dari teknik CRISPR-Cas9. Penggunaan teknik tersebut diarahkan untuk mengoreksi mutasi pada gen yang terlibat dalam produksi hemoglobin, dengan tujuan meningkatkan fungsi sel darah

Tabel 1. Profil Penyakit Genetik Bawaan yang Diterapi dengan Teknologi Penyuntingan Gen CRISPR-Cas9

Penyakit Genetik Bawaan	Gen Target	Mutasi yang Diperbaiki	Model Penelitian	Informasi/Catatan	Referensi
Fibrosis Kistik	CFTR	F508del	Sel kultur CFTE29o- dan <i>induced pluripotent stem cells</i> (iPSCs)	Penggunaan CRISPR-Cas9 untuk mengoreksi mutasi F508del pada gen CFTR pada sel manusia.	Smith <i>et al.</i> , 2015.
Fibrosis Kistik	CFTR	F508del exon 11	Kultur sel punca organoid usus halus (SI) dan besar (LI)	Penggunaan teknologi CRISPR-Cas9 untuk memperbaiki kelainan gen F508del pada exon 11.	Schwank <i>et al.</i> , 2013.
Distrofi Muskular	DMD	Delesi pada ekson 23	Tikus transgenetik	Terapi gen menggunakan CRISPR-Cas9 untuk mengoreksi delesi pada ekson tertentu pada gen DMD pada tikus transgenik.	Long <i>et al.</i> , 2016.
Talasemia (TDT) dan (SCD)	BCL11A	Kromosom 11 hemoglobin β subunit gen	Penyisipan autolog CD 34+ yang telah dimodifikasi	Pemanfaatan teknik CRISPR-Cas9 dengan pendekatan terapi CTX001 pada target gen.	Frangoul <i>et al.</i> , 2021.
Talasemia (SCD)	HBG 1 dan HBG 2	Mutasi pada beta-globin	Sel manusia	Penggunaan CRISPR-Cas9 untuk mengoreksi mutasi pada gen beta- globin pada sel manusia untuk potensial pengobatan anemia sel sabit.	Traxler <i>et al.</i> , 2016.

merah dan mengurangi gejala talasemia. Progres signifikan telah dicapai dalam eksperimen pada tingkat sel dan hewan model, membawa harapan bahwa terapi penyuntingan gen dapat menjadi alternatif yang efektif untuk pengobatan talasemia. Salah satu hasil studi menunjukkan bahwa dua pasien dengan kondisi *transfusion-dependent β -thalassemia* (TDT) dan *sickle cell disease* (SCD) masing-masing dapat menunjukkan peningkatan hemoglobin pada janin dan eliminasi fase vaso-oklusi setelah disisipkan *autolog* CD34+ yang telah dimodifikasi pada target gen BCL11A melalui teknik CRISPR-Cas9.³¹ Hasil studi lainnya dengan target gen

berbeda, hemoglobin subunit gamma 1 (HBG1) dan HBG2 sebagai progenitor dari sel darah merah (SDM), menunjukkan peningkatan produksi SDM disertai dengan level hemoglobin pada bayi (HbF atau $\alpha 2\gamma 2$) sampai dewasa (HbA atau $\alpha 2\beta 2$) sehingga mampu menghambat kondisi patologis dari hipoksia.³²

Perkembangan terkini dalam terapi penyakit genetik dengan CRISPR-Cas9 menunjukkan potensi besar untuk mengatasi penyakit-penyakit genetik yang sebelumnya sulit atau bahkan tidak mungkin diobati. Meskipun masih dalam tahap eksperimental, hasil positif dari uji klinis awal pada hewan model dan sel manusia memberikan

optimisme bahwa terapi penyuntingan gen menggunakan CRISPR-Cas9 dapat menjadi revolusi dalam bidang kesehatan.²⁹⁻³² Dengan pemahaman yang semakin mendalam tentang mekanisme dasar CRISPR-Cas9, penelitian terus berkembang untuk menyempurnakan teknik ini dan menghadirkan harapan baru bagi mereka yang hidup dengan penyakit genetik bawaan.³⁴

Meskipun teknologi CRISPR-Cas9 menjanjikan terobosan besar dalam terapi penyakit genetik bawaan, sejumlah hambatan dan tantangan tetap menghadang penelitian dan pengaplikasiannya. Salah satu hambatan utama adalah potensi *off-target effects*, di mana sistem CRISPR-Cas9 dapat secara tidak sengaja memotong dan memengaruhi sekuens DNA yang tidak diinginkan.¹² Hal ini dapat menyebabkan perubahan genetik yang tidak diinginkan dan potensial menimbulkan risiko bagi kesehatan seluruh organisme.³³ Upaya terus dilakukan untuk meningkatkan spesifisitas dan akurasi CRISPR-Cas9 guna mengurangi potensi *off-target effects*, namun tantangan ini tetap menjadi fokus utama dalam pengembangan teknologi ini.

Etika penggunaan teknologi CRISPR-Cas9 dalam mengedit genom manusia juga menjadi tantangan.³⁴ Batasan etika dan implikasi jangka panjang dari manipulasi genetik manusia memunculkan perdebatan di kalangan ilmuwan, etikawan, dan masyarakat umum. Beberapa isu etika yang muncul melibatkan pertimbangan, seperti waktu tepat penggunaan teknologi ini untuk diaplikasikan dan potensi penyalahgunaan yang dapat muncul dari kemampuan memanipulasi gen manusia.²⁴

Aspek keamanan juga menjadi hal yang harus diperhatikan dalam penggunaan CRISPR-Cas9. Meskipun telah ada upaya untuk meminimalkan risiko *off-target effects*, keamanan jangka panjang dan potensi efek samping yang mungkin muncul pada organisme yang telah mengalami terapi genetik tetap menjadi perhatian utama. Kecemasan akan dampak jangka panjang pada kesehatan dan keberlanjutan perubahan genetik yang diperoleh dari terapi CRISPR-Cas9 menimbulkan kebutuhan untuk penelitian lebih lanjut dan uji klinis yang ketat.²⁴

Dari sisi teknis, masih ada tantangan dalam mengantarkan dan mengirimkan sistem CRISPR-Cas9 ke sel target dalam tubuh manusia.²⁷ Pengembangan metode pengiriman yang efektif dan aman menjadi esensial untuk memastikan bahwa teknologi ini dapat mencapai sasaran dengan presisi dan mengoptimalkan potensi terapeutiknya. Sejumlah penelitian dan pengembangan dilakukan untuk mencari solusi yang dapat meningkatkan efisiensi pengiriman CRISPR-Cas9 ke dalam sel-sel tubuh manusia, termasuk eksplorasi nanopartikel dan vektor virus sebagai metode pengiriman potensial.²¹

Meskipun dihadapkan dengan berbagai hambatan dan tantangan, teknologi CRISPR-Cas9 memiliki potensi besar dalam revolusi terapi penyakit genetik bawaan di masa depan.^{27,28} Salah satu potensi utama adalah kemampuan teknologi ini untuk menyediakan solusi yang lebih spesifik dan personal dalam pengobatan penyakit genetik. Dengan kemampuannya menyunting gen secara presisi, CRISPR-Cas9 membuka pintu untuk mengatasi penyakit genetik pada tingkat molekuler, mengoreksi mutasi gen yang menjadi akar penyebab penyakit.¹⁷

Teknologi CRISPR-Cas9 juga memiliki potensi untuk menyediakan alternatif terapi bagi penyakit-penyakit genetik yang sulit atau tidak mungkin diatasi dengan metode konvensional.¹¹ Dengan penyuntingan gen yang terarah, penelitian terus mengembangkan solusi untuk penyakit-penyakit, seperti sindrom Down, sindrom Turner, dan kelainan kromosom lainnya. Penerapan teknologi ini di masa depan dapat membuka peluang baru untuk mengurangi dampak penyakit genetik pada individu yang terkena.³⁵

Potensi teknologi CRISPR-Cas9 tidak hanya terbatas pada pengobatan penyakit genetik yang sudah terdiagnosis, tetapi juga membuka pintu untuk pencegahan penyakit genetik sejak awal.⁹ Penggunaan teknologi ini dalam embrio atau sel punca dapat memberikan kemungkinan untuk mencegah penurunan kualitas hidup akibat penyakit genetik.¹⁵ Meskipun masih memunculkan pertanyaan etika dan moral, potensi untuk pencegahan penyakit genetik sejak dini dapat

menjadi salah satu aspek yang menarik untuk dieksplorasi lebih lanjut.²⁴

Selanjutnya, teknologi CRISPR-Cas9 menawarkan potensi dalam pengembangan terapi gen yang lebih efektif dan terjangkau²³ dengan kemampuannya untuk menyunting gen dengan biaya yang relatif rendah dibandingkan dengan metode sebelumnya, CRISPR-Cas9 dapat membuka akses lebih luas terhadap terapi genetik. Potensi ini sangat penting dalam menghadirkan solusi terapeutik yang dapat diakses oleh berbagai lapisan masyarakat dan meningkatkan ketersediaan terapi genetik secara global.¹⁹

Kerjasama lintas disiplin juga menjadi salah satu potensi besar dalam pengembangan terapi penyakit genetik menggunakan CRISPR-Cas9. Kolaborasi antara ilmuwan, etikawan, dokter, dan ahli hukum diperlukan untuk mengatasi tantangan dan memastikan penerapan teknologi ini bersifat etis, aman, dan bermanfaat bagi kesejahteraan masyarakat. Dengan mendukung kerjasama ini, potensi CRISPR-Cas9 untuk mengatasi penyakit genetik bawaan dapat memberikan manfaat yang signifikan bagi kesehatan manusia di masa depan.

Ringkasan

Teknik penyuntingan gen CRISPR-Cas9 merupakan salah satu metode terkini dalam bidang bioteknologi. Melalui program penyuntingan DNA dengan fokus memperbaiki mutasi gen pada penyakit bawaan genetik, CRISPR-Cas9 lebih unggul dibandingkan teknik pengobatan lain yang telah tersedia, seperti terapi gen, terapi enzim, dan HSCT.

Penelitian terkini dalam menerapkan CRISPR-Cas9 dalam terapi penyakit genetik fokus pada penyakit-penyakit, seperti fibrosis kistik, talasemia, dan distrofi otot Duchenne. Upaya mengkoreksi mutasi gen yang menjadi penyebab penyakit telah menunjukkan hasil positif pada tingkat sel dan hewan model. Hal ini membuka peluang untuk pengembangan terapi yang lebih efektif dan spesifik.

Hambatan-hambatan seperti potensi *off-target effects* dan keamanan jangka panjang masih memerlukan penelitian lebih lanjut untuk diatasi. Pengembangan metode pengiriman yang efektif dan perbaikan dalam

desain gRNA untuk meningkatkan spesifisitas CRISPR-Cas9 menjadi langkah penting dalam mengoptimalkan teknologi ini.

Simpulan

CRISPR-Cas9 memiliki potensi besar dalam mengatasi penyakit-penyakit yang sebelumnya sulit diobati. Meskipun masih dihadapkan dengan sejumlah hambatan, seperti potensi *off-target effects*, masalah etika, dan keamanan jangka panjang, penelitian dan pengembangan terus dilakukan untuk memperbaiki kelemahan-kelemahan tersebut.

Dengan potensi untuk menyediakan solusi yang lebih spesifik, personal, dan terjangkau, CRISPR-Cas9 membuka peluang baru untuk pengobatan penyakit genetik pada tingkat molekuler. Terapi penyakit genetik bukan hanya menjadi alternatif pengobatan, tetapi juga dapat berperan dalam pencegahan penyakit sejak dini. Dalam menghadapi kompleksitas tantangan dan isu etika, kerjasama lintas disiplin menjadi kunci dalam memaksimalkan potensi CRISPR-Cas9 sebagai alat penyembuhan dan transformasi dalam bidang kesehatan di masa depan.

Daftar Pustaka

1. Jiang F, Doudna JA. CRISPR–Cas9 Structures and Mechanisms. *Annu Rev Biophys.* 2017;46(1):505-529. doi:10.1146/annurev-biophys-062215-010822
2. Sharma G, Sharma AR, Bhattacharya M, Lee SS, Chakraborty C. CRISPR-Cas9: A Preclinical and Clinical Perspective for the Treatment of Human Diseases. *Mol Ther.* 2021;29(2):571-586. doi:10.1016/j.ymthe.2020.09.028
3. Jackson M, Marks L, May GHW, Wilson JB. The genetic basis of disease. *Essays Biochem.* 2018;62(5):643-723. doi:10.1042/EBC20170053
4. Salem MSZ. Pathogenetics. An introductory review. *Egypt J Med Hum Genet.* 2016;17(1):1-23. doi:10.1016/j.ejmhg.2015.07.002

5. Tyler C, Edman JC. Down syndrome, Turner syndrome, and Klinefelter syndrome: primary care throughout the life span. *Prim Care Clin Off Pract.* 2004;31(3):627-648. doi:10.1016/j.pop.2004.04.006
6. Yeoh C, Teng H, Jackson J, et al. Metabolic Disorders and Anesthesia. *Curr Anesthesiol Rep.* 2019;9(3):340-359. doi:10.1007/s40140-019-00345-w
7. Janssens ACJW, Van Duijn CM. Genome-based prediction of common diseases: advances and prospects. *Hum Mol Genet.* 2008;17(R2):166-173. doi: 10.1093/hmg/ddn250
8. Kohn DB. Gene therapy for blood diseases. *Curr Opin Biotechnol.* 2019;60:39-45. doi: 10.1016/j.copbio.2018.11.016
9. Marchetti M, Faggiano S, Mozzarelli A. Enzyme Replacement Therapy for Genetic Disorders Associated with Enzyme Deficiency. *Curr Med Chem.* 2022;29(3):489-525. doi: 10.2174/0929867328666210526144654
10. Wiekmeijer AS, Pike-Overzet K, IJspeert H, et al. Identification of checkpoints in human T-cell development using severe combined immunodeficiency stem cells. *J Allergy Clin Immunol.* 2016;137(2):517-526.e3. doi:10.1016/j.jaci.2015.08.022
11. Savić N, Schwank G. Advances in therapeutic CRISPR/Cas9 genome editing. *Transl Res.* 2016;168:15-21. doi:10.1016/j.trsl.2015.09.008
12. Rasul MF, Hussen BM, Salihi A, et al. Strategies to overcome the main challenges of the use of CRISPR/Cas9 as a replacement for cancer therapy. *Mol Cancer.* 2022;21(1):64. doi:10.1186/s12943-021-01487-4
13. Ishino Y, Shinagawa H, Makino K, Amemura M, Nakata A. Nucleotide sequence of the iap gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in *Escherichia coli*, and identification of the gene product. *J Bacteriol.* 1987;169(12):5429-5433. doi:10.1128/jb.169.12.5429-5433.1987
14. Mojica FJM, Díez-Villaseñor C, García-Martínez J, Soria E. Intervening Sequences of Regularly Spaced Prokaryotic Repeats Derive from Foreign Genetic Elements. *Journal of Molecular Evolution.* 2005; 60(2):174–82. doi: 10.1007/s00239-004-0046-3
15. Cyranoski D. CRISPR gene-editing tested in a person for the first time. *Nature.* 2016;539(7630):479-479. doi: 10.1038/nature.2016.20988
16. Tavakoli K, Pour-Aboughadareh A, Kianersi F, Poczai P, Etminan A, Shooshtari L. Applications of CRISPR-Cas9 as an Advanced Genome Editing System in Life Sciences. *BioTech.* 2021;10(3):14. doi:10.3390/biotech10030014
17. Uddin F, Rudin CM, Sen T. CRISPR Gene Therapy: Applications, Limitations, and Implications for the Future. *Front Oncol.* 2020;10:1387. doi: 10.3389/fonc.2020.01387
18. Stoltz DA, Meyerholz DK, Welsh MJ. Origins of Cystic Fibrosis Lung Disease. Longo DL, ed. *N Engl J Med.* 2015;372(4):351-362. doi:10.1056/NEJMra1300109
19. Smirnikhina SA, Kondrateva EV, Adilgereeva EP, et al. P.F508del editing in cells from cystic fibrosis patients. Hu W, ed. *PLOS ONE.* 2020;15(11):e0242094. doi: 10.1371/journal.pone.0242094
20. Kirschner J, Cathomen T. Gene therapy for monogenic inherited disorders—opportunities and challenges. *Dtsch Arztebl Int.* 2020; 117: 878–85. doi: 10.3238/arztebl.2020.0878
21. Tucci F, Scaramuzza S, Aiuti A, Mortellaro A. Update on Clinical ex vivo hematopoietic stem cell gene therapy for

- inherited monogenic diseases. *Molecular Therapy*. 2021;29(2):489–504. doi: 10.1016/j.ymthe.2020.11.020
22. Simanjuntak, J. G., Miftahudin, I., & Vuttipongchaikij, M. A. P. D. S. Transformation of Rice Calli With CRISPR-Cas9 Constructs to Edit the Yield-Related Genes. IPB University. 2021 [thesis].
 23. Advenita, V. E. S. R., Mevotema, C., Situmorang, I. A., Haris, L., & Irawati, W. The Potency of Vitamin C in Tomato Plant for the Result of Genetically Modified Lanceolate Gene Through Agrobacterium Tumefaciens Using CRISPR-CAS 9. *Jurnal Biologi Tropis*. 2023; 23(1):443-450. doi: 10.29303/jbt.v23i1.4682
 24. Sophia, S., Antony, M., Ashan, M. A., Fadhullah, H., & Jannah, R. M. Metode CRISPR/CAS dan Minimalisasi Off-Target. *Agriculture and Biological Technology*. 2023; 1(1):17-30. doi: 10.61761/agiotech.1.1.17-30
 25. Kesuma, A. A., Nopitasari, S., Yoshioka, Y., Matsumoto, S., & Semiarti, E. Phenotype and genotype characterization of *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume Orchid Transformant Harboring Construct UBI::Cas9::U3::PDS3. *Jurnal Hortikultura Indonesia*. 2020; 11(3): 212-220. doi: 10.29244/jhi.11.3.212-220
 26. Zhan T, Rindtorff N, Betge J, Ebert M, Boutros M. CRISPR/Cas9 for cancer research and therapy. *Seminars in Cancer Biology*. 2019; 55:106–19. doi: 10.1016/j.semcan.2018.04.001
 27. Smith C, Abalde-Atristain L, He C, Brodsky BR, Braunstein EM, Chaudhari P, et al. Efficient and Allele-Specific Genome Editing of Disease LOCI in human iPSCs. *Molecular Therapy*. 2015; 23(3):570–7. doi: 10.1038/mt.2014.226
 28. Schwank G, Koo B, Sasselli V, Dekkers JF, Heo I, Demircan T, et al. Functional repair of CFTR by CRISPR/CAS9 in intestinal stem cell organoids of cystic fibrosis patients. *Cell Stem Cell*. 2013; 13(6):653–8. doi: 10.1016/j.stem.2013.11.002
 29. Mendell JR, Rodino-Klapac LR. Duchenne muscular dystrophy: CRISPR/Cas9 treatment. *Cell Research*. 2016; 26(5):513–4. doi: 10.1038/cr.2016.28
 30. Long C, Amoasii L, Mireault AA, et al. Postnatal genome editing partially restores dystrophin expression in a mouse model of muscular dystrophy. *Science*. 2016; 351(6271):400-403. doi: 10.1126/science.aad5725
 31. Frangoul H, Altshuler D, Cappellini MD, Chen YS, Domm J, Eustace BK, et al. CRISPR-CAS9 gene editing for sickle cell disease and B-Thalassemia. *The New England Journal of Medicine*. 2021; 384(3):252–60. doi: 10.1056/nejmoa2031054
 32. Traxler EA, Yao Y, Wang YD, Woodard KJ, Kurita R, Nakamura Y, et al. A genome-editing strategy to treat β -hemoglobinopathies that recapitulates a mutation associated with a benign genetic condition. *Nature Medicine*. 2016; 22(9):987–90. doi : 10.1038/nm.4170
 33. Zhang XH, Tee LY, Wang X, Huang Q, Yang S. Off-target effects in CRISPR/CAS9-mediated genome engineering. *Molecular Therapy - Nucleic Acids*. 2015; 4:e264. doi: https://doi.org/10.1038/mtna.2015.37
 34. Supit A. Improving the Function of CRISPR-CAS9 for Genome Editing Therapy: Editing The Editor. *Jurnal Bioteknologi Dan Biosains Indonesia*. 2017; 4(1):44. doi: 10.29122/jbbi.v4i1.2068
 35. Adikusuma F, Williams N, Grützner F, Hughes J, Thomas PQ. Targeted deletion of an entire chromosome using CRISPR/CAS9. *Molecular Therapy*. 2017; 25(8):1736–8. doi: 10.1016/j.ymthe.2017.05.02

