



# Terapi CRISPR (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*): Pengenalan untuk Penggunaan Klinis

**Cipta Mahendra**

Departemen Kimia-Biokimia, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya, Jakarta, Indonesia

## ABSTRAK

CRISPR (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*) mulai mendapat perhatian saat Jennifer Doudna dan Emmanuelle Charpentier mendapat hadiah Nobel bidang Kimia tahun 2020 lalu. Meskipun relatif merupakan terobosan baru, terapi CRISPR memiliki potensi besar di bidang medis. Tinjauan ini merupakan pengantar untuk mengenal dan memahami CRISPR sebagai sebuah upaya terapi alternatif di masa depan.

**Kata Kunci:** CRISPR, gen, genetika, medis, terapi

## ABSTRACT

CRISPR (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*) starts to gain attention when Jennifer Doudna and Emmanuelle Charpentier were awarded Nobel Prize in Chemistry in 2020. CRISPR is relatively a new discovery in science, but it has a great potential in medicine. This review is to give an overview on CRISPR as a promising medical therapy. **Cipta Mahendra. CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) for Therapy: Introduction to Clinical Application**

**Keywords:** CRISPR, gene, genetics, medicine, therapy

## Pendahuluan

Penganugerahan hadiah Nobel bidang Kimia kepada Jennifer Doudna dan Emmanuelle Charpentier untuk penemuan bioteknologi CRISPR (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*) telah membawa pengakuan untuk marwah bioteknologi ini. Dikenal sebagai kunci penulisan ulang kode genetika kehidupan manusia, penemuan CRISPR telah membawa optimisme besar dalam dunia kedokteran untuk upaya terapi penyakit-penyakit terkait genetik, yang sebelumnya nyaris tanpa harapan sembuh.

Di Indonesia, penggunaan CRISPR untuk uji coba terapi gen (*gene therapy*) belum populer. Sementara di berbagai negara lainnya, penerapan CRISPR untuk terapi medis juga masih dalam tahap penelitian baik preklinis maupun klinis. Teknologi CRISPR juga baru mendapat perhatian komunitas ilmuwan dunia sejak satu dekade terakhir.<sup>1,2</sup>

## Sekilas CRISPR

CRISPR sebenarnya merupakan bagian dari

lokus gen organisme primitif bakteri prokariota dan *archaea*. Pada awal ditemukannya lokus CRISPR, dijumpai susunan kluster berselang-seling antara kluster nukleotida-nukleotida sekuens asam deoksiribonukleat (*deoxyribonucleic acid/DNA*) penyusun materi genetik bakteri dengan kluster sekuens DNA yang berasal dari bakteriofag (*phage*), virus-virus yang menginfeksi bakteri.<sup>1</sup>

Temuan ini pada mulanya tidak diketahui penyebab dan tujuan dibentuknya susunan tersebut dalam bakteri; namun setelah observasi perbandingan bakteri yang memiliki lokus CRISPR ini dengan yang belum memilikinya, ternyata bakteri dengan lokus CRISPR lebih resisten terhadap infeksi *phage* dibandingkan bakteri yang belum memiliki lokus tersebut.<sup>1,2</sup> Penelitian lebih lanjut akhirnya berhasil menetapkan bahwa sistem CRISPR merupakan upaya pertahanan adaptif bakteri terhadap invasi *phage*.<sup>3,4</sup>

Secara garis besar, mekanisme sistem CRISPR mirip dengan yang terjadi pada manusia

dan hewan-hewan kelas tinggi. Pada infeksi pertama oleh *phage*, bakteri akan memotong materi DNA virus *phage* tersebut sehingga membuat fragmen-fragmen DNA. Fragmen-fragmen ini kemudian terintegrasi ke lokus CRISPR dan menjadi kesatuan sebagai genom bakterinya. Lokus ini berfungsi sebagai pengingat atau memori bagi bakteri jika ada serangan kedua dan selanjutnya dari jenis *phage* yang sama di kemudian hari, yaitu dengan inisiasi respons cepat membentuk asam *ribonucleic acid* (RNA) dengan *template* fragmen DNA yang sudah ada pada lokus CRISPR sebelumnya. RNA-RNA ini lalu berasosiasi dengan protein Cas (*CRISPR-associated*) yang dikodekan oleh lokus gen Cas untuk membentuk kompleks besar CRISPR-Cas (**Gambar**).<sup>1-3</sup>

Sebuah kompleks CRISPR-Cas tersusun dari sebuah RNA dan sebuah molekul protein Cas. RNA berfungsi sebagai pemandu (*guide*) untuk memilih target DNA virus *phage* yang ingin dipotong, sedangkan protein Cas berfungsi sebagai enzim nuklease untuk



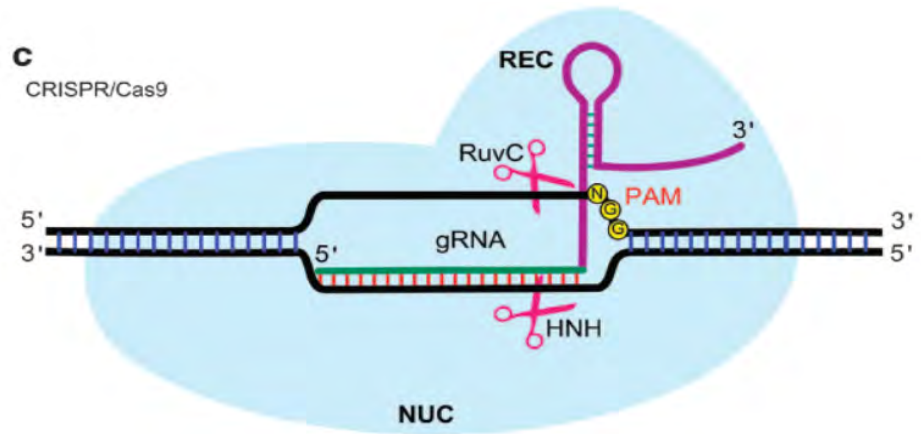
melakukan pemotongan setelah dipastikan bagian yang diinginkan oleh RNA *guide*-nya (gRNA). Dengan terjadinya pemotongan itu, maka DNA *phage* akan rusak, virusnya menjadi disfungsi, dan akhirnya mati, sehingga bakteri terlindungi dari ancaman invasi *phage*.<sup>4</sup>

### Potensi Aplikasi CRISPR

Dengan sistem CRISPR seperti ini, penggunaan untuk tujuan terapeutik sangat mungkin, terutama untuk penyakit-penyakit akibat kelainan genetik. Defek lokus gen yang mendasari terjadinya penyakit dapat dieliminasi dengan panduan molekul gRNA yang dimodifikasi, tergantung kode genetik defek yang ingin diubah atau dihilangkan.<sup>5</sup> Hal ini membuat CRISPR kini sedang menjadi primadona dan menarik perhatian banyak kalangan medis dan ilmuwan di berbagai negara. Banyak bidang medis yang sekarang sedang dalam tahap penelitian penerapan teknologi tersebut, mulai dari infeksi,<sup>5</sup> nefrologi,<sup>7</sup> neurologi,<sup>8</sup> kardiovaskular,<sup>9,10</sup> hingga onkologi/kanker.<sup>6,11</sup>

Secara umum, upaya terapi genetik CRISPR dibagi menjadi dua cara, yaitu *ex vivo* (sel-sel yang mengalami defek genetik diambil dan dikeluarkan dari tubuh dan *diedit* di laboratorium) dan *in vivo* (materi kompleks CRISPR-Cas diberikan langsung ke dalam tubuh untuk mencapai sel-sel dengan defek genetik).<sup>12</sup> Cara *in vivo* umumnya dilakukan melalui injeksi, dengan perantara virus (adenovirus, lentivirus) ataupun nonvirus (nanopartikel lipid/liposom, nanopartikel emas, peptida) untuk mengantarkan kompleks CRISPR-Cas ke sel-sel targetnya.<sup>2</sup>

Selain untuk tujuan terapeutik, teknologi CRISPR juga potensial untuk dimanfaatkan sebagai alat diagnostik<sup>3,4</sup> melalui modifikasi penambahan molekul reporter fluoresen pada kompleks molekul CRISPR-Cas. Jika kompleks CRISPR-Cas telah menemukan target lokus gen yang sesuai dalam sel targetnya, molekul reporter tersebut akan bereaksi dengan melepaskan pendaran sinar fluoresen yang dideteksi oleh alat di laboratorium. Sistem CRISPR untuk tujuan ini bisa digunakan untuk deteksi virus dan bakteri patogen, *karyotyping* DNA pasien, dan identifikasi mutasi DNA sel tumor.<sup>3</sup> Dalam bidang riset biomedis dan farmasi, teknologi CRISPR juga bisa digunakan untuk membuat pemodelan berbagai macam penyakit kanker dan kelainan genetik, baik



**Gambar.** Struktur kompleks besar CRISPR-Cas. CRISPR-Cas terdiri atas enzim endonuklease Cas dan RNA *guide* (gRNA). Bagian gRNA merupakan bagian yang dapat dimodifikasi untuk disesuaikan dengan kebutuhan penggunaan terapeutik.<sup>5</sup>

*in vitro* maupun *in vivo* pada hewan uji, dan juga mengembangkan obat-obatan.<sup>3,5</sup> Melalui penggunaan CRISPR, lokus-lokus gen sebuah sel dapat *diedit*-hilangkan (*knock-out*, mutasi) untuk melihat dampaknya terhadap fungsi dan perkembangan sel atau hewan uji yang dicobakan. Manipulasi genetik sel ini sangat membantu untuk memahami penyakit-penyakit.

### Tantangan Pengembangan CRISPR

Meskipun CRISPR menjanjikan untuk penggunaan dalam praktik klinis, sejumlah masalah juga ditemukan, sehingga masih belum dapat sepenuhnya dijadikan modalitas terapeutik yang aman untuk manusia. Permasalahan seperti salah sasaran (*off-target*) dan risiko respons imun dan kanker masih menjadi kendala dalam teknologi CRISPR.<sup>3,5</sup> Untaian DNA manusia sangatlah panjang dan kode dasarnya berjumlah triliunan, sehingga sulit untuk memastikan bahwa kompleks CRISPR-Cas yang diberikan hanya akan mengubah lokasi spesifik lokus gen yang diinginkan dan tidak mengganggu lokus-lokus lainnya. Jika *off-target* terjadi, dapat mengubah susunan kode genetik dan sangat mungkin menimbulkan mutasi onkogenik.<sup>3,5</sup>

Selain itu, komponen-komponen CRISPR-Cas yang berasal dari bakteri dan kendaraan pengantarnya (virus, liposom, nanopartikel) juga dapat memunculkan reaksi imun pasien.<sup>3</sup> Risiko ini tentu dapat menjadi masalah keamanan dan mengurangi efektivitas terapi CRISPR. Hingga kini, penelitian masih terus dikembangkan untuk mengatasi tantangan-tantangan ini. Desain gRNA dan enzim Cas

terus disempurnakan untuk meningkatkan akurasi penyuntingan lokus gen dan sekaligus meminimalkan risiko *off-target*.<sup>2</sup> Pemilihan dan pengembangan kendaraan pengantar kompleks CRISPR-Cas juga masih terus dilakukan untuk menekan risiko respons imun pasien penerima terapi dan meningkatkan peluang keberhasilan pengantaran kompleks CRISPR-Cas sampai ke sel target.<sup>3</sup>

Mengingat teknologi CRISPR yang masih diliputi sejumlah permasalahan tersebut, modalitas terapi gen ini dapat dikatakan masih belum mumpuni untuk ditetapkan sebagai terapi rutin penyakit-penyakit genetik. Risiko *off-target* dan terjadinya kanker masih harus diteliti lebih lanjut untuk memastikan keamanan maksimal terapi CRISPR. Implikasi lebih jauh adalah terkait terapi CRISPR untuk menyunting (*edit*) gen embrio yang mengalami cacat genetik. Meskipun tujuannya untuk memperbaiki kelainan, dapat terjadi sebaliknya dan justru memperparah keadaan dengan menambah defek genetik baru.<sup>6</sup> Juga terdapat masalah etik terapi CRISPR untuk embrio; terapi CRISPR dapat dipastikan masih sangat dini untuk embrio, apalagi dengan kenyataan bahwa penelitian pada manusia belum sepenuhnya bebas risiko.

### Simpulan

Terapi CRISPR merupakan sebuah penemuan besar yang memiliki potensi besar untuk terapi gen. Meskipun demikian, aplikasi CRISPR hingga kini masih dalam tahap penelitian untuk memastikan keamanannya dan memberi hasil memuaskan tanpa efek samping fatal seperti salah sasaran, risiko kanker, dan reaksi imun.



### DAFTAR PUSTAKA

1. Schmidt DMT, Lo TW. Molecular biology at the cutting edge: A review on CRISPR/CAS9 gene editing for undergraduates. *Biochem Mol Biol Educ*. 2018;46(2):195-205.
2. Lino CA, Harper JC, Carney JP, Timlin JA. Delivering CRISPR: A review of the challenges and approaches. *Drug Delivery* 2018;25(1):1234-57.
3. Xu Y, Li Z. CRISPR-Cas systems: Overview, innovations and applications in human disease research and gene therapy. *Comput Struct Biotechnol J*. 2020;18:2401-15.
4. Wang H, Russa ML, Qi LS. CRISPR/Cas9 in genome editing and beyond. *Ann Rev Biochem*. 2016;85(22):1-38.
5. Eid A, Mahfouz MM. Genome editing: The road of CRISPR/Cas9 from bench to clinic. *Exp Mol Med*. 2016;48(10):265.
6. Mittal RD. Gene editing in clinical practice: Where are we? *Ind J Clin Biochem*. 2019;34(1):19-25.
7. Higashijima Y, Hirano S, Nangaku M, Nureki O. Applications of the CRISPR-Cas9 system in kidney research. *Kidney Int*. 2017;92(2):324-35.
8. Kaszkiel EK, Juranek J, Maksymowicz W, Wojtkiewicz J. CRISPR/Cas9 technology as an emerging tool for targeting amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *Int J Mol Sci*. 2018;19(3):906-18.
9. Sekar D, Lakshmanan G, Biruntha M. Implications of CRISPR/Cas9 system in hypertension and its related diseases. *J Hum Hypertens*. 2021;35(7):642-4.
10. Li Y, Song YH, Liu B, Yu XY. The potential application and challenge of powerful CRISPR/Cas9 system in cardiovascular research. *Int J Cardiol*. 2017;227:191-3.
11. Khan MNM, Islam KK, Ashraf A, Barman NC. A review on genome editing by CRISPR-Cas9 technique for cancer treatment. *World Cancer Res J*. 2020;7:1510.
12. Khalil AM. The genome editing revolution: A review. *J Genet Eng Biotechnol*. 2020;18(1):68-83.