



## Naskah Review

# TERAPI GEN: DARI BIOTEKNOLOGI UNTUK KESEHATAN

## *GENE THERAPY: FROM BIOTECHNOLOGY TO HEALTH*

Dyah Ayu Widyastuti\*

Program Studi Pendidikan Biologi Universitas PGRI Semarang

\*Corresponding author: [dyah.ayu@upgris.ac.id](mailto:dyah.ayu@upgris.ac.id)

---

Naskah Diterima: 8 Februari 2017; Direvisi: 8 Maret 2017; Disetujui: 10 April 2017

---

### Abstrak

Rekayasa genetika dilakukannya untuk manipulasi gen-gen tertentu sehingga ekspresi gen dapat dikontrol dan produknya dapat dimanfaatkan untuk tujuan tertentu, salah satunya untuk pengobatan penyakit dengan terapi gen. Terapi ini melibatkan transfer asam nukleat berupa DNA ke sel embrionik maupun somatik pasien sehingga gen tersebut memiliki efek pengobatan terhadap penyakit pasien. Gen fungsional yang ditransfer berperan menggantikan fungsi gen abnormal yang menyebabkan penyakit tertentu. Terapi gen dapat dilakukan pada sel embrional (*germ line gene therapy*) maupun sel somatik (*somatic cells gene therapy*) pada pasien secara *in vivo* maupun *ex vivo*. Penyisipan gen pada terapi ini menggunakan vektor virus maupun non virus. Keberhasilan terapi gen salah satunya tergantung pada efektifitas transfer gen yang dilakukan dan ekspresi gen fungsional. Gen fungsional yang telah tertransfer selanjutnya harus diekspresikan dengan baik sehingga terapi dapat berhasil. Kanker merupakan salah satu penyakit yang memungkinkan dilakukannya terapi gen, terkait dengan adanya abnormalitas gen penyebab proliferasi sel yang tidak terkontrol.

**Kata kunci:** Rekayasa genetika; Terapi gen; Vektor virus; Vektor non virus

### Abstract

*Genetic engineering has the ability to manipulate specific genes so its expression can be controlled. The control of gene expression can be used as a gene functional for appropriate purposes, such as diseases cure with gene therapy. This therapy involves DNA as nucleic acid which is transfer to embryonic or somatic cells of patients with certain diseases. The purpose of the gene therapy is to switch an abnormal gene to be a functional gene which has a cure effect for the disease. The functional gene has to substitute the abnormal gene leads to certain disease, either germ line gene therapy or somatic cells therapy. The gene therapy needs a vector to carry the functional gene to targeted cells, in vivo or ex vivo. The vector can be used viral or non viral vectors. The possibilities of achievement of its therapy depend on gene transfer effectiveness and also functional gene expression. The cancer is the one of diseases which can be treated with the gene therapy due to its uncontrolled gene of cell proliferation.*

**Keywords:** Genetic engineering; Gene therapy; Non viral vector; Viral vector

**Permalink/DOI:** <http://dx.doi.org/10.15408/kauniyah.v10i1.4864>

---

## PENDAHULUAN

Perkembangan ilmu pengetahuan dalam bidang biologi molekuler dan bioteknologi membawa pengaruh besar dalam penyelesaian masalah-masalah yang dihadapi manusia dalam berbagai bidang. Bidang kajian biologi molekuler mulai berkembang setelah Watson dan Crick pada tahun 1953 berhasil menemukan struktur untai ganda (*double helix*) DNA yang menjadi dasar perkembangan cabang ilmu bioteknologi. Berdasarkan struktur untai ganda DNA, ilmuwan-ilmuwan di bidang biologi molekuler dapat melakukan serangkaian eksperimen terkait struktur unik tersebut. Keingintahuan para ilmuwan akhirnya mendorong terwujudnya sebuah proyek besar yang dinamai Proyek Genom Manusia pada tahun 1990. *Genetics Home Reference* (2017) dari Amerika Serikat menyatakan bahwa genom adalah set lengkap DNA yang dimiliki oleh suatu organisme termasuk gen-gen orisinalnya. Setiap genom memiliki semua informasi yang diperlukan organisme untuk tumbuh, berkembang, dan mengatur seluruh aktivitas tubuhnya. Proyek Genom Manusia memiliki target utama untuk mengetahui rangkaian atau sekuen lengkap gen manusia, fungsi masing-masing gen, dan inisiasi genom struktural sehingga dapat diaplikasikan dalam dunia kesehatan (Morales & Góes, 2016). Proyek mulai dipublikasikan pada tahun 2001, namun ilmuwan kembali mempublikasikan bahwa Proyek Genom Manusia telah berhasil mendapatkan sekuen keseluruhan gen manusia di tahun 2003.

Terselesainya Proyek Genom Manusia membuka kesempatan dalam identifikasi adanya keabnormalan urutan gen yang mungkin terjadi. Genom manusia memiliki 23 pasang kromosom termasuk 2 kromosom kelamin (Gambar 1) sehingga apabila terdapat kesalahan urutan genom tersebut, dapat mengakibatkan terjadinya penyakit atau ketidaknormalan dalam tubuh. Dengan diketahuinya urutan genom pada manusia, maka adanya kesalahan dalam urutannya akan lebih mudah diidentifikasi. Salah satu keuntungan diketahuinya urutan genom manusia adalah dapat mengidentifikasi adanya kelainan-kelainan genetik yang mengakibatkan adanya penyakit genetik. Penyakit akibat kelainan genetik dapat diturunkan apabila kelainan tersebut terjadi

pada kromosom kelamin. Namun, apabila kelainan terjadi pada kromosom tubuh maka tidak akan diturunkan ke generasi selanjutnya. Adanya kelainan genetik tersebut, sistem dan fungsi tubuh manusia akan terganggu dan berbeda dari normalnya. Selain itu, dengan terselesainya Proyek Genom Manusia juga memungkinkan peneliti untuk mengidentifikasi adanya gen yang terkait fungsi tertentu sehingga ketika terjadi kesalahan fungsi dapat lebih mudah dicari solusinya. Perkembangan-perkembangan dalam bidang biologi molekuler mendukung pula perkembangan di bidang bioteknologi yang nantinya dapat dimanfaatkan manusia dalam berbagai bidang kehidupan termasuk kesehatan.

Bioteknologi merupakan teknologi yang dikembangkan dengan memanfaatkan organisme, baik secara utuh maupun bagian-bagiannya saja untuk menghasilkan produk yang bermanfaat bagi manusia. Perkembangan bioteknologi modern telah sampai pada pemanfaatan organisme pada level molekulernya dan terkait dengan rekayasa genetika. Rekayasa genetika melibatkan manipulasi-manipulasi gen pada organisme sehingga dapat dimanfaatkan baik di bidang pertanian, kesehatan, lingkungan, industri, dan lainnya (Smith, 2009). Perkembangan bioteknologi di bidang kesehatan mendukung pula perkembangan terapi gen sebagai salah satu alternatif solusi masalah kesehatan. Terapi gen dapat digunakan untuk terapi penyakit, baik yang bersifat genetik maupun yang bukan. Adanya terapi gen memberikan pilihan lain bagi penderita penyakit tertentu untuk memilih metode pengobatan.

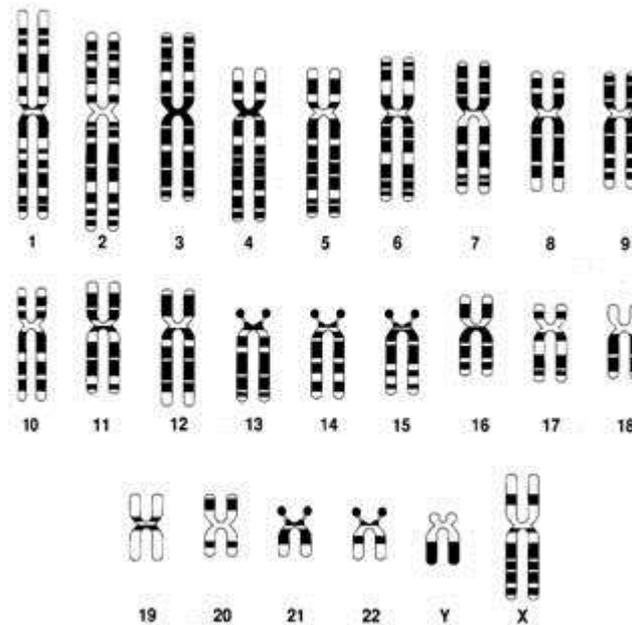
## PEMBAHASAN

Proyek genom manusia memicu penelitian-penelitian lanjutan dalam bidang biologi molekuler dan bioteknologi modern. Pemetaan genom manusia serta *karyotyping* memungkinkan adanya rekayasa gen-gen tertentu demi menghasilkan ekspresi gen yang diharapkan. Rekayasa genetika merupakan suatu sistem modifikasi genetik pada genom organisme menggunakan metode-metode dalam bioteknologi. Rekayasa genetika memungkinkan dilakukannya manipulasi gen-gen sehingga ekspresi gen dapat dikontrol dan produknya dapat dimanfaatkan untuk tujuan

tertentu (Chaterine, 2010). Teknik ini sudah banyak dimanfaatkan untuk merekayasa gen fungsional serta sudah banyak pula dimanfaatkan untuk memproduksi organisme-organisme transgenik (*Genetically Modified Organism*).

Karyotipe manusia (Gambar 1) menggambarkan keseluruhan genom manusia, memvisualisasi sel-sel, dan kromosom individual (Biomnis, 2016). Modifikasi genetik memungkinkan adanya perubahan pada pasangan basa, pemotongan fragmen DNA tertentu, maupun penambahan atau insersi suatu gen. DNA dari suatu organisme diisolasi untuk kemudian dikombinasi dengan DNA target lainnya. Rekayasa genetika digunakan oleh peneliti untuk meningkatkan atau bahkan memodifikasi karakteristik ekspresi gen pada suatu organisme, termasuk modifikasi gen yang memungkinkan adanya pencegahan dan peng-

obatan penyakit tertentu. Dalam bidang kesehatan, rekayasa genetika juga dapat dimanfaatkan untuk terapi penyakit-penyakit dengan cara terapi gen. Ilmuwan dalam bidang bioteknologi banyak melakukan penelitian di bidang terapi gen, meliputi penggantian gen yang termutasi dengan salinan gen sehat, inaktivasi (*knocking off*) gen yang termutasi, serta pengenalan gen baru untuk membantu mengatasi penyakit tertentu (Johnson, 2017). Misra (2013) menyatakan bahwa terapi gen banyak digunakan untuk penyakit yang disebabkan oleh kelainan gen tunggal resesif, seperti fibrosis kistik (*cystic fibrosis*), hemofilia, kelainan *muscular*, dan anemia sel sabit; serta penyakit lain, seperti kanker maupun AIDS (*Acquired Immunodeficiency Syndrome*).



**Gambar 1.** Kariotipe genom manusia (Chaterine, 2010)

### Terapi Gen

Teknologi terapi gen tidak terlepas dari prinsip rekayasa genetika untuk menghasilkan *GMO (Genetically Modified Organism)* atau yang biasa dikenal sebagai organisme transgenik. Ide untuk terapi gen cukup unik yaitu dengan menambahkan gen yang normal ke bagian genom yang mengalami mutasi ataupun kerusakan sehingga fungsi gen tersebut dapat diperbaiki (Kachroo & Gowder, 2016). Proses rekayasa genetik pada teknologi terapi gen meliputi tahapan berikut: isolasi gen target, penyisipan gen target ke vektor transfer, transfer vektor yang telah disisipi gen target ke

organisme yang akan diterapi, transformasi pada sel organisme target. Gen target yang telah disisipkan pada organisme yang diterapi tersebut diharapkan mampu menggantikan fungsi gen abnormal yang mengakibatkan penyakit pada penderita.

Penggunaan terapi gen harus disesuaikan dengan jenis penyakit yang akan diterapi. Penyakit dan hubungan genetiknya harus diketahui terlebih dahulu sebelum dilakukan terapi gen. Apabila suatu gen yang terkait pada penyakit tertentu telah dapat diidentifikasi, maka potensi penyakit tersebut untuk diterapi akan semakin besar. Misra (2013) menyatakan

bahwa gen merupakan unit fungsional yang berkaitan dengan hereditas yang memiliki sekuen basa tertentu. Sekuen basa tersebut yang nantinya akan menentukan jenis dan fungsi protein yang diekspresikan. Ketika suatu gen mengalami mutasi ataupun perubahan dalam sekuen basa nitrogennya, maka protein yang dikode tidak akan bisa melaksanakan fungsi normalnya dan mengakibatkan suatu kelainan genetik. Terapi gen hadir untuk menjadi solusi terapi terbaru pada penyakit baik yang diturunkan maupun yang tidak. Jackson and Naber (2017) menyatakan bahwa hingga bulan Desember 2016 telah ada sebanyak 802 percobaan klinis menggunakan terapi gen di seluruh dunia. Sebagian besar percobaan klinis terapi gen dilakukan pada pasien-pasien kanker dan penyakit kardiovaskuler. Banyaknya penelitian dalam bidang terapi gen memungkinkan pengembangan metode terapi ini sebagai salah satu alternatif pengobatan yang efektif.

Metode terapi gen mulai digunakan pada tahun 1990 ketika *National Health Institute* dari Amerika Serikat memasukkan gen normal *adenosine deaminase* (ADA) ke leukosit penderita defisiensi kekebalan kombinasi akut yang berusia 4 tahun. Terapi gen ADA disetujui oleh *Food and Drug Administration* (FDA) di Amerika Serikat pada tahun yang sama (Emengaha *et al.*, 2015). Setelah inisiasi, penelitian-penelitian mengenai terapi gen semakin berkembang. Terapi gen meliputi penggunaan asam nukleat baik DNA ataupun RNA dalam perlakuan, pengobatan, dan pencegahan penyakit pada manusia. Berdasarkan pada tipe penyakitnya, terapi gen dapat dilakukan dengan mentransfer gen fungsional yang dapat menggantikan gen yang hilang ataupun tidak berfungsi sehingga dapat mengurangi efek negatif dari kondisi tersebut (Kaufmann *et al.*, 2013).

Terapi gen pada manusia didefinisikan sebagai transfer asam nukleat berupa DNA ke sel somatik pasien sehingga gen tersebut memiliki efek pengobatan terhadap penyakit pasien, baik dengan mengoreksi ketidaknormalan gen maupun over ekspresi protein yang dikode oleh gen tersebut. Menurut Johnson (2017), terapi gen sudah banyak digunakan untuk pengobatan kanker, penyakit kardiovaskuler, penyakit infeksius, penurunan

fungsi metabolisme tubuh, penyakit limfatik, hingga cedera akibat radiasi dan penyembuhan pascabedah. Namun, tidak menutup kemungkinan berkembangnya terapi gen untuk mengobati jenis penyakit lainnya.

Rogers dan timnya merupakan orang yang pertama kali mendemonstrasikan konsep transfer gen menggunakan virus sebagai vektor. Rogers menggunakan virus *Shope papilloma wild-type* untuk mentransfer gen arginase pada dua penderita penyakit kelainan siklus urea yaitu hiperargininemia (Wirth & Ylä-Herttua, 2014). *SPV* atau *Shope Papilloma Virus* dikenal juga sebagai *CRPV* (*Cottontail Rabbit Papilloma Virus*) atau *Kappapapillomavirus 2*. Virus ini mengakibatkan karsinoma keratin yang mengalami metastasis dan mengganggu kemampuan inang untuk makan. *Papillomavirus* termasuk ke dalam Famili *Papovaviridae* yang merupakan virus DNA penginisiasi munculnya tumor. Hipotesis penelitian Rogers menyatakan bahwa virus *Shope papilloma* tersebut dapat mengkode gen yang bertanggung jawab pada aktivitas arginase dan gen ini dapat ditransfer ke tubuh penderita hiperargininemia. Namun, hasil penelitian menyatakan sebaliknya. Tidak ada perubahan pada level *arginine* maupun kondisi klinis dari penderita (Wirth & Ylä-Herttua, 2014). Dengan adanya penelitian Rogers pada tahun 1960, penelitian-penelitian lain terkait terapi gen yang meliputi prosedur transfer gennya serta vektor transfer yang digunakan semakin banyak. Terapi gen pertama yang tercatat dengan baik dilakukan pada tahun 1990. Pada tahun 2005 telah tercatat sebanyak 1100 penelitian mengenai terapi gen yang telah dilakukan di seluruh dunia, salah satunya terfokus di Jerman. Pada tahun 2003 dan November 2005, China berhasil menyetujui adanya obat terapi gen yang digunakan untuk pengobatan tumor yang membahayakan. Obat untuk terapi gen pertama kali diajukan ke *the European Agency for the Evaluation of Medicinal Products* (EMA) di Eropa pada tahun 2005 (Winnacker, 2006).

### Tipe Terapi Gen

Terdapat dua tipe utama terapi gen, meliputi terapi gen sel embrional (*germ line gene therapy*) dan terapi gen sel tubuh (*somatic gene therapy*) (Misra, 2013):

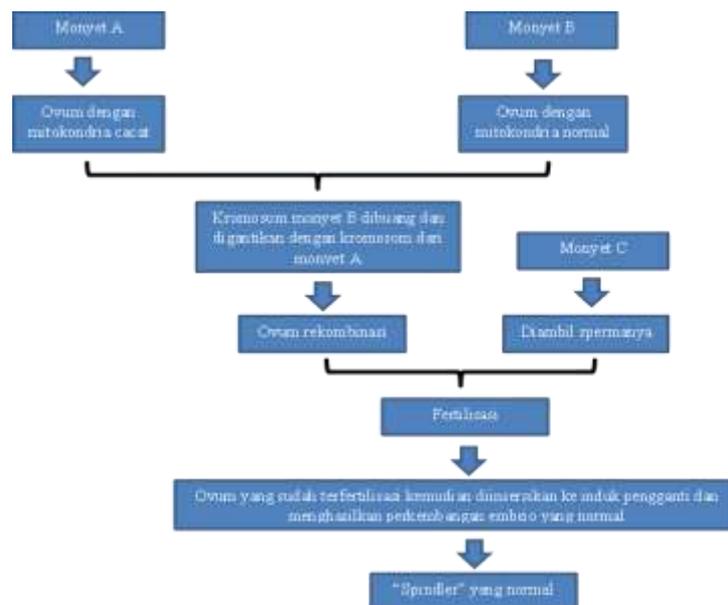
1. Terapi gen sel embrional (*germ line gene therapy*)

Pada terapi gen sel kelamin ini, digunakan sel kelamin jantan (sperma) maupun sel kelamin betina (ovum) yang dimodifikasi dengan adanya penyisipan gen fungsional yang terintegrasi dengan genomnya.

2. Terapi gen sel tubuh (*somatic gene therapy*)

Pada terapi gen sel tubuh ini, dilakukan transfer gen fungsional ke dalam sel tubuh pasien sehingga malfungsi pada organ dapat diperbaiki. Singh *et al.* (2016) menyatakan bahwa terapi gen sel tubuh spesifik untuk setiap pasien dan tidak diturunkan ke generasi berikutnya.

Pada terapi gen dengan menggunakan *germ line*, gen akan ditransfer ke dalam ovum ataupun zigot sehingga ketika ovum tersebut fertilisasi dengan sperma membentuk zigot, maka zigot akan berkembang dengan membawa gen yang telah disisipkan sebelumnya sehingga organisme baru yang terbentuk telah memiliki gen yang berfungsi dalam terapi yang dimaksudkan. Terapi gen sel embrional biasanya dilakukan pada hewan untuk membentuk hewan transgenik. Terapi gen jenis ini memungkinkan perbaikan secara genetik yang akan mulai terlihat ketika sel embrional telah berkembang menjadi individu baru.

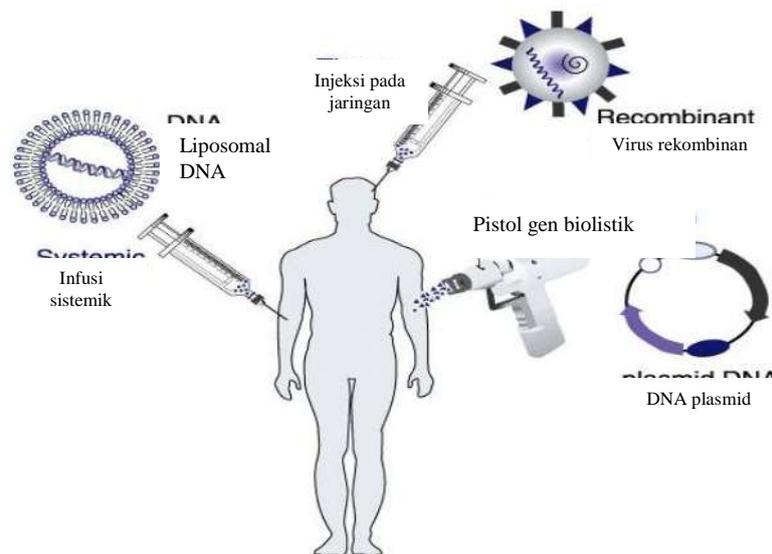


**Gambar 2.** Terapi gen sel embrional pada Spindler (monyet ketiga yang lahir dari terapi gen embrional (Oregon National Primate Research, 2015)

Gambar 2 menjelaskan tahapan dalam terapi gen sel embrional pada monyet. Terdapat dua monyet, yaitu monyet A yang memiliki kelainan pada mitokondrianya dan monyet B yang merupakan monyet normal. Untuk menghasilkan keturunan monyet A yang normal tanpa adanya kelainan pada mitokondria, maka dilakukan terapi gen melalui sel embrional. Kromosom pada ovum monyet A diambil kemudian disisipkan ke dalam ovum monyet B yang memiliki mitokondria normal. Proses pengambilan dan penyisipan tersebut dilakukan secara *ex vivo*. Ovum monyet B yang telah disisipi materi genetik monyet A kemudian difertilisasi oleh sperma dari monyet C yang sejenis dengan monyet A. Ovum yang

telah dibuahi sperma tersebut kemudian diinsersikan ke dalam uterus monyet lain yang berperan sebagai induk inang untuk kemudian memfasilitasi embrio tersebut untuk tumbuh dan berkembang. Embrio tersebut kemudian akan dilahirkan dengan kondisi tanpa kelainan mitokondria.

Pada terapi gen dengan sel somatik, DNA yang mengandung gen untuk fungsi terapi ditransfer ke dalam sel somatik baik secara *in vivo* maupun *ex vivo*. Transfer gen tersebut biasanya ditujukan secara langsung ke organ atau jaringan spesifik sehingga gen dapat terekspresi dengan baik. Pada terapi gen dengan sel somatik juga tidak akan memberikan pengaruh terhadap sel embrional.



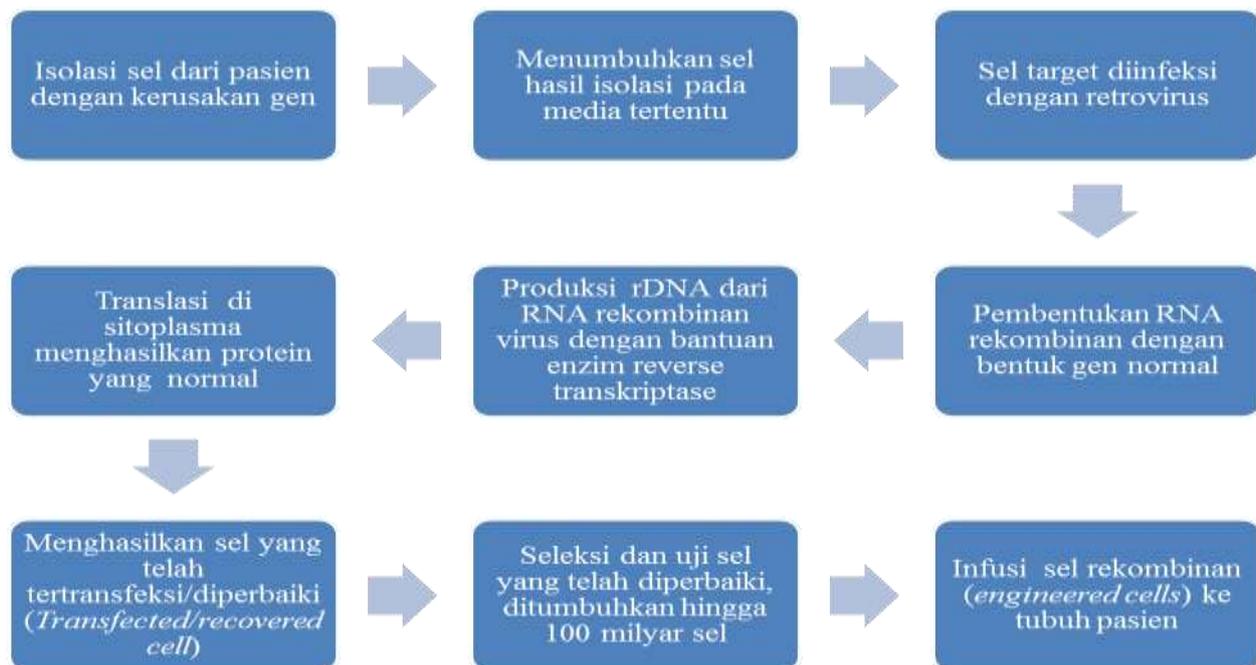
**Gambar 3.** Terapi gen secara *in vivo* (Miesfeld, 2000)

Terapi gen secara *in vivo* tetap menggunakan bantuan vektor untuk mentransfer gen target ke dalam jaringan atau organ pasien penderita penyakit tertentu. Pada Gambar 3 terlihat adanya vektor transfer gen berupa virus yang dimodifikasi menjadi virus rekombinan dengan menyisipkan DNA dengan gen target untuk terapi melalui metode teknologi DNA rekombinan. Vektor virus yang telah mengandung gen target tersebut kemudian diinjeksikan ke dalam tubuh pasien secara langsung menuju jaringan atau organ target di mana gen untuk terapi tersebut dibutuhkan atau diekspresikan. Terapi gen secara *in vivo* melibatkan proses transduksi secara langsung di dalam tubuh, lebih mudah dilaksanakan dan dikembangkan dalam skala tertentu, dan tidak membutuhkan fasilitas khusus karena injeksi atau transfer gen bisa dilakukan dengan metode umum maupun menggunakan *biolistic gene gun*. Namun, Wang *et al.* (2016) menyatakan bahwa terapi gen secara *in vivo* memiliki spesifitas dan efisiensi yang lebih rendah dibandingkan terapi gen secara *ex vivo*.

Terapi gen secara *ex vivo* memiliki tahapan yang lebih kompleks dibanding secara *in vivo*. Terapi ini melibatkan transduksi di laboratorium dengan kondisi spesifik tertentu sehingga membutuhkan fasilitas laboratorium yang lebih lengkap. Metode *ex vivo* ini juga

mengakibatkan kurangnya populasi sel yang diproliferasi. Gambar 4 menunjukkan tahapan dalam metode terapi gen secara *ex vivo* yang terdiri dari beberapa langkah, yaitu:

1. Isolasi sel yang memiliki gen abnormal dari pasien penderita penyakit tertentu.
2. Sel hasil isolasi ditumbuhkan pada media kultur tertentu yang sesuai dengan karakteristik sel
3. Sel target yang telah dikultur kemudian diinfeksi dengan *retrovirus* yang mengandung rekombinan gen dalam bentuk gen normal untuk menggantikan gen abnormal pada sel
4. Produksi rDNA dari RNA rekombinan (jika vektor virus merupakan virus dengan materi genetik berupa RNA) dengan transkripsi balik (*reverse transcription*)
5. Translasi gen normal pada sitoplasma sel menghasilkan protein yang bertanggung jawab pada gen yang mengalami kerusakan (terjadi integrasi antara gen target untuk terapi dengan gen pada sel yang dikultur)
6. Seleksi, perbanyakan, dan pengujian sel yang telah ditransfeksi untuk mendapatkan sel normal yang gen abnormalnya telah berhasil digantikan oleh gen baru
7. Injeksi kembali sel yang telah berhasil direayasa dengan terapi gen ke dalam jaringan atau organ pasien.



**Gambar 4.** Terapi gen secara *ex vivo* (Baldor, 2012)

### Transfer Gen

Keberhasilan terapi gen sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor, terutama efisiensi transfer dan ekspresi gen pada sel target. Transfer gen fungsional ke dalam sel target dalam terapi gen memerlukan vektor yang kompeten dan dapat membawa gen target dengan baik. Gen normal akan disisipkan ke dalam genom organisme untuk menggantikan gen abnormal yang menyebabkan penyakit. Menurut Misra (2013), tahapan penyisipan gen merupakan yang paling sulit dalam keseluruhan tahapan terapi gen karena pada tahapan ini menentukan keberhasilan terapi gen itu sendiri. Vektor yang akan digunakan untuk penyisipan gen pada terapi gen harus memenuhi beberapa karakteristik, yaitu memiliki spesifitas yang tinggi, mampu secara efisien menyisipkan satu atau lebih gen dengan ukuran tertentu, tidak dikenali oleh sistem imun tubuh penderita, dan dapat dipurifikasi dalam jumlah yang besar. Vektor pembawa gen target harus tidak dikenali oleh sistem tubuh penderita sehingga tidak akan menimbulkan reaksi alergi ataupun inflamasi. Penyisipan gen target via vektor tersebut harus aman bagi penderita dan lingkungan. Vektor penyisipan gen juga harus mampu untuk memfasilitasi ekspresi gen target sepanjang terapi tersebut dibutuhkan, bahkan sepanjang umur penderita.

Penyisipan gen pada terapi gen umumnya menggunakan vektor berupa virus (*viral vector*) maupun senyawa atau molekul selain virus (*non viral vector*). Transfer gen pada terapi gen dengan menggunakan vektor berupa virus disebut sebagai transduksi sedangkan transfer dengan vektor selain virus disebut sebagai transfeksi. Vektor yang ideal sebaiknya mampu mengantarkan gen ke tipe sel spesifik, mengakomodasi gen asing untuk menyesuaikan ukurannya, mencapai level dan durasi ekspresi transgenik yang mampu memperbaiki kerusakan atau ketidaknormalan gen, serta bersifat aman dan nonimunogenik (Mali, 2013).

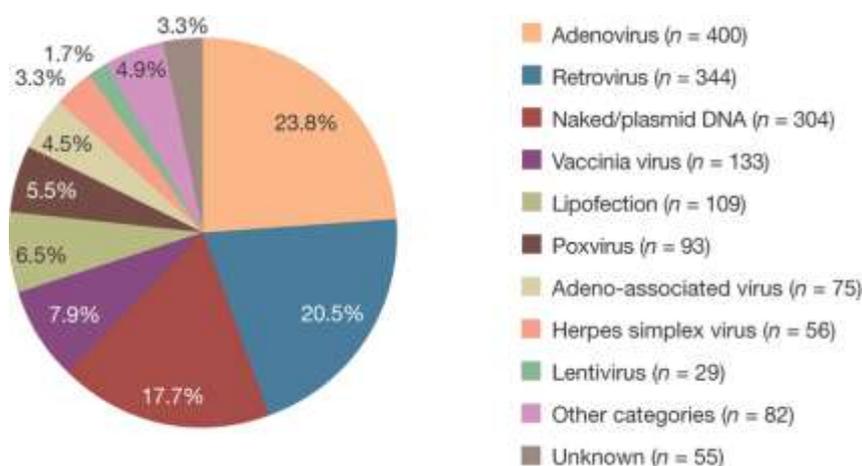
Karakteristik ideal yang harus dimiliki oleh jenis virus yang akan dijadikan sebagai vektor dalam terapi gen haruslah memiliki kemampuan untuk diproduksi dalam titer yang tinggi secara mudah dan efisien, tidak memiliki toksisitas terhadap sel target maupun efek lainnya yang dapat meniadakan kemampuannya untuk transduksi gen ke dalam sel target, dapat berintegrasi dengan sisi spesifik dari sel target yang memungkinkan terjadinya ekspresi untuk terapi gen, memiliki kapasitas transduksi yang baik pada sel-sel spesifik, serta harus memiliki kemampuan untuk menginfeksi sel-sel yang masih dapat berproliferasi. Virus yang digunakan sebagai vektor pembawa gen juga harus memiliki kemampuan untuk menghindar dari imunitas sel target (Crystal, 2014).

Apabila suatu virus telah dikembangkan dan memiliki karakteristik ideal seperti yang telah disebutkan, maka dimungkinkan untuk dapat menggunakannya sebagai vektor pembawa gen dalam terapi gen.

Menurut Misra (2013), virus yang dijadikan vektor pembawa gen target pada terapi gen haruslah berupa virus yang tidak membahayakan meskipun virus sendiri dapat berevolusi dan mengantarkan gen pada sel manusia melalui jalur patogenik. Namun, patogenitas virus vektor tersebut harus dipastikan tidak akan memberikan efek samping pada pasien yang diterapi gen. Nayerossadat *et al.* (2012) menyatakan bahwa beberapa virus yang dimanfaatkan sebagai vektor dalam terapi gen diantaranya adalah *retrovirus*, *adenovirus* (tipe 2 dan 5), *adeno-associated virus (AAV)*, virus herpes, virus cacar, *human foamy virus (HFV)*, lentivirus, serta beberapa jenis lainnya. Vektor berupa virus harus dimodifikasi genomnya dengan memotong sekuen tertentu sehingga patogenitasnya dapat dikurangi atau dihilangkan. Vektor berupa virus harus aman saat digunakan dalam proses terapi gen agar gen target yang akan digunakan sebagai pengganti gen abnormal dapat diekspresikan dengan baik tanpa menimbulkan efek samping bagi penderita yang diterapi. Terapi gen seringkali tidak berhasil dikarenakan adanya kesalahan dalam

penyiapan vektor yang akan digunakan untuk transfer gen. Vektor virus yang digunakan untuk transfer gen harus disesuaikan dengan genom sel target, misalnya *Retrovirus* memiliki kapasitas yang baik untuk berintegrasi dengan genom sel mamalia baik secara *in vivo* maupun *in vitro* (Vargas *et al.*, 2016). Proses rekombinasi gen juga harus diperhatikan sehingga penyisipan gen normal dapat berhasil dan dapat digunakan sebagai pengganti fungsi gen abnormal.

Persentase vektor virus yang sering digunakan menurut Baldor (2012) terlihat pada Gambar 5. *Adenovirus* merupakan vektor utama yang banyak digunakan sebagai vektor untuk transduksi gen pengganti gen abnormal pada suatu penyakit. Selain itu, *retrovirus* juga banyak dimanfaatkan sebagai vektor dalam terapi gen sesuai dengan kemampuannya untuk mentransduksikan gen target yang dapat digunakan untuk mensubstitusi gen abnormal penyebab penyakit tertentu. Kedua jenis virus tersebut dianggap sebagai vektor yang paling baik dan mudah diaplikasikan dalam terapi gen. Imbert *et al.*, (2017) menyatakan bahwa *adenovirus* merupakan virus dengan asam nukleat berupa DNA sedangkan *retrovirus* merupakan virus yang memiliki asam nukleat berupa RNA sehingga membutuhkan waktu yang lebih lama untuk ekspresi gen.



**Gambar 5.** Persentase jenis vektor yang digunakan dalam terapi gen (Baldor, 2012)

Misra (2013) menyatakan bahwa RNA pada *retrovirus* dapat ditranskripsi balik menjadi *complementary DNA (cDNA)* sehingga dapat disisipkan gen target untuk

terapi gen. Tiga vektor virus yang banyak digunakan dalam terapi gen adalah:

#### 1. *Adenovirus*

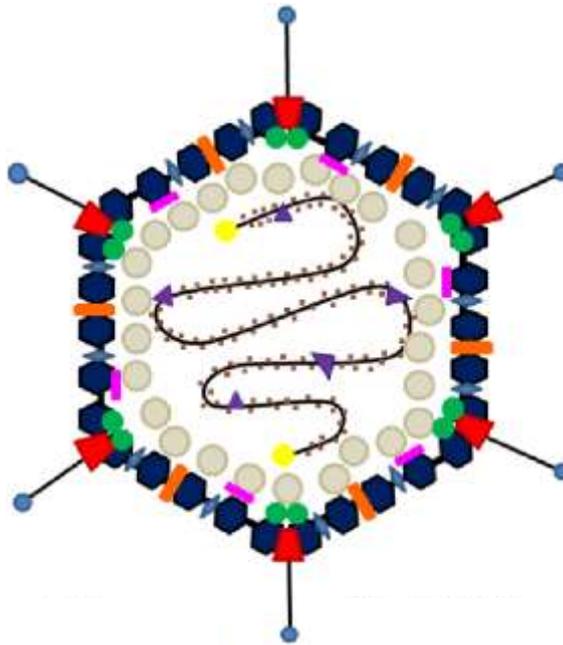
*Adenovirus* termasuk dalam virus ikosahedral yang berukuran antara 90–100 nm,

memiliki 252 kapsomer dengan 240 hekson dan 12 penton. *Adenovirus* memiliki protein fibrosa yang memanjang keluar dari penton dan struktur tersebut diketahui sebagai struktur yang mendukung kemampuan *adenovirus* untuk mengenali serta berikatan dengan reseptor sel target (Gambar 6) Genom *adenovirus* terdiri dari DNA yang linear, *double stranded*, dan tidak bersegmen dengan ukuran antara 26–45 Kbp. Genom *adenovirus* memiliki setidaknya 22–40 gen yang berbeda (Viswanathan *et al.*, 2015). *Adenovirus* memiliki kemampuan untuk menginfeksi sel manusia dan memungkinkan munculnya penyakit pada sistem pernafasan, pencernaan, maupun indera (Misra, 2013).

Infeksi *adenovirus* diinisiasi oleh tingginya afinitas pengikatan antara protein fibrosa pada penton dengan reseptor permukaan sel target, misalnya CAR (*coxsack-kievirus* dan reseptor *adenovirus*) dan domain MHC-I  $\alpha 2$  yang diikuti dengan interaksi antara penton

dengan protein integrin  $\alpha_v\beta_3$  dan  $\alpha_v\beta_5$  (Breyer *et al.*, 2001).

Imbert *et al.* (2017) menyatakan bahwa *adenovirus* merupakan virus DNA yang memiliki kemampuan yang baik untuk mentransfer gen target ke sel, efisiensi transduksi yang tinggi untuk tipe sel yang berbeda sekalipun serta memiliki waktu ekspresi gen yang cepat untuk mendukung efek substitusi gen pada terapi, dapat memfasilitasi ekspresi gen secara efektif baik pada sel yang berproliferasi maupun yang tidak, serta memiliki efisiensi yang cukup tinggi untuk menginfeksi sel target. Namun, *adenovirus* memiliki spesifisitas yang tinggi terhadap jenis jaringan atau organ target yang dapat diinfeksi sehingga tidak dapat menginfeksi jaringan atau organ selain targetnya. *Adenovirus* juga memiliki imunogenisitas yang cukup tinggi sehingga cenderung mudah dikenali oleh sistem imun penderita dan mengakibatkan berkurangnya kemampuan dalam menyisipkan gen ke tubuh pasien.

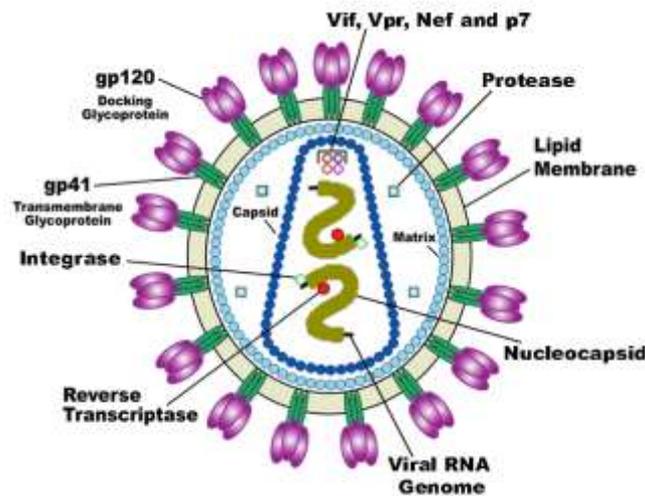


**Gambar 6.** Struktur *adenovirus* terdiri dari dua protein utama yaitu protein inti dan protein kapsid (Waye & Sing, 2010)

## 2. *Retrovirus*

*Retrovirus* merupakan salah satu virus yang menginfeksi sel hewan, termasuk manusia. Pertama kali identifikasi *retrovirus* berhasil dilakukan pada infeksi terhadap ayam sebagai salah satu faktor onkogenik. *Retrovirus* memiliki struktur spheris dengan diameter antara 80–100 nm (Gambar 7). *Virion retro-*

*virus* memiliki enzim transkriptase balik (*reverse transcriptase*), integrase, serta juga memiliki dua subunit RNA yang identik dan berikatan membentuk ikatan dimer pada kapsidnya. RNA *retrovirus* akan ditranskripsi balik saat virus ini menginfeksi sel inang (Maurya *et al.*, 2009).



**Gambar 7.** Struktur *retrovirus* (US National Institute of Health, 2016)

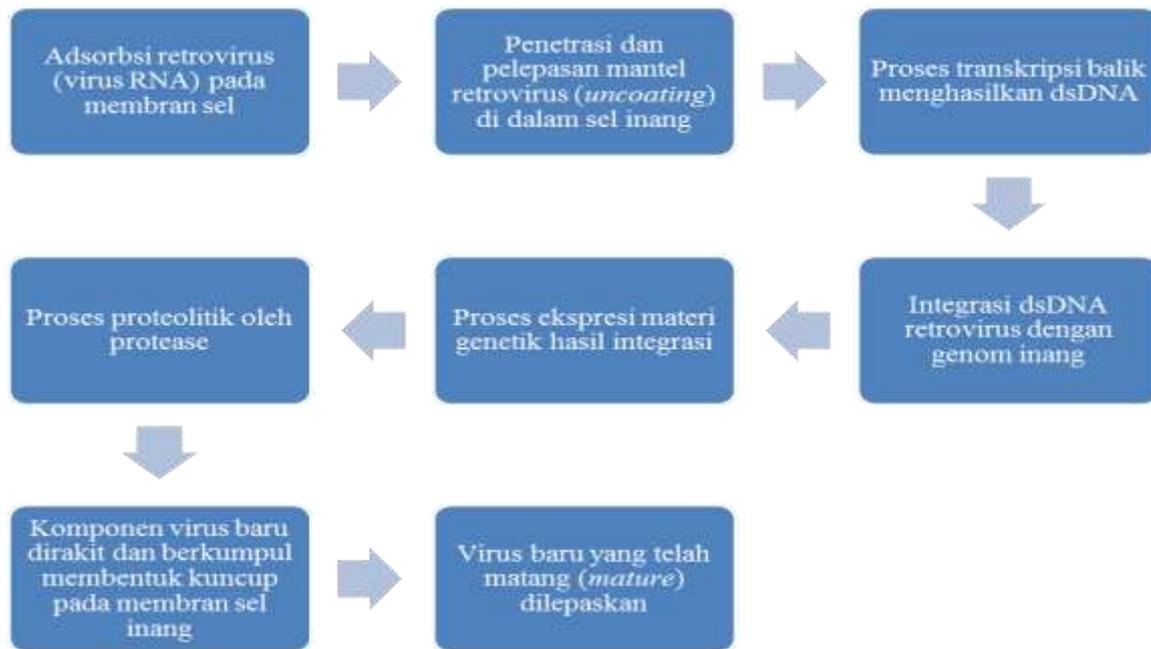
Vektor *retroviral* merupakan salah satu jenis vektor virus yang banyak digunakan dalam terapi gen sel embrional maupun sel somatik. *Retrovirus* dapat menginfeksi sel yang sedang membelah karena virus ini memiliki kemampuan untuk menembus pori nukleus saat siklus mitosis (Gambar 8). Berdasarkan kemampuannya tersebut, *Retrovirus* banyak digunakan untuk terapi gen secara *in situ* (Nayerossadat *et al.*, 2012). Materi genetik *retrovirus* cenderung kurang stabil karena berupa RNA. Untuk dapat disisipi gen target yang akan ditransfer ke sel target, RNA *retrovirus* harus ditranskripsi balik terlebih dahulu membentuk *cDNA* (*complementary DNA*) sebelum disisipi gen target. *cDNA retrovirus* dapat diintegrasikan dengan DNA inang atau penderita secara efisien untuk kemudian disebut sebagai *provirus*. *Provirus* memiliki kemampuan untuk ditranskripsi dan ditranslasi seperti gen lainnya. Hasil ekspresi *provirus* telah mengandung gen target yang akan digunakan untuk terapi serta gen dari *retrovirus* itu sendiri.

Misra (2013) menyatakan terdapat kelemahan pada penggunaan *retrovirus* sebagai vektor transfer dalam terapi gen. Kelemahan tersebut adalah adanya kemungkinan penyisipan gen virus di fragmen genom manapun pada sel inang dimana hal tersebut dapat mengakibatkan terjadinya mutasi apabila penyisipan gen virus terjadi

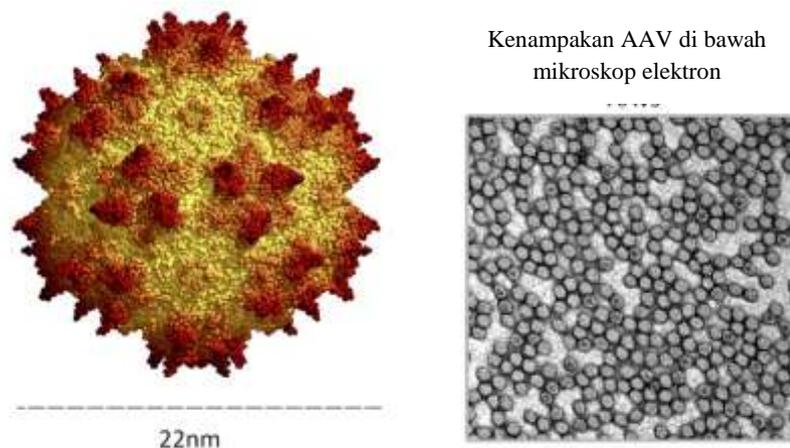
pada bagian tengah dari genom sel inang. Selain itu, penyisipan yang tidak terkontrol letaknya dapat mengakibatkan tidak terkontrolnya pembelahan sel yang terjadi sehingga dapat mengakibatkan kanker. Namun, beberapa solusi sudah dipelajari untuk dapat meminimalisasi kelemahan vektor *retrovirus* tersebut. Penambahan *zinc finger nuclease* ataupun penyertaan sekuen beta globin sebagai lokus kontrol dapat memastikan terjadinya penyisipan dan inte-grasi materi genetik pada sekuen yang tepat.

### 3. *Adeno-associated virus* (AAV)

*Adeno-associated virus* (AAV) adalah virus yang tidak memiliki selubung (*envelop*) (Gambar 9). Virus ini berukuran cukup kecil (25 nm) serta memiliki genom berupa DNA untai tunggal yang linear. Infeksi AAV hanya akan efektif jika terdapat virus pembantu (*helper virus*), baik *adenovirus* maupun herpesvirus (Schnödt *et al.*, 2016) AAV memiliki ukuran genom 4,7 Kbp serta memiliki gen *rep* dan *cap*. Gen *rep* mengkode protein non struktural yang akan berperan dalam replikasi, pengemasan, dan integrasi genom, sedangkan gen *cap* mengkode protein struktural seperti VP1, VP2, dan VP3 yang akan bergabung membentuk kapsid virus yang berperan dalam transfer gen (Santiago-Ortiz & Schaffer, 2016).



**Gambar 8.** Proses integrasi materi genetik *retrovirus* dengan inang (Saxena & Chitti, 2016)



**Gambar 9.** Struktur *Adeno-associated virus* (Abs, 2016)

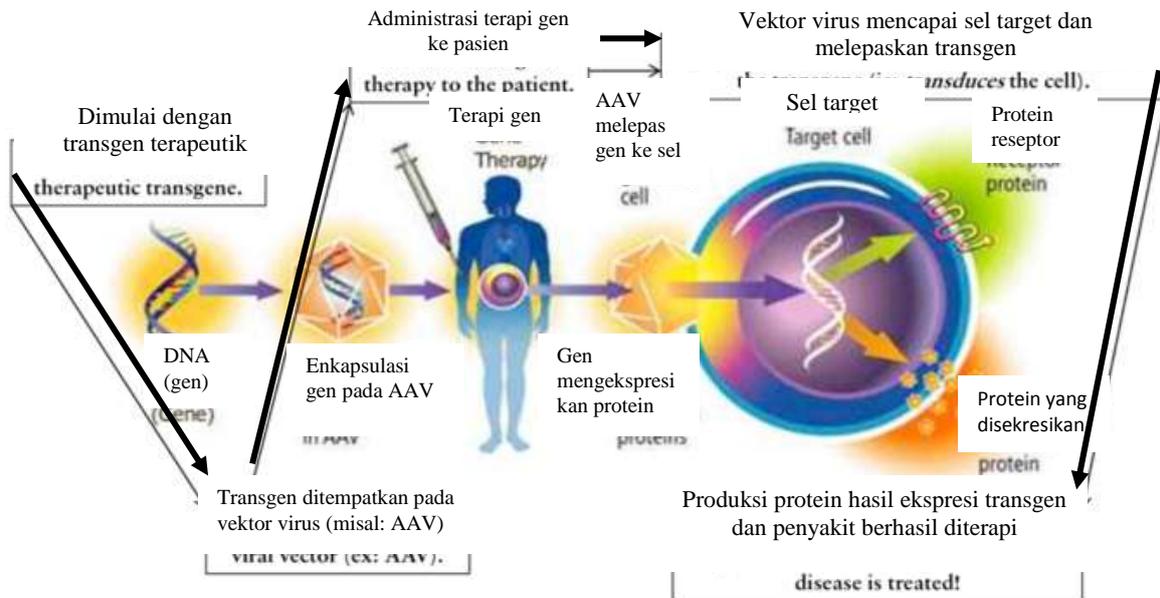
Terapi gen dengan vektor AAV umumnya digunakan dalam terapi *in situ* karena gen terintegrasi yang terdapat pada AAV rekombinan dapat langsung diinfeksi pada sel inang. Pada sel inang target, gen rekombinan dari vektor akan dirilis untuk kemudian diekspresikan menjadi protein fungsional tertentu yang dapat mensubstitusi gen yang abnormal pada sel tersebut. Dengan adanya ekspresi gen fungsional yang telah disisipkan dengan vektor AAV (Gambar 10), penyakit akibat ketidaknormalan gen dapat diobati.

Metode transfer gen melalui vektor virus memang sudah banyak dilakukan, namun dalam terapi gen, metode ini masih memiliki beberapa kelemahan. Vektor berupa virus

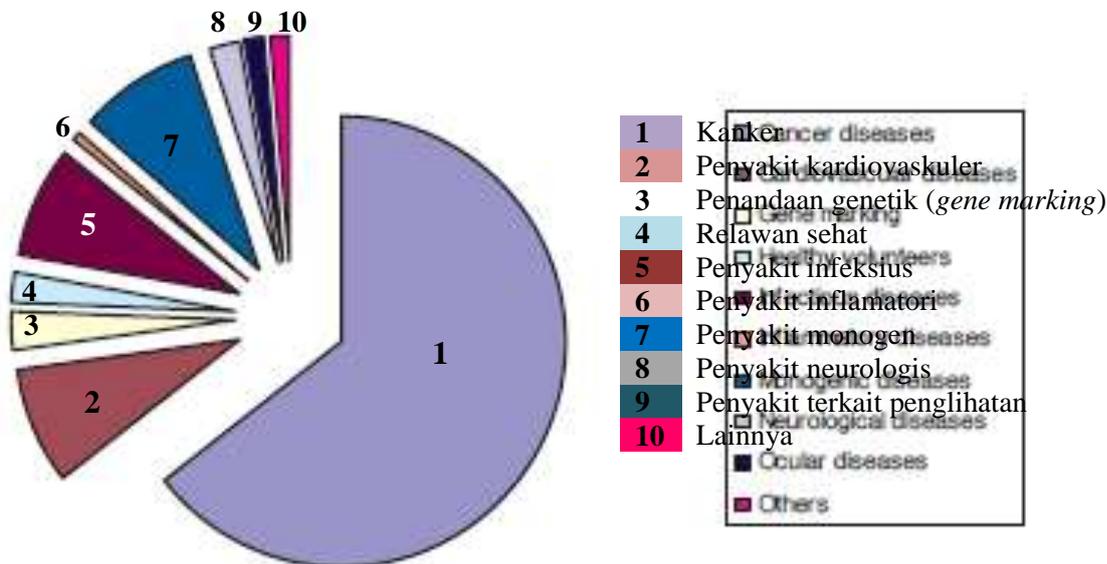
dikhawatirkan kembali virulen saat berada di dalam tubuh pasien sehingga justru dapat membahayakan kesehatan pasien. Pada 24 Juni 2010, Eureka Network melakukan proyek yang dinamakan EUREKA *project E! 3371 Gene Transfer Agents* yang meneliti mengenai senyawa turunan dari kation amfifilik 1,4-dihidropiridin/1,4-DHP (*cationic amphiphilic 1,4-dihydropyridin*) yang dapat digunakan sebagai pengantar gen normal ke dalam inti sel dan mengganti gen sebelumnya yang rusak. Proyek ini memungkinkan adanya pengembangan vektor nonviral untuk menyisipkan gen dalam terapi gen pada penyakit tertentu. Produk vektor ini memiliki kelebihan yang dinilai potensial untuk dikembangkan, yaitu telah siap untuk diproduksi dalam skala besar,

lebih efektif dibanding senyawa organik lain, serta dikarenakan karakteristiknya yang berbeda dibanding vektor virus maka resistensi kekebalan tubuh penerimanya dapat dihindari.

Adanya proyek ini memberikan alternatif lain dalam terapi gen, yaitu dengan menggunakan vektor selain virus.



Gambar 10. Terapi gen dengan vektor AAV (Templeton, 2015)



Gambar 11. Beberapa penyakit yang dapat diberi perlakuan dengan terapi gen (Molina, 2013)

### Aplikasi Terapi Gen

Terapi gen dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan terhadap penyakit-penyakit yang selama ini belum ditemukan obat maupun vaksinnnya. Gambar 11 menunjukkan beberapa jenis penyakit yang diasumsikan dapat disembuhkan dengan terapi gen. Penyakit-penyakit tersebut dapat diterapi apabila gen yang terkait dengan munculnya

penyakit telah berhasil diidentifikasi dan dapat ditemukan gen fungsional yang dapat mensubstitusi gen yang abnormal tadi. Urutan pertama penyakit yang diterapi gen adalah kanker. Beberapa jenis kanker terutama yang terkait dengan abnormalitas suatu gen telah berhasil diterapi dengan menyisipkan gen fungsional tertentu.

**KESIMPULAN**

Terapi gen merupakan metode pengobatan terbaru yang dilakukan dengan mentransfer atau menyisipkan gen fungsional tertentu yang dapat menggantikan fungsi gen abnormal yang terkait dengan penyakit target. Penyakit-penyakit yang selama ini belum ditemukan obat maupun vaksinya dapat dicoba untuk diobati dengan terapi gen. Terapi gen dapat mengatasi penyakit dengan mengidentifikasi gen terkait terlebih dahulu. Terapi gen dapat dilakukan secara *in vivo* maupun *ex vivo* baik menggunakan sel embrional maupun sel somatik. Transfer gen fungsional pada terapi gen memanfaatkan vektor tertentu, baik berupa vektor virus, seperti *adenovirus*, *retrovirus*, dan AAV maupun vektor non viral menggunakan senyawa-senyawa organik tertentu. Hingga saat ini, penyakit yang banyak menggunakan terapi gen sebagai salah satu alternatif pengobatannya adalah kanker. Keberhasilan terapi gen sangat tergantung pada efisiensi transfer gen fungsional serta efektivitas ekspresi gen fungsional tersebut.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Abs. (2016). Adeno-associated virus Introduction. Retrieved from [https://www.abmgood.com/marketing/knowledge\\_base/Adeno\\_Associated\\_Virus\\_Introduction.php](https://www.abmgood.com/marketing/knowledge_base/Adeno_Associated_Virus_Introduction.php)
- Baldor. (2012). Gene therapy. Retrieved from <http://www.anthonymbaldor.com/thoughts-and-notes/bioblog/gene-therapy/>
- Biomnis. (2016). Constitutional cyto and molecular genetics: Karyotyping, FISH and CGH array. Retrieved from [http://www.Biomnis.com/wp\\_content/uploads/2016/04/56-INTGB-Focus\\_Karyotyping\\_SNP\\_array.pdf](http://www.Biomnis.com/wp_content/uploads/2016/04/56-INTGB-Focus_Karyotyping_SNP_array.pdf).
- Breyer, B., Jiang, W., Cheng, C., Paul, R., & He, T. (2001). Adenoviral vector-mediated gene transfer for human gene therapy. *Current Gene Therapy*, 1, 1-20.
- Chaterine. (2010). Human chromosomes and karyotype. Retrieved from <http://genek.ca/2010/11/human-chromosomes-and-karyotype/>
- Crystal, R. G. (2014). Adenovirus: the first effective in vivo gene delivery vector. *Human Gene Therapy*, 25, 3-11.
- Emengaha, F. C., Johnkennedy, N., Hope, O., Henry, A., & Ukamaka, E. (2015). Gene therapy in the developing countries. *International Journal of Medical and Health Sciences Research*, (2), 80-92.
- Genetics Home Reference. (2017). *The Human Genome Project*. USA. Department of Health & Human Services.
- Imbert, M., Dias-Florencio, G., & Goyenville, A. (2017). Viral vector-mediated antisense therapy for genetic diseases. *Genes*, 8, 1-19.
- Jackson, E. A. & Naber, J. (2017). The future is now: Are payers ready for gene therapies? Retrieved from [http://www.milliman.com/uploadedFiles/insight/2017/2383HDP\\_20170202.pdf](http://www.milliman.com/uploadedFiles/insight/2017/2383HDP_20170202.pdf).
- Johnson, R. G. (2017). Will gene therapy and gene editing change your life? Retrieved from <http://www.lopc.org/wp-content/uploads/2017/03/Gene-Therapy.pdf>.
- Kachroo, S., & Gowder, S. J. T. (2016). Gene therapy: An overview. *Gene Technology*, 5, 1.
- Kaufmann, K. B., Büning, H., Galy, A., Schambach, A., & Grez, M. (2013). Gene therapy on the move. *EMBO Molecular Medicine*, 5, 1642-1661.
- Mali, S. (2013). Delivery systems for gene therapy. *Indian Journal of Human Genetics*, 19, 3-8.
- Maurya, S. K., Srivastava, S., & Joshi, R. K., (2009). Retroviral vectors and gene therapy: an update. *Indian Journal of Biotechnology*, 8, 349-357.
- Miesfeld, R. L. (2000). Gene therapy. Retrieved from <http://cbc.arizona.edu/classes/bioc471/pages/Lecture24.html>
- Misra, S. (2013). Human gene therapy: a brief overview of the genetic revolution. *Journal of the Association of Physicians of India*, 61, 41-47.
- Molina, F. M. (2013). *Gene Therapy: Tools and Potential Applications*. Croatia. InTech.
- Moraes, F. & Góes, A., (2016). A decade of human genome project conclusion: Scientific diffusion about our genome knowledge. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 44, 215-223.

- Nayerossadat, N., Maedeh, T., & Ali, P. A. (2012). Viral and nonviral delivery systems for gene delivery. *Advanced Biomedical Research*, 1, 27.
- Oregon National Primate Research. (2015). Germline engineering. Retrieved from <http://genetherapyinthefuture.weebly.com/lab-techniques.html>.
- Santiago-Ortiz, J. L., & Schaffer, D. V. (2016). Adeno-associated virus (AAV) vectors in cancer gene therapy. *Journal of Controlled Release*, 240, 287-301.
- Saxena, S. K., & Chitti, S. V. 2016. Molecular Biology and Pathogenesis of Retroviruses. Retrieved from <http://www.intechopen.com/books/advances-in-molecular-retrovirology/molecular-biology-and-pathogenesis-of-retroviruses>
- Schnödt, M., Schmeer, M., Kracher, B., Krüsemann, C., Espinosa, L. E., Grünert, A. Büning, H. (2016). DNA minicircle technology improves purity of adeno-associated viral vector preparations. *Official Journal of the American Society of Gene and Cell Therapy*, 5, 1-11.
- Singh, S. P., Rai, K. A., Wal, P., Wal, A., Parveen, A., & Gupta, C. (2016). Gene therapy: recent development in the treatment of various diseases. *International Journal of Pharmaceutical, Chemical, and Biological Sciences*, 6, 205-214.
- Smith, J. E. (2009). *Biotechnology*. Fifth Edition. UK. Cambridge University Press.
- Templeton, G. (2015). What is gene therapy? Retrieved from <http://www.extremetech.com/extreme/212956-wgat-is-gene-therapy/>
- US National Institute of Health. (2016). Discovery of key component of HIV virus yields new drug target. Retrieved from <http://medicalxpress.com/news/2016-08-discovery-key-component-hiv-virus.html>.
- Vargas, J. E., Chicaybam, L., Stein, R. T., Tanuri, A., Delgado-Cañedo, A., & Bonamino, M. H. (2016). Retroviral vectors and transposons for stable gene therapy: advances, current challenges and perspectives. *Journal of Translational Medicine*, 14, 1-15.
- Viswanathan, S., Srinivasan, P., & Prabhu. P. (2015). Adenovirus in gene therapy-a review. *Bioengineering and Bioscience*, 3, 1-5.
- Wang, L., Li, F., Dang, L., Liang, C., Wang, C., He, B., Liu, J., Li, D., Wu, X., Xu, X., Lu, A., & Zhang, G. (2016). In vivo delivery systems for therapeutic genome editing. *International Journal of Molecular Sciences*, 17, 1-19.
- Waye, M. M. Y., & Sing, C. W. (2010). Anti-viral drugs for human adenoviruses. *Pharmaceuticals*, 3, 3343-3354.
- Winnacker, E. (2006). *Development of Gene Therapy*. Bonn. Wiley-VCH.
- Wirth, T., & Ylä-Herttuala, S. (2014). Gene therapy used in cancer treatment. *Biomedicines*, 2, 149-162.