



CRISPR - Inovasi Biologi Molekuler dan Medis yang Kontroversial

Wiedya Kristianti Angeline

Resident Medical Doctor Murni Teguh Memorial Hospital, Medan, Indonesia

ABSTRAK

CRISPR, sebuah teknologi pengubah gen telah terbukti mampu mengubah, memperbaiki, mengganti bagian gen dengan tujuan melakukan terobosan genetik untuk hal preventif dan terapeutik serta meningkatkan kualitas hidup manusia. CRISPR merupakan harapan baru, namun masih perlu diperhatikan implikasi sosial dan dampak etisnya. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memperjelas keamanan dan spesifisitas teknik tersebut.

Kata kunci: CRISPR, etik, gen, terapi

ABSTRACT

CRISPR, a gene-modifying technology has been proven to be able to change, repair, replace parts of genes as a genetic breakthrough in prevention and therapeutic as well as in improving the quality of human life. CRISPR is a new hope, but its social implications and ethical impacts still needs to be considered. Further research is needed to clarify the safety and specificity of this technique. **Wiedya Kristianti Angeline. CRISPR – Controversial Innovation in a New Era of Molecular Biology and Medicine**

Keywords: CRISPR, ethics, genes, therapy

PENDAHULUAN

Bermula dari rekayasa genetika, telah ditemukan kemajuan dalam teknologi rekayasa gen yang memicu antusiasme dan revolusi baru.^{1,2} Dengan teknologi terbaru CRISPR, para peneliti dapat langsung mengubah urutan DNA hampir semua organisme, sehingga memungkinkan penjelasan fungsi genetik pada tingkat sistem, serta mengidentifikasi penyebab genetik suatu kondisi atau penyakit.² Perubahan kecil sekalipun pada gen seseorang akan mengubah fungsi sel secara mendasar.³⁻⁷ Teknologi CRISPR telah mendukung peneliti dengan alat yang belum pernah ada.⁸

Mengenal CRISPR

CRISPR (dieja 'krisper'), kepanjangan dari *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*, atau disebut juga *CRISPR/Cas9*, merupakan teknologi pengubah gen dipandu RNA (*asam ribonukleat*).³⁻⁵ CRISPR didasarkan pada sebuah sistem pertahanan berbasis DNA yang awalnya ditemukan pada mikroorganisme bakteri tertentu yang diketahui merupakan bagian dari sistem imun

adaptif untuk melindungi diri terhadap DNA asing dan fage.^{1,3,6,8-10} CRISPR memungkinkan bakteri untuk "mengingat" virus atau yang berkaitan, dan bila virus serupa menyerang kembali, bakteri akan menghasilkan segmen RNA dari susunan CRISPR untuk menarget DNA virus tersebut. Bakteri kemudian menggunakan enzim untuk memotong DNA, yang akan menonaktifkan virus.^{11,12}

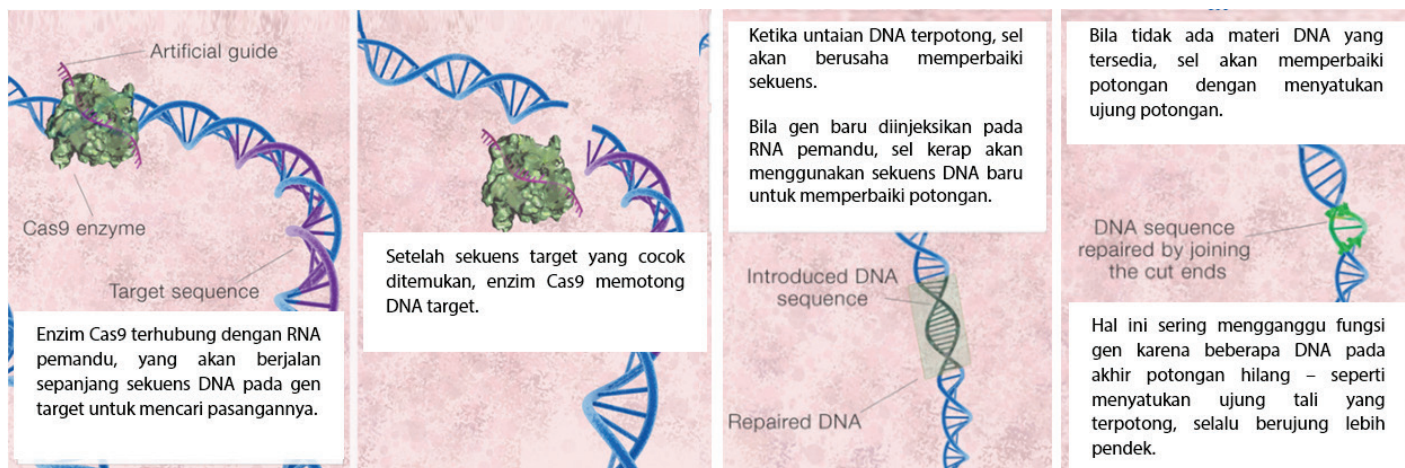
Cara Kerja dan Fungsi CRISPR

CRISPR dapat mengubah, memperbaiki, mengganti, mendelesi, ataupun menginsersi bagian DNA pada sel dan makhluk hidup. Dua komponen utama sistem ini memerlukan enzim Cas9 (*CRISPR-associated protein-9 nuclease*), yaitu sebuah endonuklease (gunting molekuler), dan sebuah RNA pemandu (*guide RNA*), yang biasanya berupa gRNA atau sgRNA. RNA pemandu akan mencari kode sekuens asam nukleat DNA yang mengancam dan berbahaya (DNA target), kemudian memandu Cas9 ke lokasi sekuens spesifik yang akan diubah tersebut.^{3-5,13} Cara kerja CRISPR tersebut diumpamakan seperti sistem *find, cut, dan paste* sebuah komputer. Sistem

pencarian akan melalui satu bagian dari tiga milyar pasang basa sepanjang gen—seperti "Google search".¹⁶

Kerja Cas9 tergantung pada keberadaan sekuens PAM (*Protospacer Adjacent Motif*) pada DNA target, sehingga dapat mengenali DNA milik sendiri atau bukan.^{2,9} Varian Cas9 dengan kompatibilitas PAM luas telah dilaporkan menunjukkan spesifisitas lebih tinggi.¹⁴ Setelah sampai pada lokasi yang dituju, Cas9 akan memotong, membuka ikatan duplex DNA, dan membelah kedua rantai (*Double Strand Breaks - DSB*), melakukan perubahan, dan selanjutnya membiarkan DNA melakukan perbaikan secara alami melalui jalur perbaikan *non-homologous end-joining* (NHEJ) yang kurang akurat ataupun jalur *homology-directed repair* (HDR) yang akurat.^{2,9,15} NHEJ lebih digunakan untuk menghancurkan gen dan HDR lebih dimanfaatkan untuk mengubah sekuens DNA secara akurat.⁹ NHEJ lebih efisien daripada HDR pada seluruh sel eukariotik, terutama pada sel yang tidak membelah, sehingga pengubahan gen cukup sulit dan aplikasinya terbatas untuk terapi gen.⁹

Alamat Korespondensi email: wiedykris@gmail.com



Gambar 1. Cara kerja CRISPR⁶

Pengubahan gen yang dapat dilakukan dengan CRISPR:^{5,15}

■ **Disrupsi/Penghancuran**

Bila sebuah potongan dibuat, proses *non-homologous end-joining* (NHEJ) dapat mengakibatkan penambahan atau penghapusan pasangan basa, mengganggu urutan DNA asli, dan menyebabkan inaktivasi gen.

■ **Delesi**

Fragmen DNA yang lebih besar dapat dihapus dengan menggunakan dua RNA pemandu yang menarget tempat terpisah. Setelah pembelahan di setiap tempat, ujung non-homolog bergabung menyatukan ujung yang terpisah, sehingga menghapus sekuens yang mengganggu.

■ **Koreksi atau insersi**

Menambah cetakan DNA di samping sistem CRISPR memungkinkan sel untuk memperbaiki gen, atau bahkan memasukkan gen baru, menggunakan proses *homology-directed repair* (HDR).

Fungsi CRISPR:¹⁷

■ **Knockout**

Secara permanen mengganggu fungsi gen dalam sel atau organisme tertentu tanpa mutasi.

■ **Edit**

Menghasilkan perubahan urutan yang diharapkan dalam gen tertentu, seperti menghasilkan mutasi titik (*point mutation*).

■ **Suppression atau inhibitor (CRISPRi)**

Mengurangi ekspresi gen tertentu tanpa

memodifikasi gen secara permanen.

■ **Activation (CRISPRa)**

Meningkatkan ekspresi gen tanpa memodifikasi gen secara permanen.

Kemajuan dan Aplikasi CRISPR

CRISPR memiliki puluhan ribu panduan yang dirancang untuk menarget semua gen pengkode dalam gen manusia (lebih dari 3000 gen telah dikaitkan dengan mutasi penyebab penyakit), sehingga memungkinkan para peneliti untuk melakukan terobosan genetik dalam hal pencegahan dan terapi serta meningkatkan kualitas hidup manusia.^{1,3-5,13,18}

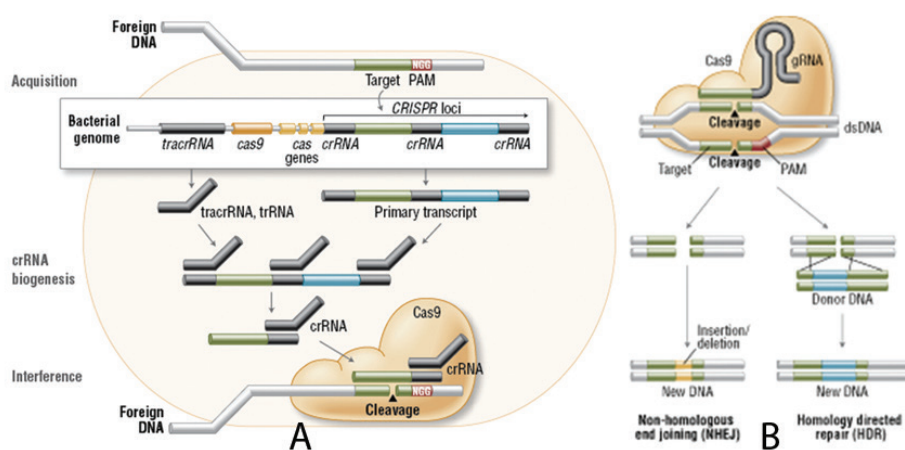
Usaha mengembangkan teknologi CRISPR ini membantu kemajuan terapi gen untuk penyakit genetik.^{2,9,17,19} Perubahan DNA manusia dengan CRISPR dalam penelitian telah dilakukan untuk menemukan pengobatan baru pada kondisi medis berat seperti membuang gen yang

bertanggung jawab pada timbulnya suatu penyakit, menghancurkan sekuens yang mengakibatkan resistensi obat, serta menjadi sebuah alat perekam molekular.^{6,18}

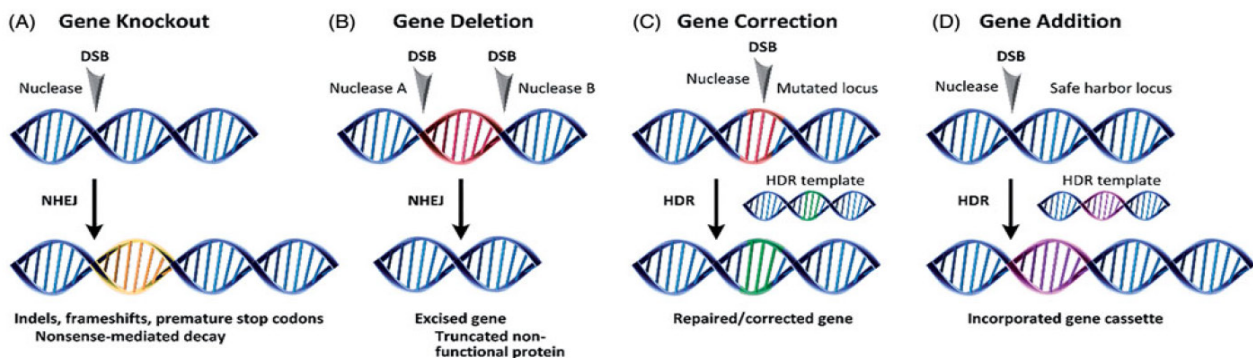
Saat ini berbagai macam penyakit sedang dicoba untuk dieksplorasi, yaitu termasuk kelainan gen tunggal seperti *cystic fibrosis*, hemofilia, kebutaan, malaria, penyakit sel sabit, hingga usaha mendesain calon bayi.^{5,20,21} CRISPR juga menjanjikan pengobatan dan pencegahan penyakit yang lebih kompleks, seperti kanker, penyakit jantung, penyakit mental, dan infeksi *Human Immunodeficiency Virus* (HIV).^{20,21} CRISPR dapat digunakan untuk mengubah gen embrio manusia di stadium awal dan berpotensi untuk diteruskan kepada anak-anaknya.¹⁰

Insidens Teknologi CRISPR

Sempat terjadi beberapa tragedi dalam upaya awal memperbaiki mutasi genetik penyebab penyakit pada manusia; di Inggris, pernah



Gambar 2. A. Cas9 *in vivo*: Imunitas adaptif bakteri B. Jalur perbaikan DNA CRISPR⁹



Gambar 3. Pengubahan gen dengan CRISPR: A. Penghancuran B. Delesi C. Koreksi D. Inseri⁵

terjadi anak-anak menderita penyakit terkait gen-X kombinasi dengan imunodefisiensi berat akibat pengubahan gen dengan CRISPR.¹ Di Cina pada tahun 2018, seorang peneliti secara kontroversial mengaku telah menciptakan kelahiran bayi perempuan kembar yang telah diubah secara genetik dengan teknologi CRISPR dengan tujuan untuk membuat bayi lebih resisten terhadap virus HIV, mencetuskan inovasi *'designer babies'*.^{5,16} Upaya ini di Cina telah dikutuk sebagai tindakan yang tidak etis, namun beberapa kalangan berpendapat hal tersebut dapat bermanfaat di masa depan.^{8,21}

Masalah Implikasi Sosial dan Dampak Etis

Seiring kemajuannya, masih diperlukan pembahasan lebih lanjut untuk memperjelas keamanan dan spesifisitas aplikasi CRISPR terhadap tantangan sosial dan etik.^{5,21} Misalnya, pada kasus perubahan gen pada sel telur atau sperma (sel germinal) atau gen dalam embrio yang dapat diteruskan ke generasi mendatang.⁷ Pengubahan gen demikian akan memunculkan sejumlah tantangan etis, termasuk apakah akan diperbolehkan

menggunakan teknologi tersebut untuk meningkatkan sifat-sifat manusia yang normal (seperti tinggi badan atau kecerdasan).⁷ Atas dasar kekhawatiran terhadap etik dan keamanannya, maka pengubahan sel germinal dan gen embrional saat ini masih ilegal di banyak negara.^{7,11}

Pembahasan lainnya, CRISPR masih memiliki masalah etik terkait potensi kegagalan ataupun keberhasilannya.^{9,10} Kegagalan mengubah gen menyebabkan seorang individu akan terpapar risiko efek samping.¹⁰ Konteks etik yang perlu dipertimbangkan adalah prinsip-prinsip *autonomy, altruism, do-not-harm, dan justice*.¹⁰ Sedangkan dalam hal keberhasilan, salah satu hal yang paling signifikan ialah dampak teknologi di masa depan jika individu mengalami pengubahan gen secara sepihak tanpa persetujuan mereka.¹⁰

Masih belum banyak bukti untuk mendukung teknologi pengubahan gen ini. Masih terdapat risiko yang tidak diketahui konsekuensinya terhadap kesehatan, dan masalah etik belum sepenuhnya dibahas dan diselesaikan.^{10,11}

Sebagai langkah utama untuk menghindari masalah etis, *The International Commission on the Clinical Use of Human Germline Genome Editing* sedang merumuskan pedoman dan peraturan yang lebih ketat untuk praktik pengeditan DNA pada embrio manusia.⁴

SIMPULAN

CRISPR merupakan sebuah teknologi pengubah gen dipandu RNA yang akan mengubah gen sesuai harapan penggunaannya. CRISPR telah dimanfaatkan dalam dunia medis sebagai bagian dari diagnostik dan upaya terapeutik, terutama terapi gen. CRISPR masih terkait dengan masalah implikasi sosial dan etik dalam aplikasinya. Di samping semua kontroversi tersebut, sampai saat ini CRISPR masih menjadi satu-satunya teknik pengubahan gen di masa yang akan datang dengan kemudahannya, harga yang lebih murah dan efisiensinya. Namun teknologi yang cukup baru ini masih membutuhkan banyak penelitian dan uji coba lanjutan agar dapat digunakan dengan lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Lino CA, Harper JC, Carney JP, Timlin JA. Delivering CRISPR: A review of the challenges and approaches. *Drug Delivery*. 2018;25(1):1234–57.
2. Hsu PD, Lander ES, Zhang F. Development and applications of CRISPR-Cas9 for genome engineering. *Cell* 2014;5,157(6):1262–78.
3. Origene Technologies Inc. CRISPR/Cas9, gene editing tool [Internet]. 2019 [cited 2019 September 24]. Available from: https://www.origene.com/products/gene-expression/crispr-cas9?gclid=Cj0KCQjwT5zsBRD8ARIsAJf4BgJwFskquMW_w80kJFPs8iMcPPOQKqPRQaE1JDJSQ7_JMSDDeRyq2QaAIPMEALw_wcB.
4. Gene Pharma. CRISPR/Cas 9 plasmid [Internet]. 2019 [cited 2019 September 24]. Available from: <http://www.genepharma.com/en/productsview.php?id=593&content=1>.
5. CRISPR Therapeutics. CRISPR/Cas9 [Internet]. 2019 [cited 2019 September 24]. Available from: <http://www.crisprtx.com/gene-editing/crispr-cas9>.
6. Smithsonian.com. Four U.S. CRISPR trials editing human DNA to research new treatments [Internet]. 2019 [cited 2019 September 25]. Available from: <https://www.smithsonianmag.com/science-nature/four-us-crispr-trials-editing-human-dna-for-new-medical-treatments-180973029/#SEBpyZw75UJ4rFrk.99>.
7. New England Biolabs Inc. CRISPR/Cas9 & targeted genome editing: New era in molecular biology [Internet]. 2019 [cited 2019 September 25]. Available from: <https://www.neb.com/tools-and-resources/feature-articles/crispr-cas9-and-targeted-genome-editing-a-new-era-in-molecular-biology>.
8. Adli M. The CRISPR tool kit for genome editing and beyond. *Nature Comm*. 2018; 9:1911.



9. Eid A, Alshareef S, Mahfouz MM. CRISPR base editors: Genome editing without double-stranded breaks. *Biochem J.* 2018;475(11):1955-64.
10. Ormond KE, Mortlock DP, Scholes DT, Bombard Y, Brody LC, Faucett WA, et al. Human germline genome editing. *Am J Human Genet.* 2017;101:167-76.
11. U.S. National Library of Medicine. What are genome editing and CRISPR-Cas9? [Internet]. 2019 [cited 2019 September 25]. Available from: <https://ghr.nlm.nih.gov/primer/genomicresearch/genomeediting>.
12. Rees HA, Liu DR. Base editing: Precision chemistry on the genome and transcriptome of living cells. *Nat Rev Genet.* 2018;19(12):770-88.
13. Shi J, Wang E, Milazzo JP, Wang Z, Kinney JB, Vakoc CR. Discovery of cancer drug targets by CRISPR-Cas9 screening of protein domains. *Nat Biotechnol.* 2015;33(6):661-7.
14. Lee JK, Jeong E, Lee J, Jung M, Shin E, Kim YH, et al. Directed evolution of CRISPR-Cas9 to increase its specificity. *Nature Comm.* 2018; 9: 3048-59.
15. Wang T, Wei JJ, Sabatini DM, Lander ES. Genetic screens in human cells using the CRISPR/Cas9 system. *Science.* 2014; 343(6166):80-4.
16. The Conversation. What is CRISPR gene editing, and how does it work? [Internet]. 2019 [cited 2019 September 25]. Available from: <http://theconversation.com/what-is-crispr-gene-editing-and-how-does-it-work-84591>.
17. Addgene. Plan your CRISPR experiment [Internet]. 2019 [cited 2019 September 26]. Available from: <https://www.addgene.org/crispr/guide/>.
18. Eid A, Alshareef S, Mahfouz MM. CRISPR base editors: Genome editing without double-stranded breaks. *Biochem J.* 2018;475(11):1955-64.
19. Doudna JA, Charpentier E. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science.* 2014;346(6213):1258096.
20. Lander ES. The heroes of CRISPR. *Cell.* 2016;164(1-2):18-28.
21. New Scientist Ltd. What is CRISPR? [Internet]. 2019 [cited 2019 September 24]. Available from: <https://www.newscientist.com/term/what-is-crispr/#ixzz60PfoNFFg>



Up date event Anda

www.kalbemed.com/Events.aspx