

Editor :
Dr. Nurhayu Malik, S.Si., M.Sc.
dr. Rauza Sukma Rita, Ph.D.



PENERAPAN BIOTEKNOLOGI MODERN DALAM KEHIDUPAN

Ramlah | Fadillah Maryam Bau Agiel | Rima Agnes Widya Astuti
Yuli Haryani | Hasrida | Besse Hardianti | Mutiara Indah Sari
Khairuddin | Latifa Amalia



PENERAPAN BIOTEKNOLOGI MODERN DALAM KEHIDUPAN

Buku Penerapan Bioteknologi Modern dalam Kehidupan yang berada di tangan pembaca ini terdiri dari 9 Bab:

- Bab 1 Prinsip Dasar Bioteknologi Modern
- Bab 2 Manfaat dan Dampak Bioteknologi Modern
- Bab 3 Teknologi DNA Rekombinan dan Rekayasa Genetik
- Bab 4 Teknologi CRISPR dan *Gene Editing*
- Bab 5 Bioteknologi Vaksin dan Obat-obatan
- Bab 6 Bioteknologi Terapi Gen
- Bab 7 Bioteknologi Terapi Sel Punca
- Bab 8 Bioteknologi Antibodi Monoklonal
- Bab 9 Mikrobiome dan Bioteknologi Mikroba

PENERAPAN BIOTEKNOLOGI MODERN DALAM KEHIDUPAN

Penulis:

Ramlah, S.Si., M.Sc.

apt. Fadillah Maryam Bau Agiel, S.Farm., M.Si.

Rima Agnes Widya Astuti, S.Tr.AK., M.Kes.

apt. Yuli Haryani, Ph.D.

Hasrida, S.Farm., M.Kes.

apt. Besse Hardianti, M.Pharm.Sc., Ph.D.

Dr. dr. Mutiara Indah Sari, M.Kes.

Dr. apt. Khairuddin, S.Si., M.Si.

apt. Latifa Amalia, M.Pharm.Sci.

Editor:

Dr. Nurhayu Malik, S.Si., M.Sc.

dr. Rauza Sukma Rita, Ph.D.



eureka
media aksara

PENERBIT CV. EUREKA MEDIA AKSARA

PENERAPAN BIOTEKNOLOGI MODERN DALAM KEHIDUPAN

Penulis : Ramlah, S.Si., M.Sc.
apt. Fadillah Maryam Bau Agiel, S.Farm., M.Si.
Rima Agnes Widya Astuti, S.Tr.AK., M.Kes.
apt. Yuli Haryani, Ph.D.
Hasrida, S.Farm., M.Kes.
apt. Besse Hardianti, M.Pharm.Sc., Ph.D.
Dr. dr. Mutiara Indah Sari, M.Kes.
Dr. apt. Khairuddin, S.Si., M.Si.
apt. Latifa Amalia, M.Pharm.Sci.

Editor : Dr. Nurhayu Malik, S.Si., M.Sc.
dr. Rauza Sukma Rita, Ph.D.

Desain Sampul : Firman Isma'il

Tata Letak : Melia Hasna Salsabiila

ISBN : 978-634-271-138-5

Diterbitkan oleh : **EUREKA MEDIA AKSARA, DESEMBER 2025**
ANGGOTA IKAPI JAWA TENGAH
NO. 225/JTE/2021

Redaksi:

Jalan Banjaran, Desa Banjaran RT 20 RW 10 Kecamatan Bojongsari
Kabupaten Purbalingga Telp. 0858-5343-1992
Surel : eurekamediaaksara@gmail.com
Cetakan Pertama : 2025

All right reserved

Hak Cipta dilindungi undang-undang
Dilarang memperbanyak atau memindahkan sebagian atau seluruh
isi buku ini dalam bentuk apapun dan dengan cara apapun,
termasuk memfotokopi, merekam, atau dengan teknik perekaman
lainnya tanpa seizin tertulis dari penerbit.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya, penulis dapat menyelesaikan buku ini. Penulisan buku merupakan buah karya dari pemikiran penulis yang diberi judul “Penerapan Bioteknologi Modern dalam Kehidupan”. Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak sangatlah sulit bagi penulis untuk menyelesaikan karya ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan banyak terima kasih pada semua pihak yang telah membantu penyusunan buku ini. Sehingga buku ini bisa hadir di hadapan pembaca.

Buku Penerapan Bioteknologi Modern dalam Kehidupan yang berada di tangan pembaca ini terdiri dari 9 Bab:

- Bab 1 Prinsip Dasar Bioteknologi Modern
- Bab 2 Manfaat dan Dampak Bioteknologi Modern
- Bab 3 Teknologi DNA Rekombinan dan Rekayasa Genetik
- Bab 4 Teknologi CRISPR dan *Gene Editing*
- Bab 5 Bioteknologi Vaksin dan Obat-obatan
- Bab 6 Bioteknologi Terapi Gen
- Bab 7 Bioteknologi Terapi Sel Punca
- Bab 8 Bioteknologi Antibodi Monoklonal
- Bab 9 Mikrobiome dan Bioteknologi Mikroba

Akhir kata penulis berharap Tuhan Yang Maha Esa berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga buku ini akan membawa manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI	iv
BAB 1 PRINSIP DASAR BIOTEKNOLOGI MODERN	
Oleh: Ramlah, S.Si., M.Sc.....	1
A. Definisi dan Ruang Lingkup Bioteknologi Modern	1
B. Evolusi Historis Bioteknologi Modern	5
C. Dasar-Dasar Biologi Molekuler sebagai Fondasi Bioteknologi	6
D. Teknologi Rekayasa Genetika dan Manipulasi DNA (<i>Gene</i>)	7
E. Kultur Sel dan Jaringan sebagai <i>Platform</i> Bioteknologi	7
F. Bioinformatika dan Teknologi Omics.....	10
G. Prinsip <i>Biosafety</i> , <i>Bioethics</i> , dan Regulasi Bioteknologi	14
DAFTAR PUSTAKA.....	18
BAB 2 MANFAAT DAN DAMPAK BIOTEKNOLOGI MODERN	
Oleh: apt. Fadillah Maryam Bau Agiel, S.Farm., M.Si.	23
A. Pendahuluan	23
B. Manfaat Bioteknologi pada Kehidupan Manusia	25
C. Dampak Bioteknologi Modern	28
DAFTAR PUSTAKA.....	37
BAB 3 TEKNOLOGI DNA REKOMBINAN DAN REKAYASA GENETIK	
Oleh: Rima Agnes Widya Astuti, S.Tr.AK., M.Kes.	38
A. Pendahuluan	38
B. Komponen Dasar Teknologi DNA Rekombinan	39
C. Tahapan dalam Teknologi DNA Rekombinan.....	45
D. Aplikasi Rekayasa Genetika	51
DAFTAR PUSTAKA.....	54

BAB 4	TEKNOLOGI CRISPR DAN GENE EDITING	
	Oleh: apt. Yuli Haryani, Ph.D.	59
	A. Pendahuluan	59
	B. Apa Itu Sistem CRISPR-Cas	60
	C. Prinsip Dasar Sistem CRISPR-Cas.....	61
	D. Mekanisme Teknologi CRISPR-Cas9 dalam <i>Gene Editing</i>	63
	E. Variasi <i>System</i> CRISPR.....	66
	F. Pengembangan Riset Berbasis CRISPR-Cas.....	70
	G. Aplikasi Teknologi CRISPR dalam Berbagai Bidang	73
	H. Isu Etika dan Potensi Penyalahgunaan Teknologi CRISPR	76
	DAFTAR PUSTAKA	78
BAB 5	BIOTEKNOLOGI VAKSIN DAN OBAT-OBATAN	
	Oleh: Hasrida, S. Farm., M. Kes.....	80
	A. Pendahuluan	80
	B. Prinsip dan Teknik Dasar Bioteknologi.....	81
	C. Bioteknologi dalam Produksi Vaksin	83
	D. Jenis dan Contoh Vaksin Hasil Bioteknologi	86
	E. Bioteknologi dalam Produksi Obat-obatan.....	89
	F. Contoh Obat Hasil Rekayasa Genetika.....	92
	DAFTAR PUSTAKA	96
BAB 6	BIOTEKNOLOGI TERAPI GEN	
	Oleh: apt. Besse Hardianti, M.Pharm.Sc., Ph.D.	100
	A. Pendahuluan	100
	B. Definisi dan Konsep Dasar Terapi Gen	100
	C. Komponen Utama Terapi Gen.....	106
	D. Prinsip Biologi Terapi Gen.....	113
	DAFTAR PUSTAKA	114
BAB 7	BIOTEKNOLOGI TERAPI SEL PUNCA	
	Oleh: Dr. dr. Mutiara Indah Sari, M.Kes.	117
	A. Pendahuluan	117
	B. Klasifikasi Sel Punca Dewasa.....	118
	C. Konsep “ <i>Homing</i> ” Sel Punca	124
	D. Aplikasi Klinis Sel Punca pada Terapi Penyakit	125
	DAFTAR PUSTAKA	132

BAB 8	BIOTEKNOLOGI ANTIBODI MONOKLONAL	
	Oleh: Dr. apt. Khairuddin, S.Si., M.Si.	138
	A. Pendahuluan	138
	B. Sejarah dan Perkembangan.....	139
	C. Struktur Molekul Antibodi	140
	D. Tahapan Produksi Antibodi Monoklonal	142
	E. Jenis-Jenis Antibodi Monoklonal	143
	F. Mekanisme Kerja	146
	G. Aplikasi Antibodi Monoklonal.....	148
	H. Tantangan dan Inovasi Terkini	149
	I. Kesimpulan	150
	DAFTAR PUSTAKA.....	151
BAB 9	MIKROBIOME DAN BIOTEKNOLOGI MIKROBA	
	Oleh: apt. Latifa Amalia, M.Pharm.Sci.	153
	A. Pendahuluan	153
	B. Sejarah dan Perkembangan Studi Mikrobiome.....	155
	C. Teknik dan Pendekatan Bioteknologi dalam Studi Mikrobiome	158
	D. Mikrobiome dalam Kesehatan dan Kedokteran	161
	E. Mikrobiome dalam Pertanian dan Lingkungan.....	165
	F. Integrasi Mikrobiome dan Bioteknologi Modern	167
	DAFTAR PUSTAKA.....	170
	TENTANG PENULIS.....	173

BAB

1

PRINSIP DASAR BIOTEKNOLOGI MODERN

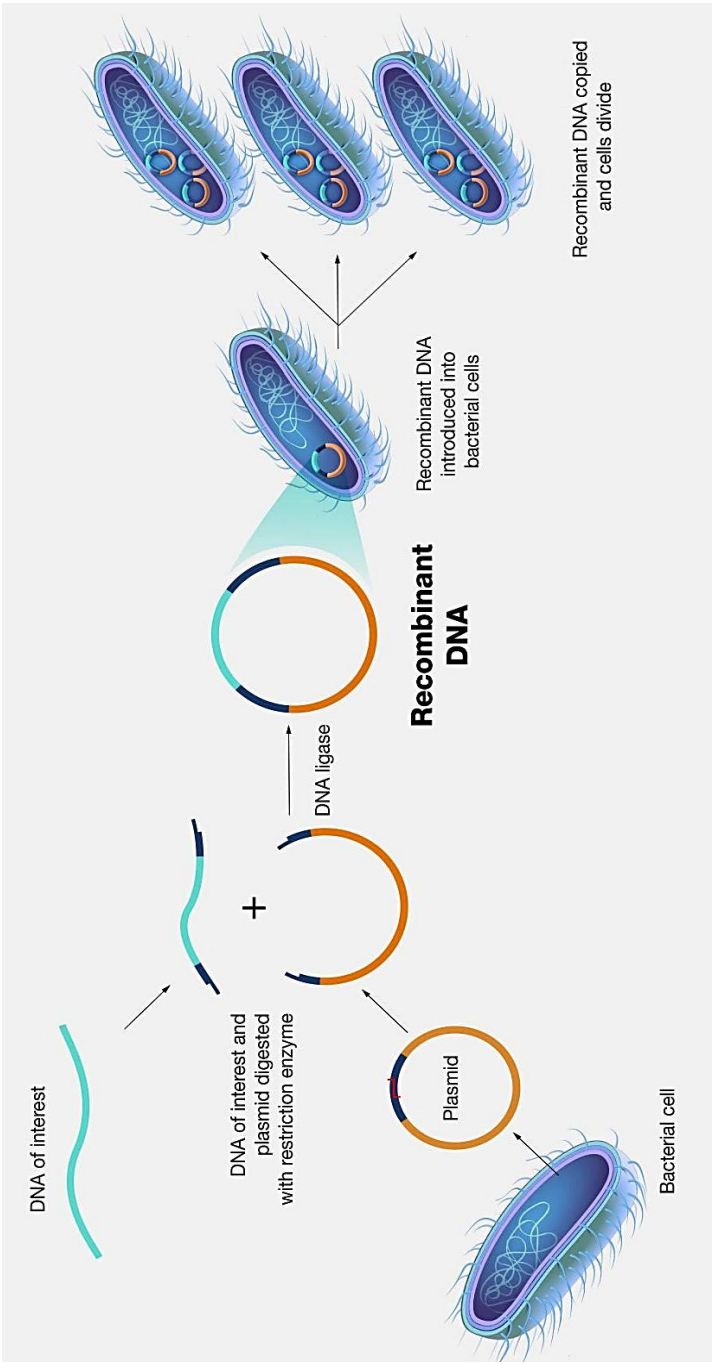
Ramlah, S.Si., M.Sc.

A. Definisi dan Ruang Lingkup Bioteknologi Modern

Bioteknologi didefinisikan sebagai penggunaan proses, organisme, atau sistem biologis untuk mengembangkan produk dan teknologi, khususnya di bidang kedokteran, pertanian, dan industri, dengan potensi manfaat untuk pembangunan berkelanjutan dan solusi hidup yang inovatif guna memenuhi kebutuhan manusia. Pemanfaatan bioteknologi telah diterapkan umat manusia sejak berabad-abad lalu. Sejarah bioteknologi di bidang industri telah dimulai pada awal abad ke-19. Bioteknologi modern telah dikembangkan menggunakan rekayasa genetika, teknik kultur sel dan jaringan. Era baru bioteknologi modern muncul melalui penemuan gen yang tersusun dari materi genetik yang disebut DNA (Johnkennedy, 2024).

Teknologi DNA rekombinan merupakan pendekatan yang memanfaatkan enzim-enzim spesifik dan serangkaian prosedur laboratorium untuk melakukan manipulasi (Gambar 1.1) serta isolasi fragmen DNA target yang dikehendaki (Lone, 2025). Teknologi ini dapat diaplikasikan untuk mengintegrasikan (ligasi) materi genetik dari spesies yang berbeda maupun untuk mengkonstruksi gen artifisial dengan fungsi biologis yang baru (Kollabathula, dkk, 2025; Malcata, 2025).

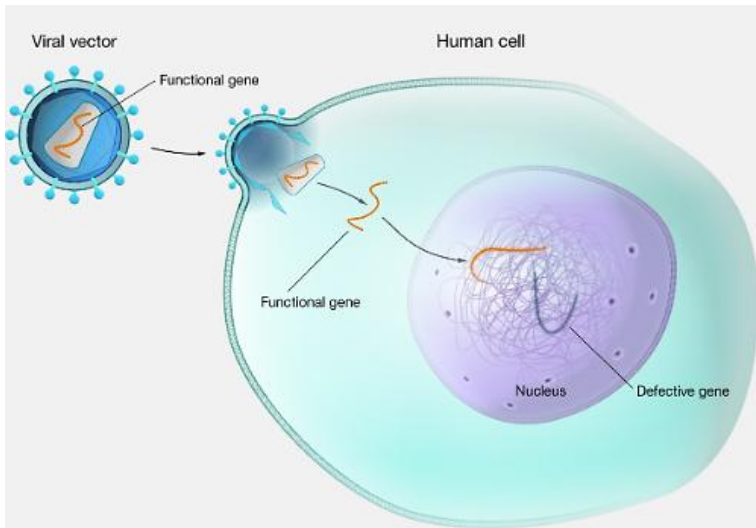
Pelaksanaan teknologi ini biasanya mencakup tahap amplifikasi DNA rekombinan di dalam sel inang prokariotik seperti bakteri atau sel eukariotik sederhana seperti khamir (yeast), di mana mesin replikasi seluler organisme tersebut mereplikasi DNA hasil rekayasa genetika bersama-sama dengan genom endogennya sendiri (Wu dkk, 2025). Produksi protein manusia melalui teknologi ini terwujud pada sintesis insulin manusia dalam sel bakteri, yang menyediakan alternatif sumber produksi insulin di luar ekstraksi dari jaringan hewan (Parasuraman dkk, 2024). Rekayasa genetika juga memberikan peran dalam pengendalian penyakit infeksius melalui produksi vaksin rekombinan (Ali, 2024; Dou, 2024). Vaksin jenis ini memanfaatkan vektor adenovirus yang membawa sekuens gen pengkode antigen patogen (Sugandhi dkk, 2025).



Gambar 1.1 Teknologi DNA Rekombinan

(Sumber. <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Recombinant-DNA-Technology>)

Produksi vaksin dalam skala besar dan waktu cepat menjadi kebutuhan penting untuk memenuhi permintaan global. Vaksin berbasis RNA telah memainkan peran vital dalam menyediakan produksi berkapasitas tinggi serta proteksi efektif terhadap pandemi seperti COVID-19. Dalam dekade terakhir, bioteknologi medis telah merevolusi ilmu kesehatan dengan memfasilitasi teknik diagnostik dan terapeutik yang inovatif. Metodologi ini meliputi *polymerase chain reaction* (PCR), teknologi *microarray*, *fluorescence in situ hybridization* (FISH), dan produksi antibodi monoklonal. Teknik-teknik tersebut mampu mempercepat waktu diagnosa penyakit infeksi dan kelainan genetik, sehingga memungkinkan respons medis dan intervensi terapeutik yang lebih efektif.



Gambar 1.2 Terapi Gen

(Sumber. <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Gene-Therapy>)

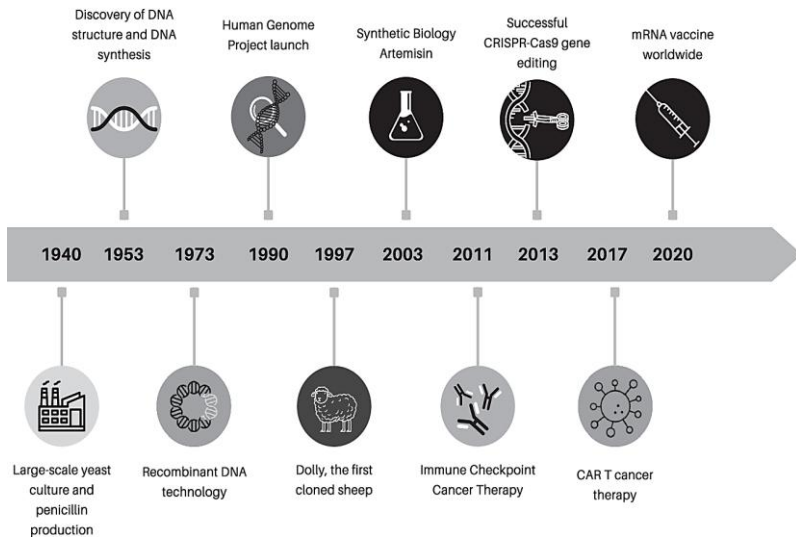
Terapi gen merupakan proses terapeutik yang memanfaatkan materi genetik untuk melakukan pengobatan, prevensi, maupun penyembuhan terhadap penyakit atau kondisi medis tertentu (Gambar 1.2). Pada umumnya, mekanisme kerja terapi gen berlangsung melalui penambahan kopi gen fungsional yang menggantikan gen defektif, atau

melalui substitusi gen yang mengalami kerusakan atau kehilangan dalam sel pasien dengan varian gen yang fungsional dan sehat. Potensi terapi gen mengalami peningkatan eksponensial seiring akumulasi data dan pengetahuan ekstensif yang diperoleh dari uji klinis terapi gen yang telah mendapat persetujuan regulatori, dengan lebih dari 1.800 uji klinis telah terlaksana hingga kini. Yang menarik, prospek aplikasi berbasis teknologi gen akan terus berkembang seiring dengan ditemukannya instrumen rekayasa genetika yang lebih sederhana dan ekonomis. Sebagai contoh, penemuan sistem *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats* (CRISPR) berpotensi memfasilitasi penyuntingan genom secara cepat dengan biaya yang relatif terjangkau.

B. Evolusi Historis Bioteknologi Modern

Biologi dan bioteknologi modern telah mengalami perkembangan signifikan yang ditandai oleh sejumlah inovasi di berbagai bidang keilmuan (Gambar 1.3.). Progres dalam bidang antimikroba, genomika, terapi berbasis RNA, serta pengobatan presisi, ditambah dengan integrasi kecerdasan artifisial (artificial intelligence/AI) dan analitik Big Data, membuka prospek intervensi terapeutik di masa mendatang yang lebih efisien.

MODERN BIOTECHNOLGY DEVELOPMENT



Gambar 1.3 Perkembangan bioteknologi modern, representasi berbagai penemuan yang telah dilakukan di bidang bioteknologi sejak tahun 1940
(Bifulco dkk, 2025)

C. Dasar-Dasar Biologi Molekuler sebagai Fondasi Bioteknologi

Biologi molekuler merupakan cabang ilmu biologi yang mengkaji fenomena kehidupan pada taraf molekuler. Fokus utama biologi molekuler tertuju pada pemahaman mengenai interaksi di antara berbagai sistem seluler, mencakup interaksi antara DNA (*deoxyribonucleic acid*/asam deoksiribonukleat), RNA (*ribonucleic acid*/asam ribonukleat), dan proses biosintesis protein, serta mengeksplorasi mekanisme regulasi yang mengontrol interaksi-interaksi tersebut (Li & Zhao, 2013). Biologi molekuler mencakup kajian mengenai struktur, fungsi biologis, dan manipulasi materi genetik (*gene*). Bioteknologi molekuler diimplementasikan untuk menganalisis patogenesis penyakit, faktor kerentanan genetik, prosedur diagnostik, dan terapeutik (Rojanasakul, 1999).

D. Teknologi Rekayasa Genetika dan Manipulasi DNA (*Gene*)

Penyuntingan gen (*gene editing*) merupakan teknik mengubah, menambah, atau menghapus bagian tertentu dari DNA organisme (Roesch & Drumm, 2017). Bayangkan Anda sedang mengedit dokumen—peneliti bisa "menemukan" kata atau kalimat tertentu dalam kode genetik, lalu menghapusnya, menggantinya, atau menambahkan informasi baru (Duensing dkk, 2018). Tujuannya beragam, memperbaiki struktur protein yang rusak, meningkatkan sifat unggul suatu tanaman, atau menonaktifkan gen penyebab penyakit (Li dkk, 2020).

Rekayasa genetika lebih luas cakupannya. Selain memodifikasi DNA yang sudah ada, teknik ini juga menyisipkan DNA asing dari organisme lain yang dikenal sebagai transgen ke dalam genom target (Lanigan dkk, 2020). Hasilnya adalah DNA rekombinan, kombinasi materi genetik yang tidak ditemukan di alam (Glick & Patten, 2022).

Perbedaan keduanya berdampak pada regulasi. Di banyak negara, produk pangan dari rekayasa genetika yang mengandung DNA asing harus melalui evaluasi ketat sebelum dijual (Dolapo dkk, 2025). Sementara produk penyuntingan gen tanpa DNA asing diperlakukan lebih longgar di beberapa negara karena dianggap mirip pemuliaan konvensional (Hubar & Purnhagen, 2025). Sayangnya, ketiga istilah modifikasi, rekayasa, penyuntingan—sering dipakai bergantian dalam literatur ilmiah, meski sebenarnya berbeda (Enriquez, 2016).

E. Kultur Sel dan Jaringan sebagai *Platform* Bioteknologi

Kultur sel dan jaringan adalah fondasi bioteknologi modern yang memungkinkan pertumbuhan sel terkontrol di laboratorium. Dimulai tahun 1907, Ross Granville Harrison berhasil mempertahankan jaringan saraf katak, membuka jalan aplikasi bioteknologi (Raik & Bhattacharyya, 2025). Perkembangan selanjutnya mencakup penemuan sel HeLa pada tahun 1951 sebagai cell line manusia pertama yang berhasil dikultur secara kontinyu, pengembangan media kultur yang lebih kompleks, teknik cryopreservation, dan kemampuan

untuk mengkultur berbagai jenis sel dari organisme yang berbeda (Rim, 2024). Dalam konteks bioteknologi modern, kultur sel diklasifikasikan menjadi kultur sel primer yang diambil langsung dari jaringan dengan kemampuan pembelahan terbatas, *cell line* yang telah mengalami transformasi atau seleksi dengan kemampuan tumbuh lebih lama, dan *continuous cell line* yang dapat membelah tanpa batas (Freshney, 2006). Aplikasi kultur sel mencakup produksi protein terapeutik, vaksin modern, terapi sel punca sebagai solusi protein berkelanjutan.

1. Prinsip Dasar dan Teknik Kultur Sel

Keberhasilan kultur sel sangat bergantung pada sterilitas, di mana kontaminasi mikroorganisme harus dicegah dengan mensterilkan semua peralatan, media, dan permukaan kerja. Manipulasi sel harus dilakukan dalam *Biological Safety Cabinet* menggunakan teknik aseptik untuk meminimalkan resiko kontaminasi dan menjaga validitas data.

Media kultur merupakan faktor utama dalam pelaksanaan kultur jaringan. Media kultur berperan sebagai sumber nutrisi dan faktor pertumbuhan. Media kultur umumnya mengandung asam amino, vitamin, garam mineral, glukosa, dan serum, yang diperlukan tanaman untuk tumbuh dan berkembang (zat pengatur tumbuh). Parameter lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan sel yaitu suhu, pH, dan kelembabab. Setiap parameter harus berada dalam rentang optimal untuk pertumbuhan yang optimal pula. Pertumbuhan sel dalam kultur mengikuti pola empat fase yaitu *fase lag* (adaptasi), *fase log* (eksponensial), *fase plateau* (stasioner), dan *fase decline* (kematian). Teknik kultur sel tumbuhan dibedakan berdasarkan cara sel tumbuh, yaitu kultur sel *adherent* (menempel pada substrat) dan kultur sel suspensi (melayang bebas di dalam medium cair) (Larasati dkk, 2020).

2. Kultur Tiga Dimensi (3D) dan Rekayasa Jaringan

Kultur 3D merevolusi studi jaringan hidup karena memungkinkan sel untuk tumbuh dalam struktur tiga dimensi yang meniru lingkungan alami tubuh, berbeda dengan kultur datar. Rekayasa jaringan melangkah lebih jauh dengan menggabungkan sel dengan material buatan seperti *scaffold* polimer sebagai kerangka untuk pertumbuhan sel, sementara bioprinting memungkinkan pencetakan jaringan sesuai pesanan/target menggunakan “tinta” sel yang mirip dengan printer 3D.

3. Kultur Sel Spesifik dan Aplikasi Industri

Kultur sel tanaman mencakup kultur kalus sebagai massa tidak terdiferensiasi dari explant, kultur suspensi untuk produksi bioreactor, dan kultur protoplas untuk manipulasi genetik. Teknik ini memfasilitasi micropropagation dan produksi metabolit sekunder seperti alkaloid serta flavonoid sebagai alternatif sustainable. Kultur sel mikroba meliputi *E. coli* dan *Bacillus* untuk protein rekombinan, *S. cerevisiae* dan *P. pastoris* untuk sistem ekspresi eukariot, serta fungi filamentous untuk enzim dan antibiotik.

Bioreactor menjadi inti produksi bioteknologi industri, termasuk stirred-tank untuk distribusi homogen, wave bioreactor mengurangi *shear stress*, dan hollow fiber menciptakan sistem vaskularisasi dengan kepadatan sel tinggi. *Scale-up* memerlukan maintenance parameter kritis dan *Quality by Design approach*. Monitoring *real-time* menggunakan sensors dan spektroskopi memungkinkan optimasi dengan *process analytical technology* dan *artificial intelligence*. Aplikasi industri meliputi produksi antibodi monoklonal, vaksin berbasis kultur sel, dan *drug screening* menggunakan teknologi 3D yang meningkatkan nilai prediksi.

F. Bioinformatika dan Teknologi Omics

Bioinformatika adalah disiplin interdisipliner yang mengintegrasikan biologi, ilmu komputer, matematika, dan statistik untuk menganalisis data biologis kompleks berskala besar, menjadi komponen integral penelitian biologi molekuler dan bioteknologi modern. Kelahiran bioinformatika dimulai tahun 1960-an oleh Margaret Oakley Dayhoff dalam analisis sekuens protein, namun perkembangan signifikan terjadi dengan Human Genome Project (1990-2003) yang menghasilkan blueprint genetik manusia dan memacu pengembangan algoritma komputasi, database biologis, serta tools analisis sebagai fondasi bioinformatika modern.

Perkembangan teknologi sekuensing DNA dari metode Sanger hingga *Next-Generation Sequencing* menghasilkan data skala terabytes, menciptakan era big data dalam biologi yang memerlukan infrastruktur komputasi powerful dan algoritma efficient. Database biologis fundamental meliputi GenBank untuk sekuens nukleotida, UniProt untuk informasi protein, dan Protein Data Bank untuk struktur 3D protein yang terintegrasi dengan jalur metabolik dan regulasi jaringan, menjadikan kemampuan navigasi database sebagai keterampilan esensial bioinformatician.

1. Analisis Sekuens dan Struktur Biologis

Sequence alignment merupakan operasi fundamental dalam analisis bioinformatika yang menyusun dua atau lebih sekuens biologis (DNA, RNA, atau protein). Sequence alignment digunakan untuk mengidentifikasi wilayah kesamaan yang mengindikasikan kesamaan fungsional, struktural, ataupun hubungan evolusioner. Dengan menyelaraskan sekuens, peneliti dapat mempelajari hubungan homologi dan evolusi antar sekuens yang dianalisis.

Pairwise alignment merupakan analisis yang membandingkan dua urutan/sekuens menggunakan algoritma seperti Needleman-Wunsch untuk penyelarasan global atau Smith-Waterman untuk penyelarasan lokal.

Sedangkan *Multiple Sequence Alignment* (MSA) membandingkan tiga atau lebih urutan/sekuens menggunakan heuristik dengan tools seperti *Clustal Omega*, atau MUSCLE.

BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) merupakan alat bioinformatika yang populer untuk mencari kesamaan sekuens DNA atau protein dengan database secara cepat. Terdapat berbagai varian diantaranya BLASTn untuk nukleotida, BLASTp untuk protein, dan BLASTx untuk perbandingan sekuens DNA yang diterjemahkan dengan database protein, yang masing-masing dirancang untuk tujuan spesifik (Anwar dkk, 2022; Wangiyana, 2022).

Analisis filogenetik menggunakan *sequence similarity* untuk membuat pohon yang merepresentasikan hubungan evolusi dari nenek moyang yang sama. Metode yang digunakan meliputi metode berbasis jarak genetik seperti *Neighbor-Joining*, metode berbasis karakter seperti *Maksimum Parsimony*, Maksimum kemungkinan, dan *Inferensi Bayesian* yang menggunakan model evolusi eksplisit dengan tools seperti, PhyML, BEAST, atau MrBayes (Murtadlo, 2018). Aplikasi analisis filogenetik dilakukan untuk memahami evolusi gen keluarga, mengidentifikasi transfer gen horizontal, mengklasifikasi organisme baru, hingga menelusuri penularan penyakit menular. Prediksi dan analisis struktur protein penting karena struktur menentukan fungsi, dengan *secondary structure prediction* menggunakan *machine learning* mencapai accuracy 80% menggunakan PSIPRED (Smolarczyk dkk, 2020).

2. Teknologi Genomics dan Transcriptomics

Genomics merupakan studi komprehensif tentang keseluruhan genom organisme dengan teknologi sekuensing yang telah bertransformasi secara dramatis. *Next-Generation Sequencing* seperti Illumina menggunakan sequencing-by-synthesis dengan paralelisasi masif menghasilkan ratusan juta hingga miliaran short reads (50-300 bp) (Azizi dkk, 2021). Sementara itu, *third-generation sequencing* seperti PacBio

dan Oxford Nanopore memungkinkan single-molecule sequencing dengan panjang reads mencapai puluhan ribu basa, meningkatkan kualitas genome assembly secara signifikan (Ishak, 2020). Genome assembly merekonstruksi genom dari jutaan reads menggunakan de Bruijn graphs atau overlap-layout-consensus, dengan strategi hybrid menggabungkan kedua teknologi (Jia dkk, 2025).

Metagenomics mempelajari materi genetik dari sampel lingkungan tanpa perlu kultivasi, membuka peluang untuk mempelajari mayoritas mikroorganisme yang tidak dapat dikultur. Sekuensing gen 16S rRNA merupakan pendekatan targeted yang cost-effective untuk profiling komposisi komunitas bakteri dan archaea, namun terbatas pada profiling taksonomi. Sebaliknya, shotgun metagenomics mensekuens seluruh DNA memberikan informasi taksonomi dan fungsional meskipun sangat menantang, menggunakan tools seperti Kraken2, MetaPhlAn, dan Kaiju. Aplikasi metagenomics sangat beragam, dari studi mikrobioma manusia yang menghubungkan bakteri usus dengan penyakit, monitoring lingkungan, penemuan enzim novel untuk bioteknologi, hingga aplikasi forensik (Anyaso dkk, 2021).

Transcriptomics adalah studi komprehensif tentang complete set transkrip RNA, dengan RNA-seq sebagian besar menggantikan microarray karena keunggulan tidak memerlukan pengetahuan sekuens sebelumnya, rentang dinamis lebih luas, dan kemampuan mendeteksi transkrip novel. Workflow RNA-seq melibatkan ekstraksi RNA, preparasi library, sekuensing, dan analisis bioinformatika termasuk kontrol kualitas, alignment, kuantifikasi ekspresi gen, dan analisis statistik untuk mengidentifikasi gen yang diekspresikan secara berbeda menggunakan DESeq2, atau edgeR (Yee, 2018). Single-cell RNA sequencing (scRNA-seq) merupakan kemajuan revolusioner yang memungkinkan profiling transkriptomik sel individual, mengungkap heterogenitas seluler dengan teknologi seperti 10X Genomics

Chromium, dengan aplikasi mentransformasi biologi perkembangan, penelitian kanker, imunologi, dan neurosains.

3. Proteomics, Metabolomics, dan Integrasi Multi-Omics

Proteomics mempelajari protein dalam jumlah besar menggunakan spektrometer massa. Caranya? Protein dipotong-potong menjadi fragmen kecil (peptida), lalu dianalisis dengan LC-MS/MS. Software seperti Mascot mencocokkan pola hasil eksperimen dengan database untuk mengidentifikasi protein mana yang tersedia. Kita juga bisa mengukur jumlahnya menggunakan pelabelan isotop atau tanpa label sama sekali. Yang menarik, protein bisa dimodifikasi setelah dibuat (fosforilasi, glikosilasi, dll), dan hal ini memengaruhi fungsinya.

Metabolomics fokus pada molekul kecil hasil metabolisme sel. Teknik NMR tidak merusak sampel, tetapi mass spectrometry (GC-MS/LC-MS) lebih sensitif. Ada dua pendekatan yaitu **targeted** untuk mengukur metabolit tertentu dengan presisi tinggi, dan **untargeted** untuk memetakan semua metabolit sekaligus yang cocok untuk penelitian eksplorasi.

Saat ini, para ilmuwan menggabungkan data genomik, proteomik, metabolomik dalam satu analisis (*multi-omics*). Tantangannya, data sangat beragam, dimensinya tinggi, dan analisis biologi yang rumit. *Machine learning* – terutama *deep learning* – membantu menemukan pola tersembunyi seperti AlphaFold2 untuk prediksi struktur protein.

Dampaknya nyata: penemuan obat lebih cepat, pengobatan personal (*precision medicine*), tanaman unggul hasil rekayasa, bahkan mikroba yang didesain menghasilkan biofuel. Bioinformatika mengubah biologi jadi sains prediktif berbasis data.

G. Prinsip *Biosafety*, *Bioethics*, dan Regulasi Bioteknologi

Kemajuan bioteknologi yang pesat memberikan manfaat signifikan sekaligus memunculkan isu krusial mengenai keamanan, etika, dan regulasi. *Biosafety*, *bioethics*, dan kerangka regulasi menjadi fondasi penting untuk memastikan pengembangan dan aplikasi teknologi biologis yang bertanggung jawab, melindungi kesehatan manusia dan lingkungan, serta menghormati nilai moral masyarakat. Ketiga elemen ini harus terus beradaptasi menghadapi teknologi baru seperti gene editing dan synthetic biology.

1. Prinsip *Biosafety* dan *Biosafety Level*

Keamanan hayati (*biosafety*) merupakan serangkaian prinsip dan praktik yang dirancang untuk melindungi kesehatan manusia serta lingkungan dari risiko yang ditimbulkan oleh agen biologis dan aplikasi bioteknologi. Berbeda dengan biosekuritas yang berfokus pada pencegahan penyalahgunaan agen biologis secara sengaja seperti bioterorisme, *biosafety* menekankan pada pencegahan paparan tidak disengaja. Penilaian risiko menjadi inti dari *biosafety*, meliputi evaluasi sistematis terhadap bahaya biologis dengan mempertimbangkan faktor-faktor seperti patogenisitas, virulensi, transmisibilitas, ketersediaan profilaksis, rentang inang, stabilitas lingkungan, dosis infeksius, dan jalur paparan.

Berdasarkan penilaian risiko tersebut, *Biosafety Level* (BSL) mengklasifikasikan tingkat kontainmen yang diperlukan. BSL-1 digunakan untuk agen berisiko minimal dengan praktik mikrobiologi standar, BSL-2 untuk agen berisiko moderat memerlukan biological safety cabinet, BSL-3 untuk patogen serius memerlukan sistem ventilasi khusus, dan BSL-4 untuk agen eksotik berbahaya memerlukan kontainmen maksimal. Good Laboratory Practice mencakup prosedur operasional standar, alat pelindung diri, manajemen limbah, dan prosedur tanggap darurat. Untuk organisme hasil rekayasa genetika, Cartagena Protocol

menyediakan kerangka internasional yang mengatur transfer dan penanganan aman organisme modifikasi hidup.

2. Prinsip *Bioethics* dan Isu Etika Kontemporer

Etika bioteknologi (*bioethics*) menyediakan kerangka moral untuk mengevaluasi kelayakan penelitian dan aplikasi biologis berdasarkan empat prinsip fundamental yaitu (1) otonomi (menghormati hak individu untuk membuat keputusan berdasarkan informasi lengkap), (2) beneficence (memaksimalkan manfaat dan kesejahteraan), (3) non-maleficence (tidak menyebabkan kerugian dengan meminimalkan risiko), serta (4) keadilan (memastikan distribusi manfaat dan beban yang adil).

Isu etika kontemporer sangat kompleks dan terus berkembang. Rekayasa genetika manusia, khususnya *germline editing* menggunakan CRISPR/Cas9, menimbulkan kekhawatiran mendalam tentang konsekuensi tidak terduga, akses yang adil, dan potensi menuju "*designer babies*", sebagaimana terbukti dari kontroversi kasus He Jiankui tahun 2018 yang memicu kecaman global (Thiel, 2021; Chatterjee & Singh, 2025). Kloning reproduksi umumnya dianggap tidak etis dan dilarang di banyak negara, sementara kloning terapeutik lebih diterima meskipun masih kontroversial. Penelitian embryonic stem cell menghadapi penolakan karena melibatkan destruksi embrio, sedangkan *induced pluripotent stem cells* (iPSCs) menawarkan alternatif yang lebih etis (Setyowati, 2023).

GMO (*Genetically Modified Organism*) dalam pangan menjadi subjek perdebatan yang intens antara manfaat peningkatan hasil panen, pengurangan penggunaan pestisida, dan fortifikasi nutrisi, sementara di sisi lain menimbulkan kekhawatiran terkait dampak kesehatan jangka panjang serta kontrol pasar oleh pemerintah. *Synthetic biology* memunculkan pertanyaan eksistensial tentang batas manipulasi kehidupan yang dapat diterima. Privasi genetik menjadi semakin relevan dengan maraknya tes genetik dan database genomik, memicu kekhawatiran diskriminasi

asuransi atau pekerjaan. Protokol Nagoya (*non-human*) mengatur *access and benefit sharing* untuk memastikan kompensasi adil bagi negara penyedia sumber daya genetik, sementara *Informed Consent* (IC) (*human*) tetap menjadi prinsip fundamental dalam penelitian yang melibatkan sampel biologis manusia.

3. Kerangka Regulasi dan Tata Kelola Bioteknologi

Regulasi bioteknologi bervariasi signifikan antar negara, mencerminkan perbedaan persepsi risiko, nilai budaya, dan sistem politik. Kerangka regulasi internasional menyediakan harmonisasi melalui pedoman WHO untuk laboratorium biosafety, *Convention on Biological Diversity* (CBD) yang mengatur konservasi keanekaragaman hayati, Cartagena Protocol yang mengatur pergerakan lintas batas organisme hasil modifikasi hidup, Nagoya Protocol untuk *access and benefit sharing*.

Di Indonesia, regulasi nasional mencakup Undang-Undang No. 18/2012 tentang Pangan yang mengatur keamanan pangan termasuk GMO, Peraturan Pemerintah (PP) No. 21/2005 tentang Keamanan Hayati Produk Rekayasa Genetik, dan PP No. 86/2019 tentang Keamanan Pangan. Komisi Keamanan Hayati Produk Rekayasa Genetik (KKH-PRG) sebagai otoritas nasional untuk evaluasi biosafety dan persetujuan produk hasil rekayasa genetik, memastikan produk pangan yang diedarkan memenuhi standar keamanan dan tidak membahayakan kesehatan manusia serta lingkungan. Tahapan regulasi produk bioteknologi sangat ketat karena melibatkan pengujian ekstensif, penilaian risiko kesehatan, dan lingkungan, uji lapangan, dan konsultasi publik. Proses ini memastikan keamanan dan kelayakan produk sebelum disetujui untuk digunakan secara luas.

Hak Kekayaan Intelektual (HKI) dalam bioteknologi menjadi isu kontroversial, khususnya paten pada organisme hidup dan gen. Hal ini karena kontroversi masalah etis, legalitas, dan dampak sosial yang kompleks. Persepsi publik

dan komunikasi sains sangat krusial untuk penerimaan bioteknologi, memerlukan strategi komunikasi yang transparan dan melibatkan berbagai pemangku kepentingan. Pertimbangan masa depan mencakup regulasi untuk teknologi emerging seperti *gene editing* dan *synthetic biology*, membutuhkan kerangka regulasi adaptif yang menyeimbangkan inovasi dengan prinsip kehati-hatian melalui dialog berkelanjutan antara ilmuwan, pembuat kebijakan, etikawan, dan masyarakat.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, M. (2024). The Genetic Revolution In Vaccines: Dna Vaccines And Their Impact On Infectious Disease Control. *Journal Transformation Of Knowledge*, 2(01).
- Anwar, M. A., Nurjanah, S. N., & Rahayu, W. P. (2022). Aplikasi basic local alignment search tool (BLAST) NCBI pada penelitian molekuler salmonella SPP. *Syntax Literate: Jurnal Ilmiah Indonesia*, 7(11), 15446-15464.
- Anyaso-Samuel, S., Sachdeva, A., Guha, S., & Datta, S. (2021). Bioinformatics pre-processing of microbiome data with an application to metagenomic forensics. In *Statistical analysis of microbiome data* (pp. 45-78). Cham: Springer International Publishing.
- Azizi, Aqil, S. Pi, Deffi Ayu Puspito Sari, S. TP, and Anggie Tri Agusti ST. (2021). *Metode analisis Next Generation Sequencing (NGS)*. Nas Media Pustaka.
- Bifulco, M., Di Zazzo, E., Affinito, A., & Pagano, C. (2025). The relevance of the history of biotechnology for healthcare: Teaching students how biotechnology and medicine have been closely entwined during the past century highlights how both fields have inspired and driven each other. *EMBO reports*, 26(2), 303-306.
- Chatterjee, G., & Singh, K. K. (2025). Editing the Future: Ethical Challenges of Therapeutic Use, Germline Modification and Human Enhancement with CRISPR. In *CRISPR Technologies-Advances in Genome Editing, Applications, and Ethical Implications*. IntechOpen.
- Dolapo, A. O., Onyeaka, H., Ekwueme, C. T., Njoagwuani, E. I., Ayomikun, O. O., Ngene, C. E., Olatunji, C.A., Oladunjoye, I., Michael, I. M., Akegbe, H., & Tamasiga, P. (2025). Evaluating Consumer Perceptions and Safety of Genetically Modified Foods in Africa: A Comprehensive Review. *Food Science & Nutrition*, 13(6), e4730.

- Dou, W. (2024). Analysis of the value of genetic engineering technology in the field of biopharmaceuticals. *International Journal of Frontiers in Medicine*, 6(5).
- Duensing, N., Sprink, T., Parrott, W. A., Fedorova, M., Lema, M. A., Wolt, J. D., & Bartsch, D. (2018). Novel features and considerations for ERA and regulation of crops produced by genome editing. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 6, 79.
- Enríquez, P. (2016). Genome editing and the jurisprudence of scientific empiricism. *Vand. J. Ent. & Tech. L.*, 19, 603.
- Freshney, R. I. (2006). Basic principles of cell culture. *Culture of cells for tissue engineering*, 3-22.
- Glick, B. R., & Patten, C. L. (2022). *Molecular biotechnology: principles and applications of recombinant DNA*. John Wiley & Sons.
- Hubar-Kołodziejczyk, A., & Purnhagen, K. P. (2025). Regulatory Requirements for the Identification, Detection and Quantification of Gene-Edited Products in Light of the (R) evolution of New Genomic Techniques: State of the Art and Prospects for Changes. *European Journal of Risk Regulation*, 1-17.
- Ishak, N. A. M. (2020). *Performance Analysis of Bacterial Genome Assemblers Using Illumina Next Generation Sequencing Data* (Master's thesis, University of Malaya (Malaysia)).
- Jian, J., Gao, Q., Cheng, J., & Yin, Y. (2025). Genome Assembly Algorithms.
- Johnkennedy, N. (2024). Biotechnology and its Applications. *Biomedical Studies and Clinical Evaluations (BSCE)*, 1(1).
- Karagyaur, M. N., Efimenko, A. Y., Makarevich, P. I., Vasiluev, P. A., Akopyan, Z. A., Bryzgalina, E. V., & Tkachuk, V. A. (2019). Ethical and legal aspects of using genome editing technologies in medicine. *Современные технологии в медицине*, 11(3 (eng)), 117-132.

- Kollabathula, P., Katru, S., Tumarada, P., Ravuri, S., Zainab, A., & Velagala, S. K. (2025). Harnessing Recombinant DNA Technology for Modern Innovations: A Review. *International Journal of Dental Materials*, 7, 27-31.
- Lanigan, T. M., Kopera, H. C., & Saunders, T. L. (2020). Principles of genetic engineering. *Genes*, 11(3), 291.
- Larasati, R. R. D., Nugraheni, I. A., Anindita, N. S., Pt, S., Biotech, M., & Khumaira, A. (2020). *Sistem Kultur Artifisial Sebagai Teknologi Biomanufaktur Pluripotent Stem Cells Secara In Vitro* (Doctoral dissertation, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta).
- Li, H., Yang, Y., Hong, W., Huang, M., Wu, M., & Zhao, X. (2020). Applications of genome editing technology in the targeted therapy of human diseases: mechanisms, advances and prospects. *Signal transduction and targeted therapy*, 5(1), 1.
- Li, Y., & Zhao, D. (2013). Basics of molecular biology. In *Molecular Imaging: Fundamentals and Applications* (pp. 541-601). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Lone, M. A. (2025). Restriction Enzymes and Vectors. *Molecular Genetics, Structures, Mechanisms, and Functions: Volume 1: Principles of Gene Manipulation and Genomics*, 101.
- Malcata, F. X. (2025). Cell Genetics. In *Fundamentals of Biocatalysts: Cell Structure and Function* (pp. 87-138). Cham: Springer Nature Switzerland.
- Murtadlo, A. A. A. (2018). *Evolusi Molekuler dan biogeografi pisang raja di pulau jawa berdasarkan Gen rbcl (large subunit ribulose 1, 5 biphospat carboxylase/oxygenase)* (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).
- Parasuraman, S., Kumar, L. N. D., Thanapakiam, G., Sayem, A. S. M., Chuah, J. J., & Venkateskumar, K. (2024). Biopharmaceutical Production by Recombinant DNA Technology: Future Perspectives. In *Microbial Products for Health and Nutrition* (pp. 285-303). Singapore: Springer Nature Singapore.

- Raik, S., & Bhattacharyya, S. (2025). From 2D to 3D and Cellular to Cell-Free: Evolutions in Strategies for Regenerative Medicine. In *Handbook of Regenerative Medicine* (pp. 294-309). CRC Press.
- Rim, J. (2024). The Garden of HeLa Cells: Bridging Biomedical Advancements, Unveiling Racial Disparities, and Confronting Ethical Frontiers.
- Roesch, E. A., & Drumm, M. L. (2017). Powerful tools for genetic modification: Advances in gene editing. *Pediatric Pulmonology*, 52(S48), S15-S20.
- Rojanasakul, Y. (1999). Basic Elements of Molecular Biology. In: Wu-Pong, S., Rojanasakul, Y. (eds) *Biopharmaceutical Drug Design and Development*. Humana Press, Totowa, NJ. https://doi.org/10.1007/978-1-59259-705-5_2.
- Setyowati, T. (2023). Menelisik Kompromi Teologis dan Etis atas Polemik Penelitian dan Terapi Stem Cell Embrionik. *Aradha: Journal of Divinity, Peace and Conflict Studies*, 3(3), 253-273.
- Smolarczyk, T., Roterman-Konieczna, I., & Stapor, K. (2020). Protein secondary structure prediction: a review of progress and directions. *Current Bioinformatics*, 15(2), 90-107.
- Sugandhi, V., Gadhawe, D. G., V Khot, S., Jadhav, K., Patel, D., Thapa, R., & Jain, S. (2025). Exploring natural components in vaccine delivery systems: Types, routes of administration, in-vitro and in-vivo quantification techniques. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 108.
- Thiel, D. (2021). A CRISPR View of Human Genome Editing in the 21st century (Doctoral dissertation).
- Wangiyana, I. G. A. S. (2022). Aplikasi BLAST NCBI dalam pencarian type reference sekuen rbcL *Gyrinops versteegii*. *Jurnal Sangkareang Mataram*, 9(1), 19-24.
- Wu, Y., Gao, S., Liu, G., Wang, M., Tan, R., Huang, B., & Tan, W. (2025). Development of viral infectious clones and their applications based on yeast and bacterial artificial chromosome platforms. *Molecular Biomedicine*, 6(1), 1-27.

Yee, L. C. (2018). *Identification of Alzheimer Disease-Associated Pathways and Network Using Transcriptome Analysis* (Master's thesis, University of Malaya (Malaysia)).

BAB

2

MANFAAT DAN DAMPAK BIOTEKNOLOGI MODERN

apt. Fadillah Maryam Bau Agiel, S.Farm., M.Si.

A. Pendahuluan

Bioteknologi modern merupakan cabang ilmu yang memanfaatkan organisme hidup, sel, dan molekul biologis untuk menghasilkan produk dan teknologi yang bermanfaat bagi kehidupan manusia. Berbeda dengan bioteknologi tradisional yang hanya menggunakan proses alami seperti fermentasi pada pembuatan tempe, tape, atau yoghurt, bioteknologi modern sudah menggunakan rekayasa genetika, DNA rekombinan, kloning, dan teknologi sel punca (stem cell). Melalui kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi, manusia kini mampu mengubah atau memodifikasi materi genetik suatu makhluk hidup untuk mendapatkan sifat baru yang lebih unggul dan sesuai kebutuhan.

Perkembangan bioteknologi modern membawa dampak besar dalam berbagai bidang kehidupan, seperti pertanian, peternakan, kesehatan, industri, dan lingkungan. Misalnya, di bidang pertanian, bioteknologi membantu menciptakan tanaman transgenik yang tahan hama dan memiliki kandungan gizi tinggi. Dalam bidang kesehatan, bioteknologi digunakan untuk memproduksi obat-obatan, vaksin, dan terapi gen yang mampu mengobati penyakit genetik. Di sisi lain, teknologi ini juga membantu mengatasi pencemaran lingkungan melalui bioremediasi serta mengembangkan sumber energi terbarukan seperti bioetanol dan biogas. Namun, di balik berbagai

manfaatnya, bioteknologi modern juga menimbulkan tantangan dan risiko, seperti masalah etika, dampak terhadap lingkungan, serta ketimpangan ekonomi akibat penguasaan teknologi oleh pihak tertentu. Oleh karena itu, penerapan bioteknologi modern harus disertai pengawasan, regulasi, dan tanggung jawab moral agar hasilnya dapat memberikan manfaat maksimal bagi umat manusia tanpa merusak keseimbangan alam.

Bioteknologi modern memiliki peranan penting dalam bidang kesehatan karena mampu membantu manusia dalam mencegah, mendeteksi, dan mengobati berbagai penyakit dengan cara yang lebih efisien. Melalui rekayasa genetika, ilmuwan dapat memproduksi berbagai obat dan vaksin secara massal dan aman, seperti insulin rekombinan untuk penderita diabetes, hormon pertumbuhan manusia, serta vaksin hepatitis B dan vaksin mRNA untuk COVID-19. Selain itu, bioteknologi juga memungkinkan diterapkannya terapi gen, yaitu teknik memperbaiki gen yang rusak penyebab penyakit genetik seperti hemofilia, talasemia, dan kanker. Dalam hal diagnosis, teknologi seperti PCR dan tes DNA membantu mendeteksi penyakit dengan cepat dan akurat, bahkan sebelum gejala muncul.

Kemajuan bioteknologi juga memungkinkan pengembangan jaringan dan organ buatan melalui kloning terapeutik serta pemanfaatan sel punca (stem cell) untuk menggantikan jaringan tubuh yang rusak. Hal ini membuka peluang besar bagi transplantasi organ tanpa risiko penolakan tubuh. Selain itu, bioteknologi digunakan untuk membuat alat dan bahan diagnostik seperti antibodi monoklonal, rapid test, dan biosensor yang membantu dokter mendiagnosis penyakit dengan lebih akurat. Dalam pengobatan kanker, teknologi seperti terapi sel CAR-T dan produksi antibodi monoklonal memungkinkan perawatan yang lebih efektif dan minim efek samping dibandingkan kemoterapi konvensional. Secara keseluruhan, bioteknologi modern membawa dampak positif yang besar dalam dunia medis. Teknologi ini tidak hanya meningkatkan kualitas dan efektivitas pengobatan, tetapi juga membuka jalan bagi pengembangan terapi genetik dan

regeneratif di masa depan. Dengan pengawasan dan etika yang tepat, bioteknologi berpotensi menciptakan masa depan kesehatan yang lebih baik, aman, dan berkelanjutan bagi manusia.

B. Manfaat Bioteknologi pada Kehidupan Manusia

Bioteknologi memberikan banyak manfaat besar bagi kehidupan manusia karena penerapannya mencakup berbagai bidang penting seperti pertanian, peternakan, kesehatan, industri, dan lingkungan. Dalam bidang pertanian, bioteknologi membantu menciptakan tanaman unggul yang tahan terhadap hama, penyakit, dan kondisi lingkungan ekstrem, sehingga hasil panen meningkat dan kualitas pangan menjadi lebih baik. Contohnya adalah padi emas yang mengandung vitamin A tinggi dan jagung Bt yang tahan serangan ulat hama. Selain itu, bioteknologi juga mengurangi ketergantungan pada pestisida dan pupuk kimia, sehingga lebih ramah lingkungan.

Dalam bidang peternakan, bioteknologi digunakan untuk menghasilkan hewan ternak unggul melalui rekayasa genetik dan kloning. Hewan hasil bioteknologi memiliki pertumbuhan lebih cepat, menghasilkan daging dan susu dengan kualitas gizi yang lebih baik, serta lebih tahan terhadap penyakit. Di bidang kesehatan, manfaat bioteknologi sangat besar, misalnya dalam pembuatan obat-obatan dan vaksin seperti insulin rekombinan, hormon pertumbuhan manusia, serta vaksin mRNA untuk COVID-19. Selain itu, bioteknologi juga digunakan dalam terapi gen untuk mengobati penyakit keturunan, serta membantu diagnosis penyakit dengan cepat dan akurat melalui tes DNA dan PCR.

Dalam bidang industri dan lingkungan, bioteknologi berperan dalam menghasilkan produk ramah lingkungan, seperti enzim untuk industri makanan dan deterjen, serta mikroorganisme untuk bioremediasi, yaitu pembersihan limbah dan polusi. Bioteknologi juga mendukung pengembangan energi terbarukan seperti bioetanol dan biogas yang dapat mengurangi ketergantungan terhadap bahan bakar fosil.

Secara keseluruhan, bioteknologi memberikan manfaat besar bagi kehidupan manusia karena mampu meningkatkan kualitas hidup, menjaga kesehatan, memperbaiki hasil pangan, dan melestarikan lingkungan. Dengan penerapan yang bijak dan bertanggung jawab, bioteknologi dapat menjadi salah satu solusi penting untuk menghadapi tantangan global di masa depan.

1. Manfaat Bioteknologi di Bidang Pertanian

Bioteknologi memberikan dampak besar dalam bidang pertanian dengan membantu menciptakan tanaman unggul melalui rekayasa genetika. Tanaman hasil bioteknologi, seperti jagung Bt dan padi emas, memiliki sifat tahan terhadap hama, penyakit, serta kondisi lingkungan ekstrem seperti kekeringan atau tanah asin. Selain itu, bioteknologi juga dapat meningkatkan hasil panen dan memperkaya kandungan gizi pada tanaman, misalnya dengan menambahkan gen tertentu yang menghasilkan vitamin atau mineral lebih tinggi. Dengan demikian, bioteknologi tidak hanya membantu meningkatkan produktivitas pertanian, tetapi juga mendukung ketahanan pangan dunia.

2. Manfaat Bioteknologi di Bidang Peternakan

Dalam bidang peternakan, bioteknologi digunakan untuk menghasilkan hewan ternak unggul melalui teknik kloning, inseminasi buatan, dan rekayasa genetik. Hewan yang dihasilkan biasanya memiliki pertumbuhan lebih cepat, daging lebih berkualitas, serta lebih tahan terhadap penyakit. Selain itu, bioteknologi juga berperan dalam pembuatan vaksin dan hormon pertumbuhan hewan yang dapat meningkatkan produktivitas dan menjaga kesehatan ternak. Contohnya, sapi hasil bioteknologi dapat menghasilkan susu dengan kadar protein yang lebih tinggi, sedangkan ayam hasil seleksi genetik mampu bertelur lebih banyak dalam waktu singkat.

3. Manfaat Bioteknologi di Bidang Kesehatan

Salah satu bidang yang paling banyak merasakan manfaat bioteknologi adalah bidang kesehatan. Melalui teknologi DNA rekombinan, ilmuwan dapat menghasilkan

obat-obatan dan vaksin secara massal dengan cara yang aman dan efisien. Contohnya adalah produksi insulin untuk penderita diabetes, hormon pertumbuhan manusia (HGH), dan vaksin mRNA untuk mencegah penyakit menular seperti COVID-19. Selain itu, bioteknologi juga membuka jalan bagi terapi gen, yaitu pengobatan yang memperbaiki gen rusak penyebab penyakit genetik. Teknologi PCR dan tes DNA juga sangat membantu dalam diagnosis dini penyakit dengan hasil yang cepat dan akurat.

4. Manfaat Bioteknologi di Bidang Industri

Bioteknologi juga memberikan manfaat besar dalam bidang industri, terutama dalam produksi enzim, bahan kimia, dan makanan fermentasi. Mikroorganisme hasil bioteknologi dapat digunakan untuk memproduksi enzim yang bermanfaat bagi industri makanan, minuman, dan deterjen. Misalnya, enzim amilase dan protease digunakan untuk mempercepat proses produksi makanan dan minuman. Selain itu, bioteknologi juga digunakan dalam proses fermentasi modern untuk menghasilkan produk seperti yoghurt, keju, dan antibiotik. Dengan cara ini, industri dapat menghasilkan produk berkualitas tinggi dengan proses yang lebih efisien dan ramah lingkungan.

5. Manfaat Bioteknologi di Bidang Lingkungan

Dalam bidang lingkungan, bioteknologi berperan penting dalam menjaga kelestarian alam dan mengatasi pencemaran. Salah satu penerapannya adalah bioremediasi, yaitu penggunaan mikroorganisme untuk menguraikan limbah berbahaya, seperti tumpahan minyak atau logam berat di tanah dan air. Selain itu, bioteknologi juga digunakan dalam pengolahan limbah domestik dan industri agar tidak mencemari lingkungan. Teknologi ini juga mendukung pengembangan energi terbarukan, seperti bioetanol, biogas, dan biodiesel, yang lebih ramah lingkungan dibandingkan bahan bakar fosil.

Secara keseluruhan, bioteknologi memberikan manfaat besar bagi kehidupan manusia karena mampu membantu meningkatkan hasil pertanian dan peternakan, memperbaiki kesehatan, memajukan industri, serta melestarikan lingkungan. Dengan penerapan yang tepat dan etis, bioteknologi dapat menjadi solusi untuk berbagai permasalahan global, seperti kelaparan, penyakit, pencemaran lingkungan, dan krisis energi. Oleh karena itu, perkembangan bioteknologi perlu terus didukung agar dapat dimanfaatkan secara bijak untuk kesejahteraan umat manusia dan keberlanjutan bumi di masa depan.

C. Dampak Bioteknologi Modern

Bioteknologi modern adalah cabang ilmu yang memanfaatkan organisme hidup, sel, dan molekul genetik (DNA) untuk menghasilkan produk dan teknologi yang berguna bagi manusia. Dengan bantuan rekayasa genetika, kultur jaringan, dan teknologi DNA rekombinan, manusia kini dapat memodifikasi sifat makhluk hidup agar memiliki kemampuan baru yang lebih menguntungkan. Penerapan bioteknologi modern telah memberikan berbagai dampak positif dan negatif dalam kehidupan manusia di berbagai bidang, seperti kesehatan, pertanian, peternakan, industri, dan lingkungan.

1. Dampak Positif dalam Bidang Pertanian

Dalam bidang pertanian, bioteknologi modern memberikan banyak manfaat. Teknologi ini memungkinkan para ilmuwan menciptakan tanaman transgenik, yaitu tanaman yang telah dimodifikasi secara genetik agar memiliki sifat unggul. Misalnya, jagung Bt tahan terhadap serangan hama, padi emas (Golden Rice) mengandung vitamin A tinggi untuk mencegah kekurangan gizi, dan kedelai transgenik yang tahan herbisida. Dengan adanya tanaman semacam ini, petani dapat memperoleh hasil panen yang lebih tinggi dan stabil, bahkan di daerah dengan kondisi lingkungan yang kurang mendukung. Selain itu, bioteknologi membantu mengurangi penggunaan pestisida

dan pupuk kimia, sehingga lebih ramah terhadap lingkungan.

Manfaat lainnya adalah peningkatan mutu dan kandungan gizi tanaman pangan, yang membantu mengatasi masalah kekurangan nutrisi di negara berkembang. Dengan demikian, bioteknologi modern berperan besar dalam mewujudkan ketahanan pangan global dan mengurangi ancaman kelaparan dunia.

2. Dampak Positif dalam Bidang Peternakan

Bioteknologi modern juga berdampak positif dalam bidang peternakan. Melalui teknik rekayasa genetik dan kloning, para ilmuwan dapat menghasilkan hewan ternak unggul yang lebih tahan penyakit, cepat tumbuh, dan menghasilkan susu atau daging dengan kualitas lebih baik. Misalnya, sapi hasil rekayasa genetik dapat menghasilkan susu yang kaya protein atau rendah lemak, sedangkan ayam transgenik mampu menghasilkan telur dengan kandungan gizi yang lebih tinggi.

Selain itu, bioteknologi juga digunakan untuk mengembangkan vaksin hewan dan hormon pertumbuhan yang dapat meningkatkan produktivitas peternakan. Hal ini membuat hasil produksi ternak menjadi lebih efisien, berkualitas, dan aman untuk dikonsumsi manusia.

3. Dampak Positif dalam Bidang Kesehatan

Bidang kesehatan merupakan salah satu sektor yang paling banyak memperoleh manfaat dari bioteknologi modern. Melalui teknologi DNA rekombinan, ilmuwan dapat memproduksi obat-obatan dan vaksin secara aman, cepat, dan dalam jumlah besar. Contohnya adalah insulin rekombinan untuk penderita diabetes, hormon pertumbuhan manusia (HGH), serta berbagai vaksin modern seperti vaksin hepatitis B dan vaksin mRNA COVID-19.

Selain itu, bioteknologi juga mendukung terapi gen, yaitu metode pengobatan yang memperbaiki gen rusak penyebab penyakit genetik seperti hemofilia atau talasemia. Dalam diagnosis medis, teknologi seperti PCR (Polymerase

Chain Reaction) dan tes DNA membantu mendeteksi penyakit secara cepat dan akurat. Manfaat lainnya adalah pengembangan organ buatan dan jaringan tubuh melalui teknologi sel punca (stem cell), yang sangat membantu dalam transplantasi dan pengobatan pasien dengan kerusakan organ berat. Semua inovasi ini menjadikan dunia kedokteran semakin maju dan efisien dalam menyelamatkan nyawa manusia.

4. Dampak Positif dalam Bidang Industri

Dalam bidang industri, bioteknologi modern digunakan untuk meningkatkan efisiensi produksi dan menghasilkan produk ramah lingkungan. Mikroorganisme hasil rekayasa genetika digunakan untuk memproduksi enzim industri yang membantu proses pembuatan makanan, minuman, obat, dan deterjen. Misalnya, enzim amilase digunakan dalam industri roti dan bir, sedangkan enzim lipase digunakan dalam pembuatan sabun dan bahan kimia.

Selain itu, bioteknologi juga digunakan dalam proses fermentasi modern untuk menghasilkan produk seperti yoghurt, keju, alkohol, dan antibiotik. Dengan teknologi ini, industri dapat menghemat waktu dan biaya produksi, sekaligus menghasilkan produk dengan kualitas lebih tinggi.

5. Dampak Positif dalam Bidang Lingkungan

Bioteknologi modern turut memberikan solusi bagi permasalahan lingkungan. Salah satu penerapannya adalah bioremediasi, yaitu penggunaan mikroorganisme untuk membersihkan limbah berbahaya seperti minyak, pestisida, dan logam berat dari tanah maupun air. Teknologi ini membantu menjaga kebersihan dan keseimbangan ekosistem tanpa merusak lingkungan.

Selain itu, bioteknologi juga berperan penting dalam pengembangan energi terbarukan seperti bioetanol, biogas, dan biodiesel yang dihasilkan dari bahan hayati. Energi ini lebih ramah lingkungan dibanding bahan bakar fosil karena menghasilkan emisi karbon yang lebih rendah. Dengan demikian, bioteknologi berkontribusi besar dalam upaya

mengurangi dampak perubahan iklim dan menjaga keberlanjutan sumber daya alam.

Secara keseluruhan, bioteknologi modern memberikan dampak positif yang sangat besar bagi kehidupan manusia. Teknologi ini membantu meningkatkan hasil pertanian dan peternakan, memperbaiki kesehatan, memajukan industri, serta melestarikan lingkungan. Melalui penerapan yang bijak dan pengawasan yang baik, bioteknologi modern dapat menjadi solusi untuk menghadapi berbagai tantangan global seperti kekurangan pangan, penyakit menular, pencemaran lingkungan, dan krisis energi. Dengan demikian, bioteknologi merupakan salah satu inovasi ilmiah yang berperan penting dalam menciptakan kehidupan manusia yang lebih sehat, produktif, dan berkelanjutan.

Meskipun bioteknologi modern membawa banyak manfaat bagi kehidupan manusia, seperti peningkatan hasil pertanian, kemajuan medis, dan solusi lingkungan, penerapan teknologi ini juga menimbulkan berbagai dampak negatif. Dampak tersebut muncul akibat penggunaan teknologi yang melibatkan manipulasi gen, organisme hidup, serta bahan kimia yang berpotensi menimbulkan efek samping terhadap lingkungan dan kesehatan. Oleh karena itu, penting bagi manusia untuk memahami dampak negatif bioteknologi modern agar dapat menggunakannya secara bijak dan bertanggung jawab.

1. Dampak Negatif di Bidang Pertanian

Dalam bidang pertanian, penggunaan tanaman transgenik atau hasil rekayasa genetika dapat menimbulkan beberapa masalah. Salah satu dampaknya adalah berkurangnya keanekaragaman hayati. Ketika petani hanya menanam satu jenis tanaman hasil bioteknologi secara massal, maka tanaman lokal tradisional dapat punah karena kalah saing.

Selain itu, tanaman transgenik dapat menyebabkan munculnya hama super (super pest) yang kebal terhadap pestisida. Hal ini terjadi karena hama beradaptasi dengan

racun alami dari tanaman transgenik seperti jagung Bt. Penggunaan pestisida berlebihan untuk mengatasi hama baru tersebut akhirnya dapat merusak tanah dan mencemari lingkungan.

Tak hanya itu, tanaman hasil rekayasa genetika juga berpotensi menyebabkan alergi atau gangguan kesehatan pada manusia, terutama jika gen asing yang digunakan berasal dari sumber yang dapat memicu reaksi alergi.

2. Dampak Negatif di Bidang Peternakan

Bioteknologi dalam peternakan, seperti kloning dan rekayasa genetik pada hewan, juga memiliki risiko. Hewan hasil kloning sering kali mengalami cacat genetik atau gangguan kesehatan karena proses kloning tidak selalu berhasil sempurna. Selain itu, keberhasilan kloning hewan membuka kemungkinan penyalahgunaan teknologi, misalnya untuk melakukan kloning manusia, yang menimbulkan masalah etika dan moral yang serius.

Penggunaan hormon pertumbuhan buatan untuk meningkatkan produktivitas hewan ternak juga dapat berdampak buruk bagi manusia. Sisa hormon yang terdapat dalam daging atau susu dapat mempengaruhi keseimbangan hormon tubuh manusia jika dikonsumsi dalam jangka panjang.

3. Dampak Negatif di Bidang Kesehatan

Dalam bidang kesehatan, bioteknologi memang membawa kemajuan besar, tetapi juga menyimpan risiko. Contohnya adalah terapi gen atau penggunaan DNA rekombinan yang belum sepenuhnya aman. Kesalahan dalam rekayasa genetik dapat menyebabkan mutasi gen yang berpotensi menimbulkan penyakit baru atau kanker.

Selain itu, produksi obat dan vaksin dengan mikroorganisme hasil rekayasa genetika dapat memunculkan mutasi virus atau bakteri baru yang lebih kuat dan sulit dikendalikan. Ada juga kekhawatiran bahwa teknologi seperti CRISPR-Cas9, yang digunakan untuk mengedit gen manusia, dapat disalahgunakan untuk

menciptakan "bayi desain" (designer baby), yaitu bayi dengan sifat tertentu seperti warna mata atau tingkat kecerdasan yang diatur secara buatan. Hal ini menimbulkan masalah etika, sosial, dan moral yang cukup serius.

4. Dampak Negatif di Bidang Industri

Dalam sektor industri, bioteknologi modern dapat menimbulkan masalah jika tidak dikontrol dengan baik. Proses produksi menggunakan mikroorganisme hasil rekayasa genetik bisa menyebabkan pencemaran lingkungan apabila limbahnya tidak dikelola dengan benar. Mikroorganisme tersebut bisa menyebar ke alam dan mengubah keseimbangan ekosistem alami.

Selain itu, industri bioteknologi umumnya dikuasai oleh perusahaan besar multinasional. Akibatnya, petani dan produsen kecil sering kali bergantung pada bibit, obat, atau enzim hasil paten perusahaan tersebut, yang harganya mahal. Kondisi ini dapat menyebabkan ketimpangan ekonomi antara negara maju dan negara berkembang.

5. Dampak Negatif di Bidang Lingkungan

Salah satu dampak paling serius bioteknologi modern adalah terhadap lingkungan. Organisme hasil rekayasa genetika (transgenik) yang tersebar di alam dapat mengganggu keseimbangan ekosistem. Misalnya, serbuk sari dari tanaman transgenik dapat menyebar ke tanaman liar di sekitarnya dan menyebabkan terjadinya kontaminasi genetik. Akibatnya, tanaman asli kehilangan sifat alaminya.

Selain itu, mikroorganisme hasil rekayasa yang digunakan untuk bioremediasi atau produksi energi terbarukan dapat menyebar secara tidak terkendali di alam dan mengubah komposisi mikroba alami di tanah maupun air. Hal ini dapat menimbulkan efek jangka panjang terhadap lingkungan yang sulit diperbaiki.

6. Dampak Sosial dan Etika

Selain dampak teknis, bioteknologi modern juga menimbulkan perdebatan etika dan moral. Misalnya, praktik kloning manusia atau pengubahan gen bayi (designer baby)

dianggap bertentangan dengan nilai kemanusiaan karena menghilangkan kodrat alami manusia.

Selain itu, teknologi ini juga menimbulkan masalah hak paten terhadap makhluk hidup, seperti bibit tanaman atau mikroorganisme hasil rekayasa. Hal ini menimbulkan pertanyaan moral: apakah manusia berhak memiliki atau mematenkan bentuk kehidupan?. Jika tidak diatur dengan baik, bioteknologi modern dapat memperdalam kesenjangan sosial antara negara kaya dan miskin, serta memunculkan ketidakadilan dalam distribusi hasil teknologi. Secara keseluruhan, bioteknologi modern memang membawa manfaat besar bagi kemajuan manusia, tetapi juga memiliki dampak negatif yang tidak bisa diabaikan. Dampak tersebut meliputi kerusakan lingkungan, berkurangnya keanekaragaman hayati, risiko kesehatan, ketimpangan ekonomi, serta masalah etika dan moral. Oleh karena itu, penerapan bioteknologi modern harus dilakukan dengan pengawasan ketat, regulasi yang jelas, dan prinsip etika yang kuat. Pengembangan teknologi ini sebaiknya difokuskan untuk kesejahteraan manusia dan kelestarian lingkungan, bukan semata-mata untuk keuntungan ekonomi. Dengan cara tersebut, bioteknologi dapat terus berkembang tanpa menimbulkan ancaman bagi kehidupan di masa depan.

Bioteknologi modern merupakan hasil kemajuan ilmu biologi dan teknologi yang memanfaatkan organisme hidup, sel, maupun molekul genetik untuk menghasilkan produk dan inovasi yang bermanfaat bagi kehidupan manusia. Penerapan bioteknologi telah memberikan dampak yang luas dalam berbagai bidang, seperti pertanian, peternakan, kesehatan, industri, dan lingkungan. Melalui bioteknologi, manusia dapat menciptakan tanaman dan hewan unggul, meningkatkan hasil produksi pangan, menemukan obat-obatan dan vaksin baru, serta mengembangkan sumber energi terbarukan yang lebih ramah lingkungan.

Dalam bidang pertanian, bioteknologi memungkinkan terciptanya tanaman transgenik yang lebih tahan terhadap hama dan penyakit, sehingga dapat meningkatkan produktivitas dan ketahanan pangan. Di bidang peternakan, teknologi ini membantu menghasilkan hewan dengan kualitas genetik yang lebih baik, pertumbuhan lebih cepat, dan daya tahan tubuh yang tinggi. Sementara dalam bidang kesehatan, bioteknologi telah melahirkan berbagai inovasi penting seperti vaksin, antibiotik, insulin sintetis, terapi gen, dan teknologi PCR yang sangat membantu dalam diagnosis penyakit.

Tidak hanya itu, dalam bidang industri dan lingkungan, bioteknologi modern berperan besar dalam menciptakan produk yang efisien dan ramah lingkungan, seperti bioplastik, bioetanol, biogas, serta penggunaan mikroorganisme untuk bioremediasi guna membersihkan limbah dan polusi. Semua ini menunjukkan bahwa bioteknologi berkontribusi nyata terhadap peningkatan kualitas hidup manusia dan keberlanjutan lingkungan. Namun demikian, bioteknologi modern juga memiliki sisi negatif yang perlu diwaspadai. Penyalahgunaan teknologi rekayasa genetik dapat menimbulkan masalah etika, moral, dan sosial, terutama dalam hal kloning manusia dan manipulasi genetik. Selain itu, pelepasan organisme hasil rekayasa genetika ke alam dapat mengganggu keseimbangan ekosistem dan mengurangi keanekaragaman hayati. Risiko kesehatan, seperti alergi atau efek jangka panjang dari makanan transgenik, juga masih menjadi perhatian utama. Oleh karena itu, pengembangan dan penerapan bioteknologi modern harus dilakukan dengan penuh tanggung jawab, berlandaskan etika, serta diawasi oleh kebijakan dan peraturan yang jelas. Bioteknologi hendaknya dimanfaatkan untuk kepentingan umat manusia dan kelestarian lingkungan, bukan untuk tujuan yang merugikan.

Secara keseluruhan, bioteknologi modern merupakan salah satu terobosan terbesar dalam sejarah ilmu pengetahuan yang dapat menjadi solusi penting bagi tantangan global, seperti krisis pangan, penyakit, dan kerusakan lingkungan. Dengan

penerapan yang bijak dan beretika, bioteknologi modern berpotensi membawa manusia menuju masa depan yang lebih sehat, sejahtera, dan berkelanjutan.

DAFTAR PUSTAKA

- Campbell, N. A., & Reece, J. B. (2010). *Biology* (9th ed.). San Francisco: Pearson Benjamin Cummings.
- Firdhani, R. (2021). "Kajian Etika dan Dampak Bioteknologi Modern dalam Bidang Kesehatan." *Jurnal Sains dan Teknologi*, 5(2), 45–53
- Sugiyono. (2018). *Bioteknologi: Teori dan Aplikasi*. Jakarta: Erlangga.
- Sutresna, N. (2019). *Dampak Positif dan Negatif Bioteknologi terhadap Lingkungan*. Yogyakarta: Deepublish.
- United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization (UNESCO). (2019). *Bioethics and the Impact of Biotechnology on Society*. Paris: UNESCO Press.
- Widiastuti, T. (2020). *Penerapan Bioteknologi dalam Kehidupan Sehari-hari*. Bandung: Alfabeta.
- World Health Organization (WHO). (2022). *Modern Biotechnology and Human Health*. Geneva: WHO Publications.

BAB 3

TEKNOLOGI DNA REKOMBINAN DAN REKAYASA GENETIK

Rima Agnes Widya Astuti, S.Tr.AK., M.Kes.

A. Pendahuluan

Teknologi DNA rekombinan merupakan metode ilmiah untuk menggabungkan dua atau lebih molekul DNA dari organisme yang berbeda menjadi satu molekul baru yang fungsional. Teknologi ini memungkinkan manipulasi gen untuk menciptakan organisme dengan sifat baru yang tidak ditemukan secara alami. Rekayasa genetika sendiri merupakan penerapan teknologi ini untuk memodifikasi materi genetik suatu organisme, baik untuk tujuan penelitian, pengobatan, maupun industri. Cakupannya meliputi bioteknologi medis, pertanian, hingga industri pangan (Bolsovor et al., 2004; Rautela et al., 2021). Sejarah teknologi DNA rekombinan berakar dari penemuan struktur heliks ganda DNA oleh James Watson dan Francis Crick pada tahun 1953, yang membuka jalan bagi pemahaman dasar genetika (Moens, 2003). Selanjutnya, Paul Berg pada tahun 1972 menciptakan molekul DNA hibrida pertama dengan menggabungkan DNA dari virus dan bakteri, sebuah pencapaian yang menandai kelahiran teknologi DNA rekombinan modern (Yi & Mertz, 2024). Perkembangan berikutnya, teknologi CRISPR-Cas9 yang ditemukan pada dekade 2010-an merevolusi rekayasa genetika karena kemampuannya mengedit gen dengan presisi tinggi (Fels et al., 2020). Melalui evolusi dari penemuan struktur DNA hingga era

CRISPR, teknologi DNA rekombinan terus berkembang menjadi fondasi utama dalam riset genetika dan terapi gen modern.

B. Komponen Dasar Teknologi DNA Rekombinan

Teknologi DNA rekombinan membutuhkan beberapa komponen agar proses ini berhasil. Beberapa komponen dasar yang saling mendukung, seperti DNA target atau gen yang diinginkan, enzim restriksi sebagai “gunting molekuler”, vektor pembawa seperti plasmid atau virus, serta enzim ligase yang berfungsi menyambungkan potongan DNA. Selain itu, sel inang atau organisme penerima juga menjadi elemen penting karena berperan dalam memperbanyak dan mengekspresikan gen hasil rekombinasi. Melalui sinergi dari komponen-komponen ini, para ilmuwan dapat menghasilkan produk bioteknologi seperti insulin rekombinan, tanaman transgenik, hingga terapi gen untuk pengobatan penyakit genetik. Pemahaman mendalam terhadap tiap komponen dasar tersebut menjadi fondasi utama dalam penerapan dan pengembangan teknologi DNA rekombinan secara efektif dan aman (Faustino et al., 2016).

1. DNA Target dan Gen yang Diinginkan (*Gene of Interest*)

DNA target dan gen yang diinginkan (*gene of interest*) merupakan segmen DNA spesifik yang mengkode protein atau sifat tertentu yang ingin dimanipulasi atau ditransfer ke organisme lain. Gen ini dapat berasal dari berbagai sumber, seperti organisme donor alami atau hasil sintesis gen buatan menggunakan teknologi kimia dan bioinformatika modern. Sumber gen donor biasanya dipilih berdasarkan karakteristik unggul yang ingin diperoleh, misalnya resistansi terhadap penyakit, kemampuan metabolik, atau produksi protein tertentu. Pada prosesnya, isolasi DNA target dilakukan menggunakan teknik seperti ekstraksi fenol-kloroform, kit berbasis silika, atau metode magnetik yang efisien untuk mendapatkan DNA murni dengan kualitas tinggi. Setelah DNA diisolasi, tahap pemurnian dilakukan untuk menghilangkan kontaminan seperti protein dan RNA agar gen dapat digunakan dalam proses kloning atau amplifikasi.

Teknologi baru juga memungkinkan isolasi DNA spesifik menggunakan nanopartikel atau mikrosistem otomatis, yang meningkatkan efisiensi dan reproduktibilitas hasil. Melalui kombinasi sumber gen alami dan sintetik serta metode isolasi modern, penelitian genetik menjadi lebih cepat, akurat, dan fleksibel dalam berbagai bidang bioteknologi (Fujita & Fujii, 2019; Xu et al., 2021).

2. Enzim yang Penting dalam Teknologi DNA Rekombinan

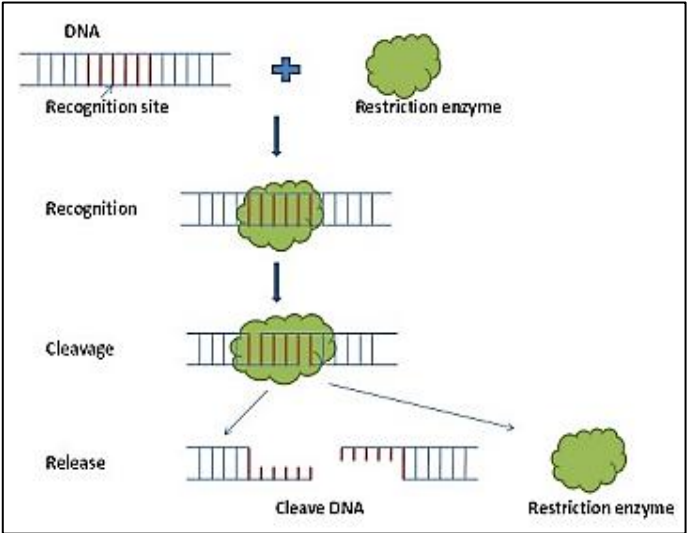
a. Enzim Restriksi Endonuklease

Enzim restriksi endonuklease berfungsi untuk mengenali dan memotong DNA pada urutan spesifik yang disebut *recognition site*, menghasilkan fragmen DNA yang dapat digunakan untuk kloning gen, analisis DNA, dan rekayasa genetika. Terdapat dua jenis potongan yang dihasilkan oleh enzim ini, yaitu *sticky ends* yang memiliki ujung tunggal saling melengkapi dan *blunt ends* dengan potongan lurus tanpa ujung tunggal. Contoh enzim restriksi yang umum digunakan adalah **EcoRI**, yang menghasilkan *sticky ends*, dan **HindIII**, yang juga menghasilkan ujung kohesif, sedangkan **EcoRV** menghasilkan *blunt ends* (Ali et al., 2025; Hazarika et al., 2024). Penelitian terbaru juga menunjukkan adanya tipe baru seperti **Sau3AI**, yang memotong urutan GATC dengan menghasilkan *sticky ends* dan menunjukkan mekanisme aktivasi diri (Liu et al., 2023). Berikut beberapa enzim restriksi :

Tabel 3.1 Enzim Restriksi

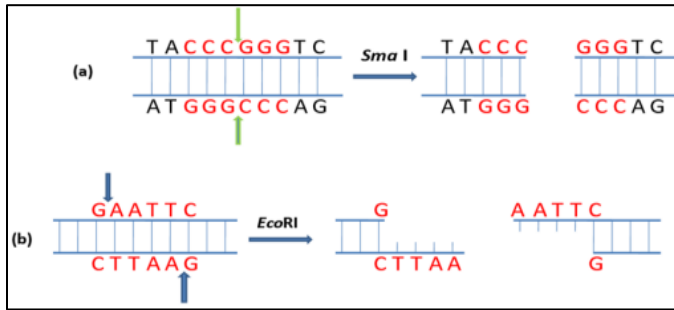
Enzyme Name	Type	Recognition Sequence	Origin of Isolation
EcoRV	Blunt Cutter	5'-GATATC-3'	<i>E. coli</i>
SmaI	Blunt Cutter	5'-CCCGGG-3'	<i>Serratia marcescens</i>
EcoRI	Sticky End Producer	5'-GAATTC-3'	<i>E. coli</i>
BamHI	Sticky End Producer	5'-GGATCC-3'	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
AluI	Blunt Cutter	5'-AGCT-3'	<i>Arthrobacter luteus</i>
Asel	Blunt Cutter	5'-ATTAAT-3'	<i>Arthrobacter species</i>
PvuII	Blunt Cutter	5'-CAGCTG-3'	<i>Proteus vulgaris</i>
DraI	Blunt Cutter	5'-TTTAAA-3'	<i>Deinococcus radiodurans</i>
EcoRV	Blunt Cutter	5'-GATATC-3'	<i>E. coli</i>
SmaI	Blunt Cutter	5'-CCCGGG-3'	<i>Serratia marcescens</i>
EcoRI	Sticky End Producer	5'-GAATTC-3'	<i>E. coli</i>
BamHI	Sticky End Producer	5'-GGATCC-3'	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
HindIII	Sticky End Producer	5'-AAGCTT-3'	<i>Haemophilus influenzae</i>
XhoI	Sticky End Producer	5'-CTCGAG-3'	<i>Xanthomonas homology</i>

(Hazarika et al., 2024)



Gambar 3.1 Kerja Enzim Restriksi

(Hazarika et al., 2024)



Gambar 3.2 Enzim Restriksi yang menghasilkan
(a) blunt ends (b) sticky ends
(Hazarika et al., 2024)

b. DNA Ligase

DNA ligase adalah enzim yang berperan penting dalam penyambungan fragmen DNA, baik dengan *sticky ends* maupun *blunt ends*. Enzim ini bekerja dengan membentuk ikatan fosfodiester antara ujung 3'-OH dan 5'-fosfat dari dua fragmen DNA. DNA ligase digunakan dalam berbagai aplikasi bioteknologi, termasuk konstruksi plasmid rekombinan dan perakitan gen sintetis. Penelitian modern berfokus pada peningkatan efisiensi ligase untuk penyambungan *blunt ends*, yang secara alami lebih sulit dibanding *sticky ends*. Melalui teknik seleksi berbasis *self-replication*, telah dikembangkan DNA ligase yang memiliki efisiensi tinggi untuk ligasi *blunt ends*. Kombinasi ligase dengan enzim restriksi juga menjadi dasar bagi teknologi pengeditan gen modern seperti *Ligation-Assisted Homologous Recombination (LAHR)* (Lodish et al., 2021).

c. DNA Polimerase

DNA polimerase adalah enzim utama dalam sintesis DNA, baik secara alami dalam replikasi maupun secara buatan dalam reaksi *Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Pada PCR, DNA polimerase seperti **Taq polymerase** digunakan untuk memperbanyak segmen DNA secara *in vitro* melalui siklus denaturasi,

penempelan primer, dan perpanjangan rantai. Inovasi terbaru *memungkinkan* desain primer PCR dengan modifikasi kimiawi untuk menghasilkan ujung *sticky ends* fleksibel, meningkatkan efisiensi konstruksi DNA panjang dan rekombinan. Selain itu, metode *blunt-end cloning* juga memanfaatkan kemampuan DNA polimerase untuk memperbaiki ujung DNA sebelum proses ligasi (Nomura et al., 2024)

d. *Reverse Transcriptase*

Reverse transcriptase merupakan enzim yang mengubah RNA menjadi DNA komplementer (cDNA), yang menjadi dasar dalam pembuatan pustaka cDNA dan analisis ekspresi gen. Enzim ini bekerja dengan menggunakan mRNA sebagai cetakan, kemudian mensintesis untai DNA yang bersesuaian, memungkinkan peneliti untuk mengkaji gen yang sedang diekspresikan dalam suatu sel atau jaringan. Teknologi berbasis reverse transcriptase, seperti *RT-PCR* dan *RNA-seq*, sangat penting dalam studi virologi dan diagnostik molekuler, terutama dalam deteksi virus RNA. Selain itu, kombinasi reverse transcriptase dengan DNA polimerase digunakan dalam kloning gen berbasis cDNA untuk analisis ekspresi gen rekombinan. Penelitian terkini terus mengembangkan varian reverse transcriptase dengan fidelitas tinggi untuk menghasilkan cDNA berkualitas baik, meningkatkan akurasi dalam analisis transkriptom (Hazarika et al., 2024).

3. Vektor Kloning

Vektor kloning merupakan komponen penting dalam rekayasa genetika yang berfungsi membawa dan mereplikasi gen target di dalam sel inang. Plasmid seperti **pBR322** dan **pUC19** masih menjadi vektor yang paling umum digunakan karena memiliki ukuran kecil, mudah dimanipulasi, dan dilengkapi dengan fitur seperti *origin of replication (ori)*, *multiple cloning site (MCS)*, serta *marker seleksi* seperti gen resistensi antibiotik. Selain plasmid, vektor lain seperti

bakteriofag λ , kosmid, BAC (*Bacterial Artificial Chromosome*), dan YAC (*Yeast Artificial Chromosome*) digunakan untuk kloning fragmen DNA berukuran lebih besar. Perkembangan terbaru menunjukkan inovasi plasmid mini seperti **pUdOs**, yang menggabungkan berbagai *ori* dan *selection marker* untuk fleksibilitas tinggi pada bakteri dan sel mamalia (Manigat et al., 2024). Pada konteks fungsinya, **vektor kloning** digunakan untuk memperbanyak DNA, sedangkan **vektor ekspresi** berperan dalam produksi protein dari gen tersebut. Sifat ideal vektor meliputi keberadaan *ori* yang efisien untuk replikasi, MCS yang memungkinkan penyisipan gen dengan berbagai enzim restriksi, serta *marker seleksi* yang membantu identifikasi koloni rekombinan (Bose, 2022; Rouches et al., 2021).

4. Inang (*Host Cell*)

Pemilihan sel inang (*host cell*) merupakan aspek penting dalam teknologi DNA rekombinan karena menentukan keberhasilan ekspresi gen dan produksi protein target. *Escherichia coli* masih menjadi sistem model paling umum digunakan karena pertumbuhannya cepat, manipulasi genetiknya mudah, serta biayanya rendah. Namun, untuk protein yang memerlukan modifikasi pascatranslasi kompleks, **sel eukariotik** seperti *yeast* (misalnya *Pichia pastoris*) dan **CHO** (*Chinese Hamster Ovary*) **sel** lebih sering digunakan karena kemampuannya dalam glikosilasi dan liposilasi yang menyerupai sistem mamalia. Selain itu, **tanaman transgenik** seperti *Nicotiana benthamiana* kini dimanfaatkan sebagai bioreaktor alami untuk produksi vaksin dan antibodi monoklonal. Pada pemilihan inang, beberapa faktor yang harus dipertimbangkan mencakup kompatibilitas antara vektor dan inang, efisiensi ekspresi gen, kestabilan plasmid, serta kemudahan skala produksi. Selain itu, keamanan biologis dan etika juga menjadi pertimbangan penting dalam memilih sistem inang untuk aplikasi bioteknologi medis dan pertanian modern (Bernhard et al., 2023; Pouresmaeil & Azizi, 2023).

C. Tahapan dalam Teknologi DNA Rekombinan

Tahapan dalam teknologi DNA rekombinan melibatkan beberapa langkah utama. Seperti isolasi gen target, pemotongan DNA menggunakan enzim restriksi, penyambungan fragmen DNA dengan enzim ligase, serta introduksi ke dalam sel inang untuk replikasi dan ekspresi gen. Setiap tahapan harus dilakukan dengan presisi tinggi untuk memastikan keberhasilan rekombinasi dan ekspresi gen secara stabil dalam sistem inang (Lodish et al., 2021).

1. Isolasi DNA dan Gen Target

Isolasi DNA merupakan langkah awal penting dalam analisis genetik yang bertujuan memperoleh DNA murni dari sel atau jaringan. Metode ekstraksi DNA saat ini banyak dikembangkan agar menghasilkan DNA berkualitas tinggi dan bebas dari inhibitor amplifikasi. Salah satu teknik efektif untuk mengekstrak DNA dari lingkungan kompleks adalah metode berbasis lisis langsung dan pemurnian dengan larutan pengendap seperti ammonium asetat, yang memungkinkan DNA siap digunakan untuk amplifikasi PCR tanpa kontaminasi signifikan. Selain itu, teknik clamping PCR dengan *Locked Nucleic Acid* (LNA) juga telah digunakan untuk menghindari amplifikasi gen non-target, seperti gen organel tanaman, sehingga memungkinkan amplifikasi selektif terhadap gen bakteri dari DNA hasil ekstraksi. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) sendiri berfungsi memperbanyak fragmen DNA spesifik menggunakan pasangan primer yang sesuai, misalnya primer 16S rRNA yang banyak digunakan untuk identifikasi bakteri. Efektivitas PCR sangat bergantung pada kemurnian DNA, primer yang tepat, dan kondisi termal yang optimal (Ikenaga & Sakai, 2014).

2. Pemotongan DNA dengan Enzim Restriksi

Enzim restriksi bekerja dengan mengenali sekuens DNA spesifik biasanya palindromik dan panjangnya antara 4 hingga 8 basa kemudian menempel pada lokasi tersebut dan memotong ikatan fosfodiester pada salah satu atau kedua

untai DNA, sehingga menghasilkan fragmen DNA dengan ujung-tertentu. Setelah pengenalan dan pengikatan yang sangat spesifik, enzim akan memotong DNA dan dapat menghasilkan dua jenis ujung yaitu *sticky ends* yang memiliki overhang satu untai tunggal di ujung fragmen, atau *blunt ends* yang tidak memiliki overhang sama sekali. *Sticky ends* sangat berguna dalam kloning karena memungkinkan annealing antara fragmen DNA donor dan vektor melalui pasangan basa yang saling komplemen sebelum diligasikan, sedangkan *blunt ends* lebih fleksibel dari segi pilihan vektor tetapi memiliki efisiensi ligasi yang lebih rendah. Proses pengenalan sekuens mencakup tidak hanya kontak langsung antara residu enzim dan basa DNA, tetapi juga interaksi dengan *backbone* gula-fosfat serta perubahan konformasi DNA seperti pembengkokan untuk memungkinkan pemotongan yang tepat. Sebagai contoh, enzim seperti EcoRV mengenali sekuens 5'-GAT/ATC-3' dan memotong menghasilkan *blunt ends*, sedangkan enzim seperti EcoRI mengenali 5'-GAATTC-3' dan menghasilkan overhang 5'-AATT-3'. Sehingga, pemilihan jenis enzim restriksi yang tepat sangat penting dalam langkah DNA rekombinan atau kloning karena menentukan kompatibilitas antara fragmen DNA dan vektor serta efisiensi ligasi yang akan diikuti (Alekseeva & Kuznetsov, 2023; X. Zhang et al., 2025).

3. Penyisipan DNA ke dalam Vektor

Penyisipan DNA ke dalam vektor merupakan tahap penting dalam rekayasa genetika yang memungkinkan pembentukan DNA rekombinan untuk berbagai aplikasi bioteknologi. Proses ini umumnya melibatkan ligasi DNA target ke dalam plasmid vektor menggunakan enzim DNA ligase, yang menghubungkan ujung-ujung DNA secara kovalen untuk menghasilkan molekul stabil (Su et al., 2022). Berbagai metode modern telah dikembangkan untuk meningkatkan efisiensi ligasi, seperti penggunaan enzim ligase termostabil atau sistem *seamless cloning* yang menghindari kebutuhan enzim restriksi (Zhao et al., 2021).

Setelah ligasi, molekul DNA rekombinan akan diperbanyak di dalam sel inang, biasanya *Escherichia coli*, yang kemudian mengekspresikan gen target sesuai dengan elemen regulator pada vektor (Liu et al., 2023). Teknik seperti *Golden Gate Assembly* dan *Gibson Assembly* juga semakin banyak digunakan karena efisien dalam merakit banyak fragmen DNA secara simultan dengan akurasi tinggi. Proses ini menghasilkan molekul DNA rekombinan yang siap digunakan untuk berbagai keperluan, mulai dari produksi protein rekombinan hingga pengembangan vaksin berbasis gen (Blanch-asensio et al., 2023).

4. Transformasi ke Sel Inang

Pada proses transformasi ke sel inang, berbagai metode fisik dan kimia digunakan untuk memperkenalkan DNA asing ke dalam sel penerima, seperti metode *heat shock*, *elektroporasi*, *mikroinjeksi*, dan *lipofeksi*. Metode *heat shock* misalnya banyak digunakan pada bakteri seperti dalam protokol dengan sel kompeten yang diperlakukan secara kimia lalu diberi lonjakan panas untuk meningkatkan permeabilitas membran. Elektroporasi melibatkan penggunaan denyut listrik bertegangan tinggi yang menciptakan pori sementara pada membran sel untuk memungkinkan masuknya DNA. Sel eukariotik atau sel mamalia, metode seperti lipofeksi (menggunakan lipid kationik) dan mikroinjeksi (introduksi langsung melalui jarum) juga banyak digunakan karena lebih cocok untuk jenis sel yang sulit dimodifikasi. Setelah DNA asing berhasil masuk dan sel diberi waktu untuk pemulihan (*recovery*), seleksi dilakukan menggunakan marker resistensi antibiotik yang telah disisipkan dalam plasmid atau vektor, hanya sel-sel yang berhasil mengintegrasikan atau mempertahankan vektor akan tumbuh pada medium yang mengandung antibiotik (Blanch-asensio et al., 2023).

5. Identifikasi dan Karakterisasi Klon Rekombinan

Identifikasi dan karakterisasi klon rekombinan merupakan langkah krusial dalam rekayasa genetika untuk memastikan bahwa sisipan gen target telah berhasil dan terdeteksi secara akurat. Metode PCR koloni memungkinkan screening cepat langsung dari koloni bakteri tanpa harus mengekstrak plasmid, dan telah digunakan dalam banyak studi sebagai langkah awal seleksi klon positif. Analisis enzimatik diagnostik melalui *digestion* plasmid dengan enzim restriksi memberikan pola fragmen khas yang membedakan klon rekombinan versus vektor kosong atau orientasi yang salah, sehingga membantu verifikasi struktur klon secara cepat. Teknik sekuensing DNA, baik Sanger maupun *Next Generation Sequencing* (NGS) digunakan untuk memvalidasi urutan sisipan, memastikan tidak ada mutasi yang tak terduga, dan bahwa sisipan berada dalam kerangka yang diinginkan serta orientasi yang tepat. Pada sisi analisis *blotting*, metode *southern blotting* tetap menawarkan pendekatan untuk menentukan integrasi gen dalam genom atau jumlah salinan gen, sebagaimana telah diilustrasikan pada kloning plasmid ke plasmid (*plasmid to plasmid*) yang mana fragmen DNA terklon diuji melalui hybridisasi spesifik. Melalui menggabungkan dua atau lebih teknik misalnya PCR koloni untuk *screening* awal, restriksi enzim untuk analisis pola plasmid, sekuensing untuk verifikasi detail, dan *southern blot* untuk kontrol integrasi atau salinan, maka karakterisasi klon rekombinan menjadi lebih komprehensif dan andal. Hal ini penting agar sebelum ekspresi atau aplikasi *downstream* dilakukan, struktur klon rekombinan telah dikonfirmasi secara menyeluruh dan risiko kegagalan atau ekspresi salah dapat diminimalkan (Widyaningtyas et al., 2023).

6. Ekspresi Gen Rekombinan

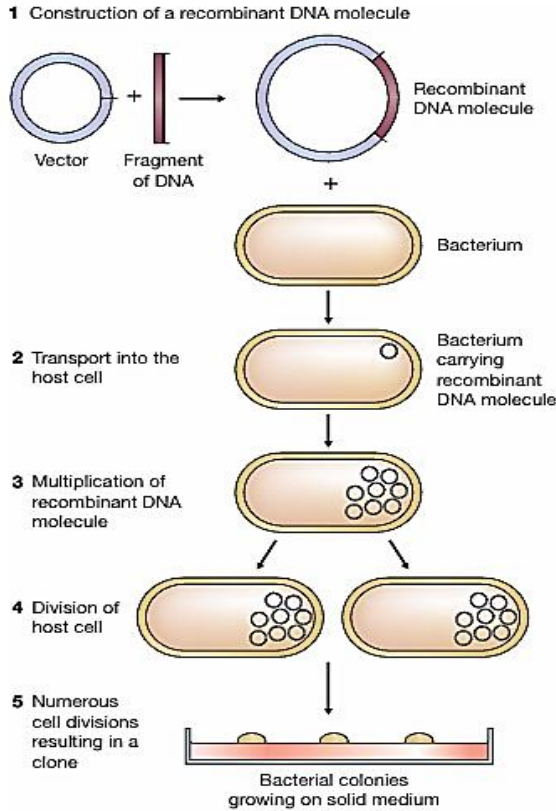
Pada ekspresi gen rekombinan, penggunaan promotor kuat seperti T7 promotor dan lac promotor menjadi strategi utama untuk menghasilkan protein dalam jumlah besar,

karena promotor T7 mengarahkan sintesis oleh RNA polimerase T7 yang sangat aktif, sedangkan lac memungkinkan induksi menggunakan IPTG dan kontrol yang relatif mudah. Pada sisi lain, optimasi kondisi ekspresi juga sangat penting untuk memperoleh produk yang aktif dan terlarut, misalnya dengan menurunkan suhu induksi, memilih media kultur yang sesuai, mengatur waktu dan konsentrasi induktor, serta memilih inang yang tepat untuk ekspresi. Strategi ini terbukti meningkatkan hasil protein heterolog secara signifikan. Studi terbaru menunjukkan bahwa meskipun promotor T7 sangat kuat, tetap diperlukan kontrol kebocoran ekspresi (*leaky expression*) dan beban sel yang berlebihan, bila tidak dioptimasi dengan baik kondisi ekspresi dan inang yang dipakai. Sebagai contoh, sebuah sistem di *Bacillus subtilis* dengan promotor T7 lac menunjukkan ekspresi 25-40 % dari total protein sel setelah optimasi fermentasi skala besar. Optimasi seperti menurunkan suhu ke 18-25 °C atau menambahkan unsur pelengkap dalam media membantu mengurangi pembentukan badan inklusi dan meningkatkan kelarutan protein target. Desain ulang promotor dan sistem regulasi (misalnya rekombinasi promotor lac UV5 atau penggunaan varian promotor alternative) terbukti meningkatkan kestabilan ekspresi dan meminimalkan efek negatif pada pertumbuhan sel inang (Agrawal et al., 2024; Krefft et al., 2022).

7. Isolasi dan Pemurnian Produk Rekombinan

Isolasi dan pemurnian produk rekombinan melibatkan beberapa tahap kritis agar protein yang dihasilkan tidak hanya murni tetapi juga aktif secara biologis. Tahap awal adalah ekstraksi protein rekombinan dari sel inang, misalnya pelisisan sel *E. coli* diikuti dengan klarifikasi untuk memperoleh fraksi yang mengandung protein target. Teknik pemurnian sering kali menggunakan kromatografi afinitas (contohnya resin His-tag atau GST-tag) sebagai langkah utama untuk menangkap protein target, kemudian

dilanjutkan dengan langkah tambahan seperti kromatografi ukuran atau pertukaran ion untuk meningkatkan kemurnian. Setelah pemurnian, analisis kemurnian dilakukan dengan menggunakan SDS PAGE untuk memastikan bahwa pita protein sesuai ukuran yang diharapkan dan bahwa kontaminan telah dikurangi secara signifikan. Selanjutnya, verifikasi aktivitas biologis protein rekombinan dilakukan melalui uji fungsional, misalnya uji aktivitas antimikroba, pengikatan ligan, atau aktivitas enzimatis untuk memastikan bahwa protein tidak hanya hadir tetapi juga berfungsi sesuai tujuan. Selain itu, tinjauan terbaru menunjukkan bahwa kemajuan teknologi pemurnian termasuk optimasi pra-pemurnian, fraksinasi kasar dan halus, memberikan kemajuan signifikan dalam meningkatkan hasil dan aktivitas protein target. Kombinasi yang efektif antara ekstraksi yang baik, pemurnian yang tepat, dan verifikasi aktivitas memastikan bahwa produk rekombinan memenuhi standar kualitas untuk aplikasi lebih lanjut dalam bioteknologi dan penelitian (Somma et al., 2022; Yoon et al., 2024).



Gambar 3.3 Tahapan Dasar dalam DNA Rekombinan
(Brown, 2021)

D. Aplikasi Rekayasa Genetika

Rekayasa genetika telah menjadi landasan penting dalam bioteknologi modern karena kemampuannya memodifikasi materi genetik untuk berbagai tujuan di bidang medis, pertanian, industri, dan lingkungan. Pada bidang medis, teknologi ini memungkinkan produksi protein terapeutik. Sektor pertanian, pengembangan tanaman transgenik seperti *Bt-corn* dan *golden rice*. Bidang industri, rekayasa genetika berperan dalam produksi enzim rekombinan yang digunakan untuk proses manufaktur ramah lingkungan. Sementara itu, di bidang lingkungan, mikroorganisme hasil rekayasa genetik telah dimanfaatkan untuk bioremediasi (Buzatu et al., 2020).

1. Bidang Medis

Rekayasa genetik telah merevolusi produksi protein terapeutik seperti insulin, hormon pertumbuhan, interferon, dan vaksin rekombinan, dengan kemampuan untuk menghasilkan produk yang lebih murni, aman, dan *reproducible* dibandingkan metode tradisional. Selain itu, terapi gen baik metode *in vivo* maupun *in vitro* telah menunjukkan kemajuan besar dengan pendekatan pengeditan genom yang kini memasuki uji klinik, namun tantangan utama masih terletak pada pengiriman vektor dan keamanan jangka panjang dari integrasi gen. Pengembangan model hewan transgenik juga mendukung riset penyakit manusia, dengan model hewan yang direkayasa secara genetik untuk meniru patologi manusia dan memungkinkan pengujian terapi baru secara pre klinis. Sehingga, penggabungan produksi protein rekombinan, terapi gen, dan model hewan transgenik memperkuat fondasi medis rekayasa genetika untuk aplikasi klinis yang lebih luas. Menyelidiki masalah tertentu yang memerlukan jawaban secepatnya (Lange & Inal, 2023; Reinisch, 2025).

2. Bidang Pertanian

Pada sektor pertanian, tanaman transgenik telah digunakan secara luas, contohnya tanaman tahan hama (seperti varietas *Bt-corn*) dan varietas yang diperkaya nutrisi seperti *Golden Rice* yang mengandung β -karoten untuk mengatasi kekurangan vitamin A. Selain itu, tanaman transgenik juga dikembangkan untuk meningkatkan ketahanan terhadap stres lingkungan (kering, salinitas) dan untuk memperbaiki profil nutrisi secara langsung yang penting dalam menghadapi perubahan iklim dan kebutuhan pangan global yang terus meningkat. Kombinasi aspek tahan hama, perbaikan nutrisi, dan toleransi lingkungan menunjukkan bahwa aplikasi rekayasa genetik dalam pertanian menawarkan solusi multifaset terhadap tantangan agroekologi modern (Swamy et al., 2021).

3. Bidang Industri

Pada ranah industri, rekayasa genetik memungkinkan produksi enzim rekombinan seperti amilase, protease, dan lipase yang digunakan sebagai biokatalis dalam proses manufaktur bahan pangan, tekstil, deterjen, dan bahan kimia. Produksi protein rekombinan industri melalui sistem ragi dan mikroba lainnya telah mengalami peningkatan dengan tantangan skala besar. Teknologi ini membuka pintu bagi produksi bahan kimia ramah lingkungan (*green chemistry*) melalui bioproduksi skala besar, sehingga rekayasa genetika di industri bukan hanya untuk obat tetapi juga untuk manufaktur yang lebih berkelanjutan dan efisien (Rebello et al., 2018).

4. Bidang Lingkungan

Rekayasa genetika juga diterapkan dalam bidang lingkungan. Khususnya melalui penggunaan mikroorganisme yang telah direkayasa untuk bioremediasi misalnya membersihkan limbah beracun, logam berat, atau senyawa organik persisten dari tanah dan air. Sehingga, aplikasi rekayasa genetika dalam konteks lingkungan menawarkan cara untuk mengatasi pencemaran dan kerusakan ekosistem melalui solusi biologis yang dirancang secara spesifik (Rafeeq et al., 2023; Sharma et al., 2024).

DAFTAR PUSTAKA

- Agrawal, S., Padmaswari, M. H., Stokes, A. L., Maxenberger, D., Reese, M., Khalil, A., & Nelson, C. E. (2024). Optimizing Recombinant Cas9 Expression : Insights from E. coli Genome Editing. *MDPI*, 21.
- Alekseeva, I. V., & Kuznetsov, N. A. (2023). Historical Aspects of Restriction Endonucleases as Intelligent Scissors for Genetic Engineering. *MDPI*, 9, 1–23.
- Ali, F. A., Al-daoody, A. A. K., Najeeb, M. M., Othman, M. A., & Philip, M. N. (2025). The Influence of Restriction Endonucleases for Cloning. *Journal of Clinical Surgery and Research*, 6(1), 1–8. <https://doi.org/10.31579/2768-2757/156>
- Bernhard, F., Berrow, N., Buyel, J. F., Ferreira-da-silva, F., Haustraete, J., Heuvel, J. Van Den, Hoffmann, J., Marco, A. De, Peleg, Y., Suppmann, S., Unger, T., Vanhoucke, M., Witt, S., & Remans, K. (2023). A Concise Guide to Choosing Suitable Gene Expression Systems for Recombinant Protein Production. *Cell Press*, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.xpro.2023.102572>
- Blanch-asensio, M., Dey, S., & Id, S. S. (2023). In vitro Assembly of Plasmid DNA for Direct Cloning in *Lactiplantibacillus plantarum* WCSF1. *Plos One*, 18(2), 1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0281625>
- Bolsovor, S. R., Hyams, J. S., Shephard, E. A., White, H. A., & Wiedemann, C. G. (2004). Cell Biology: A Short Course, Second Edition. In J. Wiley (Ed.), *Wiley*. Wiley.
- Bose, K. (2022). Textbook on Cloning , Expression and Purification of Recombinant Proteins. In *Springer*.
- Brown, T. . . (2021). Gene Cloning and DNA Analysis. In J. Wiley (Ed.), *Wiley* (Eight). Wiley.

- Buzatu, A. R., Frissen, A. E., Broek, L. A. M. Van Den, Todea, A., Motoc, M., & Boeriu, C. G. (2020). Chemoenzymatic Synthesis of New Aromatic Esters. *MDPI*, 8, 1–19.
- Du, M., Hou, Z., Liu, L., Xuan, Y., Chen, X., Fan, L., Li, Z., & Xu, B. (2022). Progress, Applications, Challenges and Prospects of Protein Purification Technology. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, December, 1–26. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.1028691>
- Faustino, A., Costa, D., Lacalendola, L., Araújo, V. De, Alexandre, C., Leite, S., Gava, P., Oliveira-nascimento, L. De, Rangel-yagui, C. D. O., Oliveira, P. De, Antonio, M., Oliveira, D., & Pessoa, A. (2016). Biopharmaceuticals from Microorganisms : from Production to Purification. *Brazilian Journal of Microbiology*, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.10.007>
- Fels, U., Gevaert, K., & Damme, P. Van. (2020). Bacterial Genetic Engineering by Means of Recombineering for Reverse Genetics. *Frontiers in Microbiology*, 11(September), 1–19. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.548410>
- Fujita, T., & Fujii, H. (2019). Purification of Specific DNA Species using The CRISPR System. *Oxford University Press*, June, 1–6. <https://doi.org/10.1093/biomethods/bpz008>
- Hazarika, G., Dutta, R., Saikia, D. P., Malakar, D., Hazorika, M., & Bora, M. (2024). A Comprehensive Exploration of Restriction Enzymes and Their Applications in Molecular Biology : A Review. *World Journal of Advanced Research and Reviews*, 21(1), 2399–2404.
- Ikenaga, M., & Sakai, M. (2014). Application of Locked Nucleic Acid (LNA) Oligonucleotide – PCR Clamping Technique to Selectively PCR Amplify the SSU rRNA Genes of Bacteria in Investigating the Plant-Associated Community Structures. *Microbes and Enviroments*, 29(3), 286–295. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME14061>

- Kreff, D., Prusinowski, M., Maciszka, P., Skokowska, A., Zebrowska, J., & Skowron, P. M. (2022). T7 - lac Promoter Vectors Spontaneous Derepression caused by Plant - Derived Growth Media may Lead to Serious Expression Problems : A Systematic Evaluation. *Microbial Cell Factories*, 1-13. <https://doi.org/10.1186/s12934-022-01740-5>
- Lange, S., & Inal, J. M. (2023). Animal Models of Human Disease. *MDPI*, 24(October), 1-14.
- Liu, Y., Xu, C., Zhou, H., Wang, W., Liu, B., Li, Y., Hu, X., & Yu, F. (2023). The Crystal Structures of Sau3AI with and Without Bound DNA Suggest A Self-Activation-Based DNA Cleavage Mechanism. *Elsevier*, 31(11), 1463-1472.e2. <https://doi.org/10.1016/j.str.2023.08.005>
- Lodish, H., Berk, A., Matsudaira, P., Kaiser, C. A., Krieger, M., Scott, M. P., Zipursky, L., & Darnell, J. (2021). Molecular Cell Biology. In W.H. Freeman. W.H. Freeman.
- Manigat, F. O., Connell, L. B., Stewart, B. N., Lepabic, A., Tessier, C. J. G., Emlaw, J. R., Calvert, N. D., Anthony, R., Shuhendler, A. J., & Corrie, J. B. (2024). pUdOs: Concise Plasmids for Bacterial and Mammalian Cells. *ACS Synthetic Biology*, 13, 485-497. <https://doi.org/10.1021/acssynbio.3c00408>
- Moens, P. B. (2003). The Double-Stranded DNA Helix in Recombination at Meiosis 1,2. *NRC Canada*, 2-3. <https://doi.org/10.1139/G03-111>
- Nomura, K., Onda, K., Murase, H., Hashiya, F., & Ono, Y. (2024). Chemical Biology Development of PCR Primers Enabling The Design of Flexible Sticky Ends for Efficient Concatenation of Long DNA Fragments. *Royal Society of Chemistry*, 5, 360-371. <https://doi.org/10.1039/d3cb00212h>
- Pouresmaeil, M., & Azizi, S. (2023). Factors Involved in Heterologous Expression of Proteins in E. coli Host. *Archives of Microbiology*, 205(5), 1-18. <https://doi.org/10.1007/s00203-023-03541-9>

- Rafeeq, H., Afsheen, N., Rafique, S., Arshad, A., Intisar, M., Hussain, A., Bilal, M., & Iqbal, H. M. N. (2023). Chemosphere Genetically Engineered Microorganisms for Environmental Remediation. *Elsevier*, 310(April 2022), 136751. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136751>
- Rautela, A., Semwal, N., & Joshi, D. (2021). Technology of Recombinant DNA. *Juniper Publisher*, 16(5), 1–9. <https://doi.org/10.19080/AIBM.2021.16.555947>
- Rebello, S., Abraham, A., Madhavan, A., Sindhu, R., Binod, P., KB, A., Aneesh, E. M., & Pandey, A. (2018). Non-Conventional Yeast Cell Factories for Sustainable Bioprocesses. *FEMS Microbiology Lett.*
- Reinisch, A. (2025). Gene Therapy : Principles , Challenges and use in Clinical Practice. *Springer*, 261–271. <https://doi.org/10.1007/s00508-024-02368-8>
- Rouches, M. V, Xu, Y., Biophysics, F., Cortes, L., & Lambert, G. (2021). A Plasmid System with Tunable Copy Number. *Nature Communications*.
- Sharma, S., Pathania, S., Bhagta, S., Kaushal, N., Bhardwaj, S., Bhatia, R. K., & Walia, A. (2024). Microbial Remediation of Polluted Environment by using Recombinant E . coli: A Review. *Biotechnology for the Environment*, 1(8), 1–21. <https://doi.org/10.1186/s44314-024-00008-z>
- Somma, A. Di, Moretta, A., Can, C., Scieuzo, C., Salvia, R., Falabella, P., & Duilio, A. (2022). Structural and Functional Characterization of a Novel Recombinant Antimicrobial Peptide from *Hermetia illucens*. *MDPI*, 44, 1–13.
- Swamy, B. P. M., Jr, S. M., Samia, M., Ordonio, R. L., Rebong, D. B., Miranda, R., Alibuyog, A., Rebong, A. T., Tabil, M. A., Suralta, R. R., Alfonso, A. A., Biswas, P. S., Kader, A., Reinke, R. F., Boncodin, R., & Mackenzie, D. J. (2021). Development and Characterization of GR2E Golden Rice Introgression

Lines. *Scientific Reports*, 1–12.
<https://doi.org/10.1038/s41598-021-82001-0>

- Widyaningtyas, S. T., Ibrahim, F., Pratiwi, E. B., Subiantistha, T., Indonesia, U., Pathobiology, C., & Indonesia, U. (2023). Cloning and Expression of SARS-CoV-2 Membrane Recombinant Protein in Prokaryotic Expression System. *Health Science Journal of Indonesia*, 14(1), 41–48.
- Xu, J., Chen, D., Yang, Y., Gong, H., Gao, W., & Xiao, H. (2021). A One Step Method for Isolation of Genomic DNA using Multi-Amino Modified Magnetic Nanoparticles. *Royal Society of Chemistry*, 3324–3332. <https://doi.org/10.1039/d0ra09409a>
- Ye, J., Li, Y., Bai, Y., Zhang, T., Jiang, W., Shi, T., & Wu, Z. (2022). A Facile and Robust T7 - Promoter - Based High - Expression of Heterologous Proteins in *Bacillus subtilis*. *Bioresources and Bioprocessing*. <https://doi.org/10.1186/s40643-022-00540-4>
- Yi, D., & Mertz, J. E. (2024). Paul Berg and The Origins of Recombinant DNA. *Cell*, 187(5), 1019–1023. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2024.01.007>
- Yoon, S., Seo, K. S., Park, N., Kim, C., Dey, P., Thornton, J. A., & Park, J. Y. (2024). Development of High Performance Inducible and Secretory Expression Vector and Host System for Enhanced Recombinant Protein Production. *Scientific Reports*, 14, 1–9.
- Zhang, X., Teng, C., Lyu, K., & Lyu, S. (2025). ‘Two in One’ Cloning Vector Applied for Blunt-End and T-A Cloning with One-Step Digestion – Ligation and Screening of Positive Recombinants by Unaided Eyes. *MDPI*, 47(17), 1–9.
- Zhang, Z. X., Nong, F. T., Wang, Y. Z., Yan, C. X., Gu, Y., Song, P., & Sun, X. M. (2022). Strategies for Efficient Production of Recombinant Proteins in *Escherichia coli*: Alleviating The Host Burden and Enhancing Protein Activity. *Microbial Cell Factories*, 1–18. <https://doi.org/10.1186/s12934-022-01917-y>

BAB

4

TEKNOLOGI CRISPR DAN GENE EDITING

apt. Yuli Haryani, Ph.D.

A. Pendahuluan

Penyuntingan genom (*genome editing*) merupakan suatu teknik untuk memperkenalkan perubahan pada urutan DNA, seperti insersi (penyisipan), delesi (penghapusan), atau substitusi basa, pada lokasi target tertentu. Pada tahun 1970-an, metode ini pertama kali digunakan untuk menghasilkan insulin manusia rekombinan dari bakteri. Teknologi DNA rekombinan, yang menggabungkan rekayasa genetika untuk mengisolasi, memodifikasi, dan memasukkan kembali DNA ke dalam sel, digunakan untuk memengaruhi jalur metabolik melalui fungsi enzimatik, transport, dan regulasi, sehingga menghasilkan enzim atau produk protein asing (Wuest et al., 2011).

Rekayasa metabolik (*metabolic engineering*) merupakan metode yang sangat efektif untuk meningkatkan proses fermentasi industri dengan memperkenalkan perubahan genetik yang terarah menggunakan teknologi DNA rekombinan. Meskipun terdapat kesamaan antara rekayasa metabolik, rekayasa seluler, dan rekayasa genetika dalam hal manipulasi gen untuk menghasilkan produk yang diinginkan, rekayasa metabolik memiliki kekhasan dalam fokusnya terhadap pemahaman jaringan metabolik secara menyeluruh, sedangkan rekayasa seluler dan rekayasa genetika berfokus pada reaksi enzimatik individual di dalam sel. Kemajuan dalam teknik kloning dan analisis telah memungkinkan penerapan serta

analisis perubahan genetik pada tingkat sel dengan lebih cepat (Nielsen&Keasling, 2016). Proses rekayasa strain industri umumnya dimulai dengan mengidentifikasi jalur metabolik yang terlibat dalam sintesis produk yang diinginkan beserta jalur yang berkaitan erat dengannya.

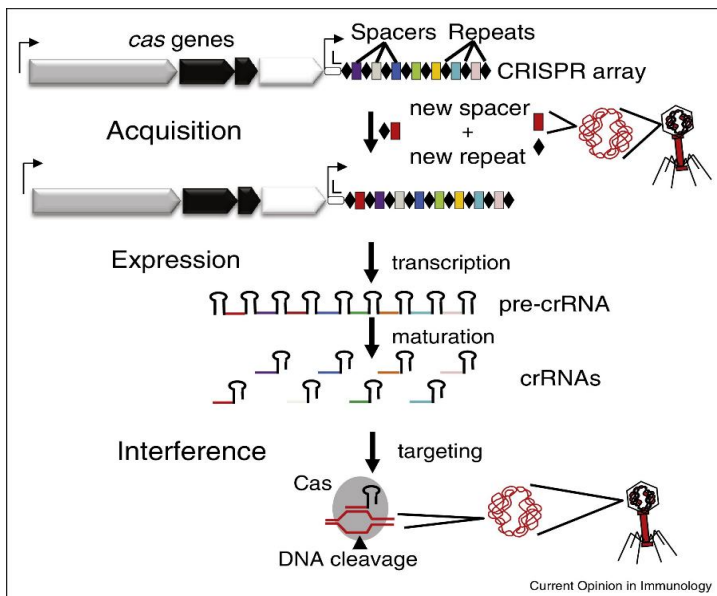
Biologi sintetis telah memberikan kontribusi besar terhadap pengembangan alat dan metodologi untuk rekayasa genom serta pengendalian ekspresi gen, sehingga memungkinkan optimalisasi aliran metabolik menuju produk target secara lebih efisien. Berbagai metode seperti mutasi multipel, insersi dan delesi acak maupun terarah, penyuntingan basa, serta rekayasa genom berskala besar kini dimungkinkan melalui berbagai alat penyuntingan genom, antara lain *Multiplex Automated Genome Engineering* (MAGE), *Zinc Finger Nucleases* (ZFNs), *Transcription Activator-Like Effector Nucleases* (TALENs), dan sistem yang paling mutakhir, yaitu *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat* (CRISPR)/CRISPR-associated nuclease 9 (Cas9). Semua metode tersebut memiliki mekanisme umum berupa pemotongan DNA secara spesifik pada lokasi tertentu yang menghasilkan modifikasi genom terarah. Nuklease pemrogram spesifik-lokus ini menginduksi pemutusan untai ganda DNA (*double-strand breaks*, DSBs) yang dapat menyebabkan modifikasi genom terarah seperti disrupsi gen, insersi, atau koreksi gen. ZFN, TALEN, maupun nuklease yang dipandu RNA (*RNA-guided engineered nucleases*, RGENs) berfungsi sebagai “gunting genetik” untuk memperbaiki dan menyunting cacat genetik (Zhang et al., 2019).

B. Apa Itu Sistem CRISPR-Cas

CRISPR-Cas9 merupakan mekanisme pertahanan alami pada bakteri terhadap infeksi bakteriofag dan transfer plasmid. Mekanisme ini dideskripsikan pertama kali pada tahun 1987 oleh peneliti Jepang sebagai rangkaian ulang pendek (*short direct repeats*) yang diselingi oleh sekuens pendek (*spacers*) pada genom *Escherichia coli*. Gambar 4.1 memperlihatkan sistem imun

CRISPR-Cas yang umumnya berfungsi melalui 3 tahap independent, yaitu:

1. Adaptasi; DNA asing diambil (*sampled*) dan spacer baru diintegrasikan ke dalam lokus CRISPR.
2. Ekspresi; CRISPR *array* ditranskripsi dan diproses menjadi CRISPR RNA (crRNA) berukuran kecil yang berfungsi sebagai "*guide RNA*"
3. Interferensi; crRNA mengarahkan enzim Cas endonuklease menuju DNA target yang memiliki urutan komplementer, sehingga memungkinkan terjadinya degradasi atau pemotongan DNA asing tersebut.



Gambar 4.1 Tiga tahap sistem imun CRISPR-Cas
[Sumber: Barrangou et al., 2015]

C. Prinsip Dasar Sistem CRISPR-Cas

Kemajuan terkini dalam sistem CRISPR/Cas pada bakteri telah merevolusi bidang biologi secara signifikan. Popularitas rekayasa genetika berbasis CRISPR-Cas disebabkan oleh kesederhanaan dan keberhasilan penerapannya pada berbagai bentuk kehidupan. Sistem CRISPR, yang merupakan sistem

kekebalan adaptif pada Archaea dan bakteri, mampu menargetkan DNA pada lokasi yang sangat spesifik dan berfungsi sebagai enzim restriksi yang dapat diprogram (Donohoue et al., 2018). Sistem ini bergantung pada aktivitas dua molekul utama, yaitu:

1. Protein CRISPR-associated (Cas)

Protein CRISPR-associated (Cas) merupakan endonuklease non-spesifik yang aktivitasnya diarahkan oleh gRNA menuju lokus DNA tertentu, tempat enzim tersebut membuat patahan untai ganda pada DNA (*double-stranded DNA*, dsDNA).

Saat ini telah diisolasi beberapa varian Cas nuclease dari berbagai spesies bakteri, namun yang paling umum digunakan adalah SpCas9, yaitu Cas9 yang berasal dari *Streptococcus pyogenes*.

2. guide RNA (gRNA)

guide RNA (gRNA) yaitu urutan RNA spesifik yang berfungsi mengenali wilayah/sekuens DNA target, dan kemudian mengarahkan enzim Cas ke lokasi tersebut untuk melakukan pengeditan. gRNA terdiri dari dua bagian RNA yang berbeda, yaitu:

- a. **CRISPR RNA (crRNA)**, berupa urutan sepanjang 17-20 nukleotida yang komplementer terhadap DNA target
- b. **Trans-activating CRISPR RNA (tracrRNA)**, yang berfungsi sebagai rangka pengikat (*binding scaffold*) bagi Cas nuklease untuk membentuk kompleks aktif penyuntingan gen.

Dalam praktiknya, kedua RNA tersebut sering digabung menjadi satu molekul buatan yang disebut **single guide RNA (sgRNA)** untuk memudahkan penggunaan di laboratorium.

Studi struktur telah memungkinkan konstruksi dua varian protein Cas9 yang menunjukkan aktivitas nuklease berbeda:

1. Wild-type Cas9

Enzim ini memiliki sifat nuklease yang mampu menghasilkan patahan untai ganda (DSBs) secara spesifik pada DNA target.

2. Cas9 nickase (Cas9n)

Varian ini diperoleh melalui substitusi asam amino D10A atau H840A pada domain katalitik Cas9, dan hanya mampu menghasilkan patahan tunggal (*single-strand nick*) pada DNA.

3. Nuclease-deficient Cas9 atau dCas9

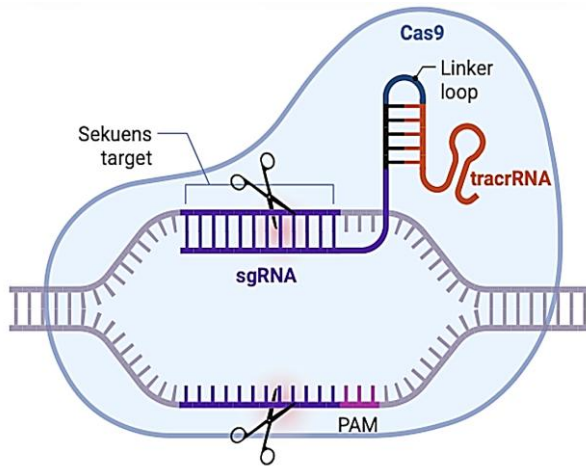
Varian ini mengalami mutasi pada kedua situs katalitiknya (D10A dan H840A), sehingga sepenuhnya kehilangan kemampuan untuk memotong DNA. dCas9 digunakan pada modulasi ekspresi gen, dalam CRISPRi ataupun CRISPRa.

D. Mekanisme Teknologi CRISPR-Cas9 dalam Gene Editing

Mekanisme rekayasa genetika dengan teknik CRISPR/Cas9 diilustrasikan pada Gambar 4.2.

1. Setelah membentuk **kompleks dengan gRNA**, enzim Cas9 akan mengenali urutan DNA target yang diapit oleh ***Protospacer Adjacent Motif* (PAM)**, segmen DNA pendek yang terdiri dari 2–5 pasangan basa dan bersifat konservatif, terletak di hilir (*downstream*) dari situs pemotongan DNA. Panjang dan komposisi urutan PAM bervariasi tergantung pada spesies bakteri asal sistem CRISPR-Cas tersebut. Cas9 dari *Streptococcus pyogenes* (spCas9) mengenali PAM “NGG”, Cas12 nuklease dari *Acidaminococcus* sp. (asCas12a or Cpf1) bekerja pada sekuens TTTV. PAM ini diperlukan agar Cas9 dapat mengikat dan memotong DNA dengan tepat.
2. Jika Cas9-gRNA telah menempel pada lokasi target di DNA, **Cas9 akan memotong kedua untai DNA secara spesifik** sehingga terbentuk pemutusan untai ganda dengan ujung tumpul (*blunt-ended*). Cas nuclease berperan dalam mendestabilisasi urutan DNA di sekitar PAM, sehingga memungkinkan pengenalan dan pemeriksaan urutan DNA (*sequence interrogation*) oleh crRNA. Jika Terdapat urutan yang sesuai (*matching sequence*), maka akan terjadi pasangan

antara RNA dan DNA (*RNA-DNA pairing*) yang mengarahkan proses pemotongan DNA oleh sistem CRISPR-Cas (Jiang & Doudna, 2017).



Gambar 4.2 Cas9 nuklease menyebabkan DSB pada posisi 3-4 nukleotida upstream dari PAM

3. Setelah DNA terpotong, **mesin perbaikan DNA dalam sel akan memperbaiki kerusakan** tersebut melalui dua jalur utama seperti yang diilustrasikan pada Gambar 4.3.

a. *Non-Homologous End Joining (NHEJ)*

Jalur ini merupakan mekanisme perbaikan yang paling umum dan efisien, dimana ke dua ujung DNA yang terputus akan disambungkan Kembali secara langsung tanpa memerlukan cetakan homolog. Namun demikian, jalur ini bersifat rentan kesalahan (*error-prone*) dan sering menghasilkan penyisipan atau penghapusan kecil (*insertions atau deletions, indels*) secara acak. Hasilnya biasanya menyebabkan perubahan sekuens/*frameshift* pada *open reading frame* (ORF), yang dapat menonaktifkan gen (*gene knockout, KO*).

Kemampuan KO terprogram yang dimiliki CRISPR-Cas9 memungkinkan pengalihan aliran metabolit dengan menghilangkan gen yang berkontribusi terhadap reaksi kompetitif, seperti gen yang terlibat dalam

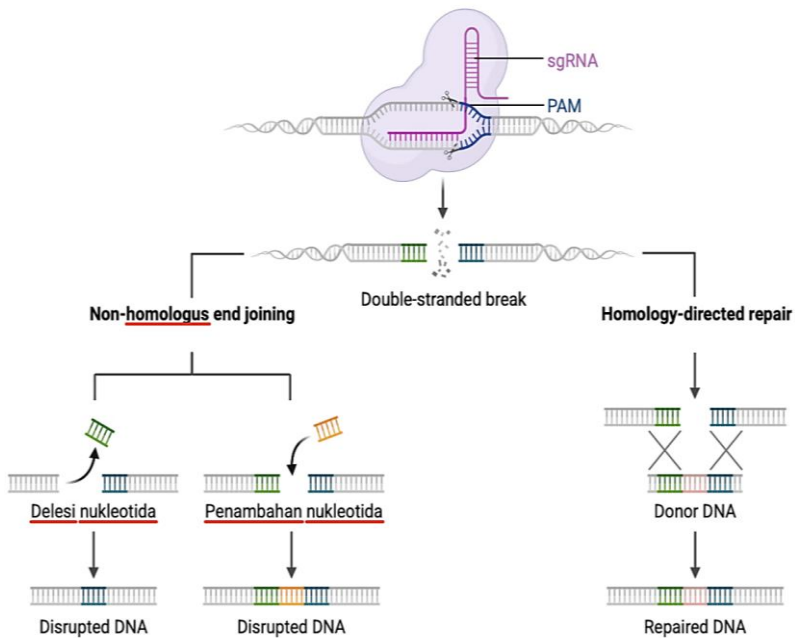
katabolisme karbon atau prekursor yang tidak diinginkan. Pada bakteri yang kekurangan jalur NHEJ, sistem CRISPR-Cas9 sering digunakan bersama dengan *lambda-Red recombinase* dan donor asam nukleat pendek untuk menggantikan gen atau memperkenalkan perubahan lokal kecil tanpa menyebabkan kematian akibat DSB (Donohoue et al., 2018).

b. Homology-Directed Repair (HDR)

Jalur ini bersifat presisi tinggi (error-free) dan memerlukan template DNA donor yang homolog dengan daerah sekitar DSB. Dengan mekanisme ini, urutan DNA baru dapat disisipkan secara tepat di lokasi target (*gene knock-in*).

Dengan demikian, dalam teknis aplikasi rekayasa genetika menggunakan metode CRISPR/Cas9, peneliti dapat:

1. Mendesain gRNA spesifik untuk inaktivasi gen target (KO) melalui mekanisme NHEJ, atau;
2. Menyediakan template DNA donor (dapat berupa plasmid, vektor Adeno-associated virus (AAV), DNA berantai ganda, DNA beruntai tunggal Panjang (*single-stranded oligodeoxynucleotides*) agar sel melakukan penyisipan urutan gen baru (*gene knock-in*) melalui mekanisme HDR.



Gambar 4.3 Mekanisme perbaikan DSBs pada DNA

E. Variasi System CRISPR

Sistem CRISPR dibagi menjadi dua kelas berdasarkan mekanisme kerjanya. Sistem CRISPR kelas 1 relatif sulit digunakan karena memerlukan kompleks efektor multiprotein yang terdiri dari 4–7 subunit protein Cas. Sebaliknya, sistem CRISPR kelas 2, khususnya CRISPR-Cas9 tipe II dan CRISPR-Cpf1 (Cas12a) tipe V, lebih luas penggunaannya karena hanya memerlukan satu protein efektor utama, yaitu Cas9 atau Cpf1, untuk menjalankan fungsinya. Sistem CRISPR-Cas tipe II memberikan kekebalan melalui aktivitas Cas9 yang memperkenalkan pemutusan untai ganda DNA (DSBs) secara spesifik pada urutan target. Terlepas dari kelasnya, semua sistem CRISPR memiliki kesamaan, yaitu dikodekan oleh DNA, dimediasi oleh RNA, dan menargetkan asam nukleat (Barrangou et al., 2007).

Aplikasi teknik CRISPR-Cas tidak sebatas inaktivasi gen (*knockout*). CRISPR dapat diaplikasikan untuk modulasi ekspresi gen (Gambar 4.4).

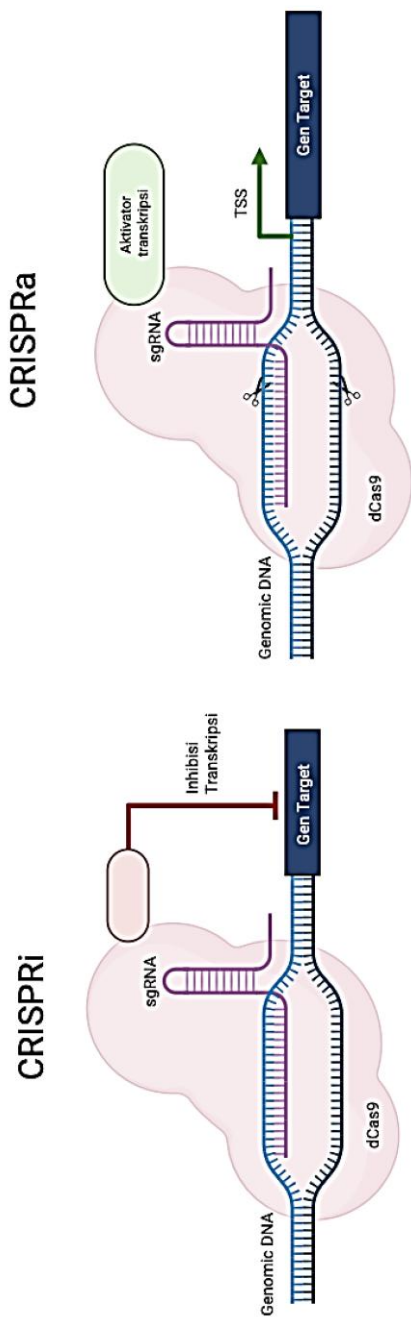
1. CRISPR interference (CRISPRi)

- a. Pengendalian transkripsi berbasis **CRISPRi** telah menunjukkan potensi untuk menekan ekspresi gen (*gene silencing*).
- b. Pada teknik ini, yang digunakan adalah **dCas9**. Enzim dCas9 tidak bekerja pada tingkat mRNA, melainkan pada tingkat DNA, dengan cara menghambat langsung proses inisiasi atau elongasi transkripsi, tergantung pada apakah wilayah promotor atau open reading frame (ORF) yang menjadi targetnya. **Keunggulan utama** sistem *silencing* berbasis dCas9 dibandingkan dengan pengeditan gen berbasis Cas9 adalah tidak memerlukan mekanisme perbaikan DNA (*repair pathway*).
- c. Pendekatan CRISPRi menjadi teknik potensial untuk mempelajari dampak fenotipik akibat penekanan gen esensial. Sejauh ini, penekanan ekspresi gen dengan CRISPRi terbukti memiliki sifat sangat spesifik, dapat dibalik (*reversible*) setelah penghilangan senyawa penginduksi, serta dapat diatur (*finely tuneable*). Wu et al., (2015) telah menggunakan CRISPRi untuk menyeimbangkan jalur metabolik sentral dalam meningkatkan fluks karbon menuju malonyl-CoA pada *Escherichia coli*. Hasil penelitian mereka menunjukkan peningkatan kadar malonyl-CoA intraseluler tanpa memengaruhi pertumbuhan biomassa secara signifikan, sehingga membuktikan bahwa CRISPRi dapat digunakan untuk karakterisasi gen esensial dan pengembangan *E. coli* sebagai pabrik sel untuk produksi senyawa yang memerlukan malonyl-CoA sebagai prekursor.

2. CRISPR-mediated transcriptional activation (CRISPRa)

- a. CRISPRa merupakan varian dari sistem CRISPR di mana dCas9 difusikan dengan efektor transkripsi untuk memodulasi ekspresi gen target.

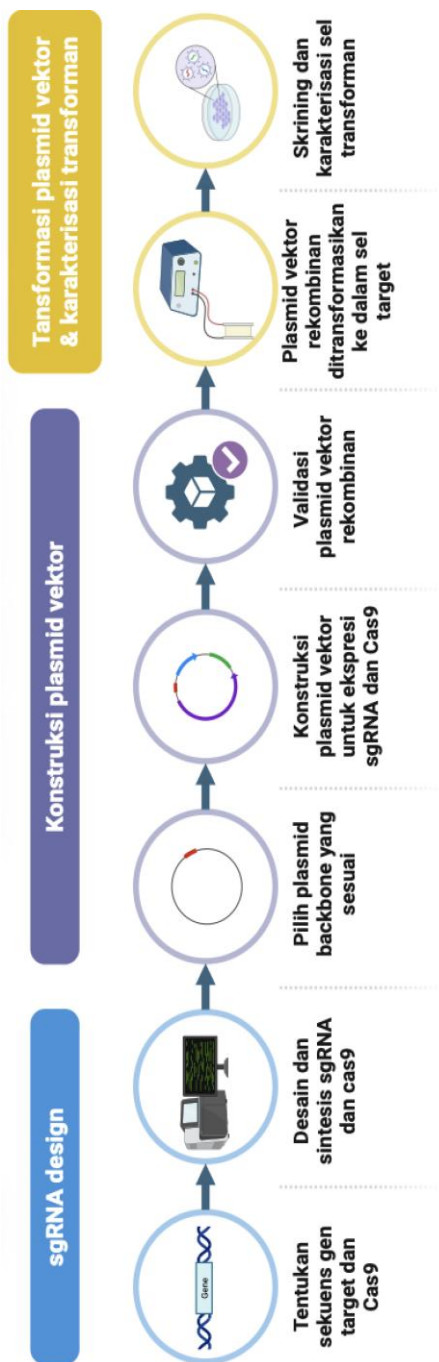
- b. Setelah guide RNA mengarahkan kompleks tersebut ke lokus genom yang dituju bersama dengan lengan efektor, dCas9 tidak melakukan pemotongan DNA, melainkan memungkinkan efektor tersebut untuk **mengaktifkan ekspresi gen** di hilir (downstream) dari situs pengikatan.
- c. Pendekatan CRISPRa memberikan kemampuan yang belum pernah ada sebelumnya bagi peneliti untuk meningkatkan ekspresi gen secara langsung dalam konteks genom aslinya (*native context*). Hal ini sangat berbeda dengan teknik *gain-of-function* konvensional, seperti sistem berbasis plasmid atau lentivirus yang mengekspresikan *open reading frame* (ORF) secara eksogen (di luar konteks genom alami).
- d. Selain itu, CRISPRa juga memungkinkan terjadinya **overekspresi transkrip berukuran besar**, yang sering kali sulit atau tidak efisien dilakukan menggunakan metode berbasis ORF. Dengan demikian, sistem CRISPRa menjadi teknik yang kuat dan fleksibel untuk pengaturan ekspresi gen secara presisi tanpa perlu modifikasi permanen pada DNA (Zhang et al., 2021).



Gambar 4.4 Perbandingan 2 tipe modulasi ekspresi gen berbasis CRISPR

F. Pengembangan Riset Berbasis CRISPR-Cas

Berbagai tipe modifikasi gen dapat diterapkan dalam rekayasa metabolik bakteri. Perkembangan toolbox CRISPR yang semakin canggih memungkinkan penyuntingan genom dan regulasi transkripsi yang lebih maju, menjadikannya strategi ideal dalam rekayasa metabolik karena keunggulannya yang meliputi: kemudahan penggunaan, modularitas, dan skalabilitas. Rekayasa metabolik memodifikasi jaringan metabolik melalui manipulasi satu atau beberapa gen untuk menciptakan atau meningkatkan pabrik sel mikroba (*microbial cell factory*) dalam produksi bahan bakar, bahan kimia, obat-obatan, dan senyawa bioaktif lainnya. Sistem CRISPR-Cas9 telah digunakan pada berbagai jenis bakteri dengan memanfaatkan alat manipulasi genetik untuk mengekspresikan Cas9 dan gRNA. Tahapan yang perlu dilakukan untuk mengembangkan sistem CRISPR-KO diilustrasikan pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Prosedur pengembangan riset berbasis CRISPR-Cas

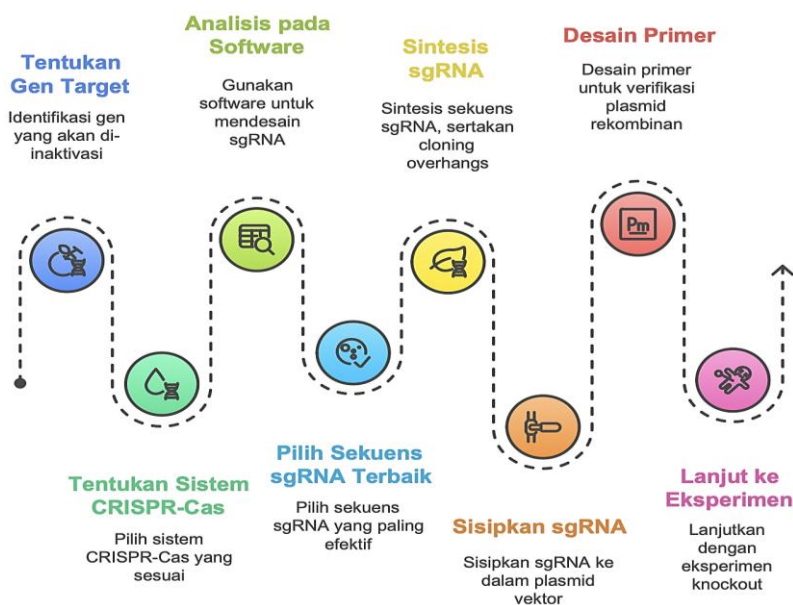
Tahap desain sgRNA adalah salah satu **tahap krusial** dalam desain CRISPR-KO (Gambar 4.6). Kesalahan pemilihan sgRNA kaan menyebabkan kegagalan inaktivasi gen target. Berikut beberapa parameter utama dan logika evaluasi yang perlu dipertimbangkan dalam merancang gRNA:

1. Efisiensi On-Target

- a. Efisiensi on-target yang tinggi menunjukkan bahwa gRNA tersebut diprediksi memiliki kemampuan pengeditan yang tinggi terhadap situs target. Berbagai algoritma telah dikembangkan untuk memprediksi efisiensi on-target gRNA, yang didasarkan pada kumpulan data dari penelitian mengenai aktivitas ribuan gRNA, seperti CHOPCHOP, Benchling, CRISPOR, or Cas-Designer CRISPR RGEN Tools.
- b. Riset kami mengaplikasikan sistem CRISPR-Cas9 untuk menginaktivasi (knockout) gen laktat dehydrogenase (*ldh*) pada berbagai spesies isolat Bakteri Asam Laktat (BAL). sgRNA untuk target *ldh* didesain menggunakan Benchling dan kemudian kami selaraskan hasilnya dengan hasil dari CHOPCHOP (Haryani et al., 2024).

2. Risiko Off-Target

Spesifisitas *knockout* mengacu pada kemampuan untuk menghindari mutasi off-target, yaitu perubahan genetik yang terjadi di lokasi selain target yang diinginkan dan dapat menimbulkan konsekuensi yang tidak diharapkan. Oleh karena itu, perancangan sgRNA harus mencakup analisis menyeluruh terhadap seluruh genom untuk mengidentifikasi kemungkinan situs off-target yang memiliki homologi tinggi dengan urutan target, dapat disimulasikan dengan aplikasi CRISPOR, Geneious Prime, Benchling, and Cas-OFFinder. Dalam riset *ldh* knockout, kami menggunakan Cas-OFFinder untuk identifikasi kemungkinan mismatch untuk sekuens sgRNA pilihan.



Gambar 4.6 Proses desain sgRNA dan konstruksi plasmid sgRNA

G. Aplikasi Teknologi CRISPR dalam Berbagai Bidang

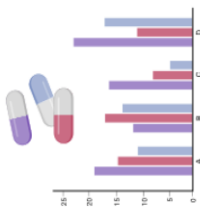
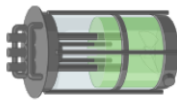
Aplikasi teknologi CRISPR/Cas9 dalam rekayasa genetika telah dikembangkan pada bidang kesehatan, biologi, dan bioteknologi, sebagaimana dirangkum pada Gambar 4.7. Sebagai teknologi penyunting gen yang sangat presisi, CRISPR/Cas9 telah merevolusi cara ilmuwan memahami, memodifikasi, dan memanfaatkan informasi genetik untuk berbagai kepentingan di bidang medis, pertanian, dan industri.

Dalam bidang kesehatan dan kedokteran, CRISPR digunakan untuk mengembangkan terapi gen bagi penyakit genetik, seperti anemia sel sabit dan distrofi otot Duchenne, melalui koreksi langsung pada gen penyebab penyakit. Selain itu, teknologi ini juga memainkan peran penting dalam pengembangan imunoterapi kanker, misalnya dengan modifikasi sel CAR-T atau knock-out gen PD-1 untuk meningkatkan efektivitas respon imun. Disamping itu, Penyaringan genom fungsional (*functional genomic screening*) menggunakan CRISPR-Cas9 *library* telah muncul sebagai pendekatan yang kuat dan tidak bias untuk mengidentifikasi

target obat potensial (*druggable targets*). Sebagai contoh, penyaringan knockout genom secara menyeluruh (genome-wide CRISPR-Cas9 knockout screen) menggunakan pustaka GeCKO v.2 manusia, yang berisi 65.386 sgRNA yang menargetkan 19.052 gen pengkode protein, berhasil mengidentifikasi fosfoglisarat dehidrogenase (PHGDH) sebagai mediator penting dalam resistansi terhadap obat sorafenib pada sel karsinoma hepatoseluler (HCC) (Park et al., 2025).

Pada bidang biologi dan bioteknologi pertanian, CRISPR menjadi alat yang kuat untuk melakukan rekayasa genetika pada hewan dan tanaman. Dalam rekayasa hewan, teknologi ini digunakan baik untuk penelitian *in vivo* maupun peningkatan produktivitas ternak, serta pengembangan model hewan uji penyakit manusia. Sementara dalam bioteknologi tanaman, CRISPR berperan dalam perbaikan sifat agronomis penting, seperti ketahanan terhadap penyakit, toleransi terhadap cekaman abiotik (kekeringan atau salinitas), serta peningkatan hasil dan kualitas panen. Pada tanaman obat, CRISPR diaplikasikan dalam upaya memodifikasi jalur metabolisme untuk mengatur biosintesis senyawa aktif seperti fenol, terpenoid, dan alkaloid. Koerniati & Simanjuntak (2020) melaporkan rekayasa gen *AaSQS* pada tanaman *Artemisia annua* menyebabkan peningkatan produksi artemisinin, senyawa antimalaria penting.

Dalam sektor industri dan lingkungan, CRISPR dimanfaatkan untuk merekayasa mikroorganisme dalam produksi nisin/bacteriocin, enzim industri, bioplastic, dan biofuel melalui peningkatan efisiensi metabolisme ragi dan alga. Selain itu, CRISPR juga berpotensi besar digunakan untuk bioremediasi, yakni pembersihan lingkungan dari polutan dengan cara memodifikasi bakteri atau cyanobacteria agar mampu mendegradasi senyawa berbahaya secara lebih efektif. Teknologi ini juga dimanfaatkan untuk memodifikasi mikroba dalam produksi pangan fungsional dan biofertilizer, guna mendukung sistem pertanian berkelanjutan (Diana et al., 2025; Dudeca et al., 2025; Haryani et al., 2024).

KESEHATAN		BIOLOGI		BIOTEKNOLOGI	
Penyakit Genetik Memperbaiki kelainan genetik melalui penambahan atau penghilangan gen		Pengembangan Obat Menemukan, mengembangkan, dan skrining obat-obatan baru		Produksi Biofuel Meningkatkan produksi biofuel menggunakan ragi dan alga	
Kasus hemofilia, β -talasemia, dan cystic fibrosis		Target baru bagi kandidat obat potensial		Penggandaan produksi lipid pada alga	
		Rekayasa Hewan Melakukan rekayasa genetika pada hewan untuk studi in vivo maupun produksi pangan		Bioteknologi Tanaman Meningkatkan kualitas, ketahanan, dan masa simpan pangan	
					Jagung, kapas, kedelai, dan kentang

Gambar 4.7 Aplikasi CRISPR/Cas9 dalam Rekayasa Genetika

H. Isu Etika dan Potensi Penyalahgunaan Teknologi CRISPR

Meskipun memiliki berbagai keunggulan, kemunculan teknologi CRISPR-Cas9 yang berkembang pesat telah menimbulkan isu-isu bioetika, sosial, dan hukum baru di bidang kedokteran, pertanian, peternakan, dan lingkungan. Salah satu dilema global utama yang muncul dari teknologi CRISPR-Cas9 adalah masalah paten. Spesies transgenik hasil industri serta beberapa urutan gen manusia tertentu telah dipatenkan untuk tujuan klinis (Sherkow, 2018). Isu bioetika penting lainnya adalah munculnya mutasi off-target, mutasi tak diinginkan di luar target dalam genom yang dapat menimbulkan penyakit atau efek samping serius (Schultz-Bergin, 2018).

Pada akhir tahun 2018, pengumuman mengenai kelahiran bayi hasil penyuntingan gen CRISPR memicu gelombang kecaman global dan mendorong banyak ilmuwan terkemuka menyerukan moratorium terhadap praktik penyuntingan genom germline (*germline genome editing*, GGE) untuk tujuan reproduksi (Regalado, 2018). Meskipun penelitian tersebut dilakukan dalam kerangka uji klinis, tampaknya prosedur etika standar tidak diikuti, sehingga berpotensi melanggar peraturan nasional Tiongkok serta standar bioetika internasional. Kasus bayi kembar Lulu dan Nana menjadi titik balik yang menandai perlunya refleksi etis global (Krimsky, 2019).

Proses Penilaian Etika (*Ethics Assessment*) yang dikembangkan oleh Komisi Eropa (European Commission/EC) dan diterapkan pada seluruh proyek yang mengajukan pendanaan di bawah program Horizon 2020 (H2020) serta *European Research Council* (ERC), dirancang secara ketat untuk mendeteksi dan mencegah kemungkinan destruksi atau penciptaan embrio manusia baru secara eksperimental (Hirsch et al., 2019). Namun demikian, mekanisme ini juga memberikan ruang yang cukup bagi penggunaan teknologi CRISPR untuk tujuan penelitian ilmiah, dengan syarat bahwa semua isu etika yang mungkin timbul telah ditangani secara tepat. Dengan segala potensi terapinya, CRISPR-Cas9 tetap memerlukan kerangka etika dan hukum yang kuat. Penggunaan teknologi ini,

terutama untuk penyuntingan germline manusia, harus dilakukan dengan transparansi, pengawasan ketat, dan konsensus internasional guna memastikan bahwa kemajuan ilmiah tidak melanggar prinsip martabat, keselamatan, dan keadilan manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Barrangou, R. (2015). The roles of CRISPR-Cas systems in adaptive immunity and beyond. *Current opinion in immunology*, 32, 36-41.
- Diana, N., Ahmad, Z., & Fajic, S. (2025). Targeted Metabolic Engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for High-Efficiency Valorization of Lignocellulosic Biomass into Superior-Quality Bioplastics. *Natural Sciences Engineering and Technology Journal*, 5(2), 107-119.
- Donohoue, P. D., Barrangou, R., & May, A. P. (2018). Advances in Industrial Biotechnology Using CRISPR-Cas Systems. *Trends in Biotechnology*, 36(2), 134-146. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2017.07.007>
- Dudeja, C., Mishra, A., Ali, A., Singh, P. P., and Jaiswal, A. K. (2025). Microbial genome editing with CRISPR-Cas9: recent advances and emerging applications across sectors. *Fermentation*, 11(7), 410.
- Haryani, Y., Halid, N.A., Goh, S.G., Nor-Khaizura, M.A.R., Hatta, M.A.M., Sabri, S., Radu, S. and Hasan, H., (2024). Efficient metabolic pathway modification in various strains of lactic acid bacteria using CRISPR/Cas9 system for elevated synthesis of antimicrobial compounds. *Journal of Biotechnology*, 395, pp.53-63.
- Hirsch, F., Iphofen, R. and Koporc, Z., 2019. Ethics assessment in research proposals adopting CRISPR technology. *Biochemia Medica*, 29(2), pp.206-213.
- Jiang, F. and Doudna, J.A., 2017. CRISPR-Cas9 structures and mechanisms. *Annual review of biophysics*, 46, pp.505-529.
- Koerniati, S., & Simanjuntak, G. (2020). CRISPR/Cas9 system for disruption of biochemical pathway for sterol synthesis in *Artemisia annua* L. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 482(1): 012028. IOP Publishing.

- Krimsky, S., 2019. The moral choices on CRISPR babies. *The American Journal of Bioethics*, 19(10), pp.15-16.
- Nielsen, J., & Keasling, J. D. (2016). Engineering Cellular Metabolism. *Cell*, 164(6), 1185-1197. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.02.004>
- Park, S.J., Lee, G.E., Cho, S.M. and Choi, E.H., (2025). Recent applications, future perspectives, and limitations of the CRISPR-Cas system. *Molecular Therapy Nucleic Acids*.
- Regalado, A., 2018. EXCLUSIVE: Chinese scientists are creating CRISPR babies. *Technology Review*. November, 25.
- Schultz-Bergin, M., 2018. Is CRISPR an ethical game changer?. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*, 31(2), pp.219-238.
- Sherkow, J.S., Barker, K.B., Braverman, I., Cook-Deegan, R., Durbin, R., Easter, C.L., Goldstein, M.M., Hudson, M., Kress, W.J., Lewin, H.A. and Mathews, D.J., 2022. Ethical, legal, and social issues in the Earth BioGenome Project. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 119(4), p.e2115859119.
- Wuest, D. M., Hou, S., Lee, K. H., & States, U. (2011). Metabolic Engineering. In *Comprehensive Biotechnology* (Third Edit, Vol. 3). <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64046-8.00190-7>.
- Zhang, J., Liu, J., Yang, W., Cui, M. L., Dai, B., Dong, Y., Yang, J., Zhang, X., Liu, D., Liang, H., & Cang, M. (2019). Comparison of gene editing efficiencies of CRISPR/Cas9 and TALEN for generation of MSTN knock-out cashmere goats. *Theriogenology*, 132, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.03.029>
- Zhang, R., Xu, W., Shao, S., & Wang, Q. (2021). Gene silencing through CRISPR interference in bacteria: current advances and future prospects. *Frontiers in Microbiology*, 12, 635227.

BAB 5

BIOTEKNOLOGI VAKSIN DAN OBAT-OBATAN

Hasrida, S. Farm., M. Kes.

A. Pendahuluan

Bioteknologi merupakan cabang ilmu yang memanfaatkan sistem biologi, organisme hidup, atau derivatnya untuk menghasilkan produk dan layanan yang bermanfaat bagi manusia (Perez, 2022). Dalam konteks modern, bioteknologi memadukan biologi molekuler, genetika, mikrobiologi, serta Teknik rekayasa untuk menciptakan Solusi inovatif di berbagai bidang, terutama Kesehatan dan farmasi (Singh et al., 2023).

1. Perkembangan bioteknologi dapat dibagi tiga fase utama :

- a. Bioteknologi tradisional dimulai sejak manusia menggunakan mikroorganisme dalam proses fermentasi untuk memproduksi makanan seperti roti, keju, dan bir (Ahmad, 2021).
- b. Bioteknologi modern berkembang pesat setelah penemuan struktur DNA oleh Watson dan Crick pada tahun 1953, yang mendasar bagi munculnya teknologi DNA rekombinan (Watson dan Crick, 1953).
- c. Era bioteknologi kontemporer ditandai dengan kemajuan dalam teknologi genomik, proteomik, serta bioinformatika yang memungkinkan pengembangan vaksin dan obat-obatan secara lebih cepat dan presisi (Kumar dan Patel, 2024).

2. Peran bioteknologi dalam dunia kesehatan

Dalam bidang medis, bioteknologi berperan besar dalam diagnosa penyakit, terapi gen, perkembangan vaksin, dan produksi obat-obatan biologis. Teknologi seperti *polymerase chain reaction (PCR)*, kultur sel, dan rekayasa genetik memungkinkan identifikasi cepat patogen dan desain obat secara molekuler (Rahman et al., 2023).

Pandemi COVID-19 merupakan contoh nyata bagaimana bioteknologi dapat mempercepat produksi vaksin berbasis *messenger RNA (mRNA)* dalam waktu singkat (WHO, 2021).

3. Manfaat dan dampak sosial bioteknologi

Manfaat utama bioteknologi antara lain :

- a. Peningkatan kualitas dan efektivitas vaksin serta obat-obatan,
- b. Produksi protein terapeutik seperti insulin manusia,
- c. Deteksi dini penyakit genetik.
- d. Pengembangan terapi individual berbasis genom (Zhao dan Chen, 2023).

B. Prinsip dan Teknik Dasar Bioteknologi

1. Konsep Dasar Bioteknologi Modern

Bioteknologi modern berlandaskan pada kemampuan manusia untuk memanipulasi materi genetik (DNA dan RNA) guna menghasilkan organisme atau produk dengan sifat yang diinginkan. Teknologi ini menggabungkan biologi molekuler, kimia, mikrobiologi, dan teknik bioinformatika dalam suatu sistem terpadu (Nelson dan Cox, 2022).

Empat prinsip utama bioteknologi meliputi :

- a. Pemahaman struktur dan fungsi gen.
- b. Rekayasa DNA rekombinan untuk memodifikasi atau menyisipkan gen tertentu.
- c. Ekspresi gen dalam sistem biologis seperti bakteri, sel mamalia, atau tanaman.
- d. Produksi dan pemurnian protein untuk aplikasi medis (Berg et al., 2021).

2. DNA Rekombinan dan Kloning Gen

Teknologi DNA rekombinan merupakan dasar dari seluruh bioteknologi modern. Proses ini melibatkan pemotongan DNA menggunakan enzim restriksi, penyambungan fragmen gen target ke dalam vektor (biasanya plasmid), dan transformasi ke dalam organisme inang, seperti *Escherichia coli*, untuk memperbanyak (Watson et al., 2020).

Kloning gen memungkinkan identifikasi, duplikasi, dan analisis fungsi gen tertentu. Melalui kloning, ilmuwan dapat memproduksi protein rekombinan seperti insulin manusia yang berasal dari gen *INS* (Brown, 2021).

3. Teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

PCR adalah Teknik amplifikasi DNA yang dikembangkan oleh Kary Mullis pada tahun 1983. Prinsipnya ialah memperbanyak segmen DNA secara eksponensial menggunakan enzim DNA polymerase tahan panas (Taq polymerase) (Mullis dan Faloona, 1987).

PCR digunakan dalam berbagai aplikasi, seperti :

- a. Diagnostik penyakit menular,
- b. Identifikasi genetik
- c. Penelitian ekspresi gen (Lee dan Kim, 2022)

Modifikasi dari PCR klasik, seperti qPCR (quantitative PCR) dan RT-PCR (Reverse Transcription PCR), memungkinkan deteksi RNA virus seperti SARS-CoV-2 (Carter et al., 2021).

4. Kultur Sel dan Mikroba

Kultur sel adalah Teknik menumbuhkan sel hewan atau manusia di lingkungan buatan yang steril dengan kondisi optimal untuk pertumbuhan. Teknik ini sangat penting dalam produksi vaksin, *antibody monoklonal*, dan uji toksisitas obat (Freshney, 2020).

Kultur mikroba digunakan untuk memproduksi protein terapeutik melalui sistem ekspresi, misalnya :

- a. *E. coli* (prokariot) untuk protein sederhana,
- b. *Saccharomyces cerevisiae* (ragi) untuk protein kompleks,
- c. Sel CHO (*Chinese Hamster Ovary*) untuk antibody monoclonal (Walsh, 2021).

5. Teknik Transformasi dan Transfeksi

Transformasi adalah proses memasukkan DNA ke dalam sel prokariot, sedangkan transfeksi digunakan untuk sel eukariot. Metode yang umum digunakan meliputi :

- a. Chemical transformation dengan CaCl_2 ,
- b. Electroporation (Kejutan Listrik),
- c. Lipofection (menggunakan lipid vesicle) (Green dan Sambrook, 2021).

Teknik ini memungkinkan ekspresi gen asing dalam organisme penerima, yang menjadi dasar bagi produksi vaksin rekombinan seperti vaksin hepatitis B dan HPV.

6. Ekspresi dan Pemurnian Protein

Setelah gen berhasil diekspresikan, Langkah berikutnya adalah pemurnian protein menggunakan Teknik kromatografi seperti *affinity chromatography* atau *ion-exchange chromatography* (Scopes, 2019). Protein yang telah dimurnikan selanjutnya diuji aktivitas biologinya, kestabilan, dan keamanan sebelum digunakan secara medis (Berg et al., 2021).

C. Bioteknologi dalam Produksi Vaksin

1. Pengantar Vaksin dan Imunisasi

Vaksin merupakan produk bioteknologi yang berfungsi menstimulasi sistem imun agar mengenali dan melawan patogen tanpa menyebabkan penyakit (Plotkin et al., 2021). Vaksinasi telah menjadi salah satu intervensi medis paling efektif dalam sejarah kedokteran modern, menurunkan angka morbiditas dan mortalitas akibat penyakit menular secara signifikan (WHO, 2022).

Prinsip dasar vaksin adalah memicu respon imun adaptif melalui pengenalan antigen spesifik. Dalam bidang bioteknologi, antigen ini dapat diproduksi menggunakan sistem ekspresi genetik modern yang lebih efisien dan aman (Kutzler dan Weiner, 2020).

2. Perkembangan Teknologi Produksi Vaksin

Produksi vaksin telah berevolusi dari metode konvensional menuju platform bioteknologi modern. Beberapa tahap perkembangan utama antara lain :

- a. Vaksin Tradisional : menggunakan patogen utuh yang dilemahkan (*attenuated*) atau dimatikan (*inactivated*), seperti vaksin polio dan BCG (Rappuoli, 2018).
- b. Vaksin Rekombinan : antigen diproduksi melalui teknik DNA rekombinan, misalnya vaksin hepatitis B yang menggunakan protein permukaan virus (*HBsAg*) dari gen yang diekspresikan pada *Saccharomyces cerevisiae* (Valenzuela et al., 2021).
- c. Vaksin Subunit dan Konjugat : hanya menggunakan bagian antigenik tertentu dari patogen, dikombinasikan dengan adjuvan untuk meningkatkan imunogenisitas.
- d. Vaksin mRNA dan DNA : platform paling mutakhir yang menggunakan kode genetik antigen untuk memicu produksi protein imunogenik di dalam sel inang (Pardi et al., 2018).

3. Prinsip Bioteknologi dalam Pengembangan Vaksin

Teknologi bioteknologi modern memungkinkan proses pengembangan vaksin berlangsung lebih cepat melalui :

- a. Identifikasi gen antigenik menggunakan *bioinformatics* dan *genomic sequencing*,
- b. Konstruksi plasmid DNA untuk mengekspresikan antigen target,
- c. Produksi antigen dalam sistem sel seperti *CHO cells* atau *yeast expression systems*,
- d. Formulasi vaksin dengan penambahan adjuvan dan stabilizer (Reed et al., 2020).

Pendekatan ini memungkinkan produksi vaksin dalam skala besar dengan konsistensi dan keamanan tinggi.

4. Platform Produksi Vaksin Berbasis Bioteknologi

Beberapa platform utama yang saat ini digunakan antara lain:

a. Vaksin Rekombinan (*Rekombinant Subunit Vaccines*)

Menggunakan fragmen protein yang dihasilkan melalui teknologi DNA rekombinan. Contoh : vaksin HPV (Human Papillomavirus) dan vaksin hepatitis B (Yang et al., 2020).

b. Vaksin Vektor Virus (*Viral Vector Vaccines*)

Menggunakan virus non-patogen (adenovirus) sebagai pembawa gen antigen target. Contoh : vaksin AstraZeneca COVID-19 (Voysey et al., 2021).

c. Vaksin DNA dan mRNA

Platform mRNA seperti Pfizer-BioNTech dan modern memanfaatkan urutan genetik sintetik yang mengkode protein spike virus SARS-CoV-2. Teknologi ini memungkinkan produksi cepat, efisiensi tinggi dan kemampuan adaptasi terhadap mutasi virus (Pardi et al., 2018).

d. Vaksin Berbasis Protein Virus-Like Particles (VLPs)

VLP menyerupai struktur virus tetapi tidak mengandung materi genetik, sehingga aman namun tetap mampu menimbulkan respons imun kuat (Zhao et al., 2022).

5. Keunggulan Bioteknologi dalam Produksi Vaksin

Pemanfaatan bioteknologi dalam pengembangan vaksin memberikan banyak keuntungan :

- a. Produksi antigen lebih cepat dan spesifik
- b. Skala produksi yang lebih efisien,
- c. Risiko kontaminasi biologis lebih rendah,
- d. Kemampuan rekayasa untuk meningkatkan stabilitas vaksin,
- e. Adaptasi cepat terhadap varian virus baru (Reed et al., 2020).

6. Studi Kasus: Vaksin COVID-19

Pandemi COVID-19 membuktikan efektivitas bioteknologi dalam mempercepat pengembangan vaksin. Dalam waktu kurang dari satu tahun, platform mRNA berhasil menghasilkan vaksin Pfizer-BioNTech (BNT 162b2) dan Moderna (mRNA-1273), yang terbukti memiliki efikasi lebih dari 90% (Polack et al., 2020).

Teknologi ini menunjukkan bahwa bioteknologi tidak hanya mempercepat produksi, tetapi juga meningkatkan kemampuan manusia merespons pandemi global dengan pendekatan molekuler presisi (Baden et al., 2021).

D. Jenis dan Contoh Vaksin Hasil Bioteknologi

1. Klasifikasi Vaksin Berdasarkan Teknologi Produksi

Perkembangan teknologi bioteknologi telah menghasilkan berbagai jenis vaksin dengan mekanisme kerja dan platform berbeda. Secara umum, vaksin modern dapat diklasifikasikan menjadi beberapa kategori berikut (Krammer, 2020):

- a. Vaksin Rekombinan (Recombinant Vaccines)
- b. Vaksin Subunit dan Konjugat (Subunit and Conjugate Vaccines)
- c. Vaksin DNA dan RNA (Nucleic Acid Vaccines)
- d. Vaksin Vector Virus (Viral Vector Vaccines)
- e. Vaksin Partikel Mirip Virus (Virus-Like Particle/VLP Vaccines)
- f. Vaksin Terapeutik (Therapeutic Vaccines)

2. Vaksin Rekombinan

Vaksin rekombinan dibuat dengan menyisipkan gen yang mengkode antigen target ke dalam sistem ekspresi seperti *yeast*, *bacteria*, atau sel mamalia. Hasilnya adalah protein antigenik murni yang dapat memicu respon imun tanpa risiko infeksi (Rosenthal et al., 2021).

Contoh:

- a. Vaksin Hepatitis B : protein permukaan virus (*HBsAg*) diekspresikan dalam *Saccharomyces cerevisiae* menggunakan teknologi DNA rekombinan (Valenzuela et al., 2021).
- b. Vaksin HPV (Human Papillomavirus) : menggunakan protein L1 dari kapsid virus untuk membentuk partikel mirip virus (VLP) yang tidak menular (Schiller dan Muller, 2022).

Vaksin rekombinan terbukti aman dan efektif karena tidak melibatkan penggunaan virus hidup.

3. Vaksin Subunit dan Konjugat

Vaksin subunit hanya mengandung bagian tertentu dari patogen, misalnya protein atau polisakarida yang bersifat imunogenik. Untuk meningkatkan efektivitasnya, sering ditambahkan adjuvan seperti aluminium hidroksida (Reed et al., 2020).

Contoh :

- a. Vaksin Pertusis aseluler (DTaP) : mengandung fragmen antigenik dari *Bordetella pertussis*.
- b. Vaksin Pneumokokus Konjugat (PCV13) : menggabungkan polisakarida kapsular bakteri dengan protein pembawa, menghasilkan imunitas yang lebih kuat pada anak-anak (Bogaert et al., 2020).

4. Vaksin DNA dan RNA

Vaksin DNA dan RNA adalah inovasi terkini dalam bidang imunologi molekuler.

- a. Vaksin DNA mengandung plasmid yang membawa gen antigen target, yang kemudian ditranskripsi dan diterjemahkan dalam sel inang untuk menghasilkan protein imunogenik.
- b. Vaksin mRNA menggunakan urutan mRNA sintetis yang langsung diterjemahkan menjadi protein oleh ribosom sel tubuh manusia (Pardi et al., 2018).

Contoh :

- a. Pfizer-BioNTech (BNT162b2) dan Moderna (mRNA-1273) untuk COVID-19.
- b. Inovio INO-4800, kandidat vaksin DNA yang dikembangkan untuk SARS-CoV-2 (Kim et al., 2021)

5. Vaksin Vektor Virus

Teknologi vektor virus menggunakan virus jinak (non-replikatif) untuk mengantarkan gen antigen target ke dalam sel manusia. Virus yang digunakan umumnya adalah adenovirus, vaccinia, atau vesicular stomatitis virus (VSV) (Voysey et al., 2021).

Contoh :

- a. Vaksin AstraZeneca (ChAdOx1 nCoV-19): menggunakan adenovirus simpanse.
- b. Vaksin Johnson dan Johnson (Ad26.COV2.S) : menggunakan adenovirus manusia tipe 26.
- c. Vaksin Ebola (rVSV-ZEBOV) : menggunakan virus VSV yang dimodifikasi untuk mengekspresikan glikoprotein Ebola (Henao-Restrepo et al., 2017).

Teknologi ini memungkinkan produksi vaksin dengan respon imun kuat baik humoral maupun seluler.

6. Vaksin Berbasis Partikel Mirip Virus (VLP)

VLP adalah struktur non-infeksius yang meniru morfologi virus asli tanpa mengandung materi genetik (Zhao et al., 2022). Teknologi ini sangat efektif dalam memicu respon imun alami.

Contoh :

- a. Vaksin HPV Gardasil® dan Cervarix®, keduanya berbasis VLP.
- b. Kandidat vaksin influenza berbasis VLP yang sedang dikembangkan oleh Medicago (Chua et al., 2021).

7. Vaksin Terapeutik

Berbeda dari vaksin profilaksis, vaksin terapeutik ditujukan untuk mengobati penyakit kronis seperti kanker dan HIV dengan menstimulasi sistem imun terhadap antigen spesifik yang sudah ada dalam tubuh (Melief et al., 2020).

Contoh :

- a. Vaksin kanker berbasis peptide (*peptide-based cancer vaccines*) seperti Sipuleucel-T untuk kanker prostat.
- b. Vaksin HIV berbasis DNA dan vektor yang masih dalam tahap uji klinis.

E. Bioteknologi dalam Produksi Obat-obatan

Bioteknologi farmasi merupakan cabang bioteknologi yang berfokus pada pengembangan dan produksi obat-obatan yang berasal dari organisme hidup atau komponennya. Produk-produk ini dikenal sebagai biofarmasi (biopharmaceuticals), mencakup protein terapeutik, antibodi monoklonal, enzim, vaksin, dan terapi gen (Walsh, 2021).

Penggunaan Teknik rekayasa genetika memungkinkan produksi obat dengan Tingkat kemurnian tinggi, spesifisitas target yang baik, serta efek samping minimal dibandingkan obat kimia konvensional (Rader, 2018).

1. Prinsip Produksi Obat Bioteknologi

Produksi obat berbasis bioteknologi diawali dengan identifikasi gen target yang mengkode protein terapeutik, kemudian gen tersebut dikloning dan diekspresikan dalam sistem biologis seperti *E. coli*, *yeast*, atau sel mamalia (Walsh, 2018).

Tahapan umum produksi meliputi :

- a. Desain dan kloning gen target.
- b. Ekspresi gen dalam sistem inang (sel prokariot atau eukariot).
- c. Fermentasi dan produksi protein.
- d. Pemurnian protein dengan metode kromatografi.
- e. Uji bioaktivitas dan keamanan.

- f. Formulasi dan kontrol kualitas produk akhir (Carter, 2020)

Sistem ekspresi yang dipilih bergantung pada kompleksitas protein yang akan diproduksi protein sederhana sering menggunakan *E. coli*, sedangkan protein kompleks seperti antibodi memerlukan sel mamalia seperti *CHO cells* (Walsh, 2021).

2. Protein Terapeutik Rekombinan

Protein terapeutik rekombinan merupakan hasil rekayasa DNA yang menghasilkan protein identik dengan protein alami manusia. Contoh paling terkenal adalah insulin manusia rekombinan, yang menggantikan insulin hewani dalam terapi diabetes (Goeddel et al., 1979).

Beberapa contoh lain protein terapeutik rekombinan :

- a. Erythropoietin (EPO) : merangsang pembentukan sel darah merah pada pasien gagal ginjal (Lin, 1985).
- b. Human Growth Hormone (hGH) : digunakan untuk terapi gangguan pertumbuhan pada anak (Kemp, 2020).
- c. Interferon- α dan β : digunakan sebagai agen antivirus dan antikanker (Pestka, 2021).

Keunggulan protein rekombinan meliputi keamanan tinggi, konsistensi batch, serta kemampuan modifikasi struktur untuk meningkatkan efektivitas biologis.

3. Antibodi Monoklonal (*Monoclonal Antibodies*)

Antibodi monoklonal (mAb) merupakan salah satu hasil revolusioner bioteknologi farmasi. Antibodi ini dihasilkan melalui teknologi hibridoma, yaitu penggabungan antara sel B limfosit penghasil antibodi dengan sel myeloma untuk membentuk sel hibrid yang dapat menghasilkan antibodi secara terus-menerus (Köhler dan Milstein, 1975).

Contoh obat berbasis antibodi monoklonal :

- a. Trastuzumab (Herceptin®) : terapi kanker payudara HER2-positif.
- b. Adalimumab (Humira®) : terapi untuk rheumatoid arthritis dan penyakit Crohn.

- c. Pembrolizumab (Keytruda®) : imunoterapi kanker berbasis *PD-I inhibitor* (Ghosh et al., 2022).

Antibodi monoklonal kini mendominasi pasar obat bioteknologi global karena efektivitas dan spesifisitasnya terhadap target molekuler penyakit.

4. Terapi Gen dan Terapi Sel

Terapi gen (gene therapy) merupakan pendekatan bioteknologi yang bertujuan memperbaiki atau mengganti gen yang rusak dengan gen normal. Pendekatan ini dapat digunakan untuk mengobati penyakit genetik, kanker, dan infeksi virus (Naldini, 2019).

Teknologi CRISPR-Cas9 memungkinkan penyuntingan gen dengan presisi tinggi, mempercepat kemajuan terapi gen (Doudna dan Charpentier, 2014).

Contoh keberhasilan terapi gen termasuk :

- a. Luxturna® : terapi untuk kebutaan herediter akibat mutasi gen RPE65.
- b. Zolgensma® : terapi gen untuk spinal muscular atrophy (SMA) (Mendell et al., 2021).

Selain terapi gen, bioteknologi juga digunakan dalam terapi sel, seperti CAR-T cell therapy, di mana sel T pasien di rekayasa untuk mengenali dan menghancurkan sel kanker (June dan Sadelain, 2018).

5. Keunggulan dan Tantangan Produksi Obat Bioteknologi

Keunggulan obat bioteknologi :

- a. Spesifisitas target tinggi.
- b. Risiko efek samping rendah.
- c. Kemampuan modifikasi molekul untuk meningkatkan efektivitas.

Namun terdapat tantangan besar dalam produksi dan distribusinya :

- a. Biaya produksi dan uji klinis yang tinggi.
- b. Kebutuhan fasilitas *Good Manufacturing Practices (GMP)*.

- c. Isu stabilitas protein dan sensitivitas terhadap suhu (Rader, 2018).

Bioteknologi terus berinovasi untuk mengatasi kendala tersebut, termasuk dengan penggunaan bioreaktor cerdas dan sistem ekspresi berbasis tanaman (plant-based expression systems).

F. Contoh Obat Hasil Rekayasa Genetika

Rekayasa genetik telah merevolusi dunia farmasi dengan memungkinkan produksi obat-obatan yang identik dengan protein manusia alami, tetapi dihasilkan melalui sistem biologis buatan. Obat hasil rekayasa genetik, atau *biopharmaceuticals*, memiliki peran penting dalam terapi penyakit kronis seperti diabetes, kanker, dan penyakit autoimun (Walsh, 2021).

Beberapa produk pertama yang berhasil dikembangkan melalui bioteknologi adalah insulin rekombinan, hormon pertumbuhan manusia (*human growth hormone/hGH*), interferon, dan antibodi monoklonal.

1. Insulin Rekombinan

Sebelum ditemukannya insulin rekombinan, pasien diabetes bergantung pada insulin yang diekstraksi dari pankreas babi atau sapi, yang dapat menimbulkan reaksi imun (Goeddel et al., 1979).

Pada tahun 1982, perusahaan Genentech dan Eli Lilly berhasil memproduksi insulin manusia rekombinan (Human®) menggunakan teknologi DNA rekombinan dalam *E. coli*.

Proses produksinya meliputi :

- a. Sintesis gen insulin manusia secara kimia.
- b. Penyisipan gen tersebut ke dalam plasmid bakteri *E. coli*.
- c. Ekspresi dan pemurnian protein insulin.

Insulin rekombinan menandai awal sejarah dalam farmasi modern, karena merupakan obat bioteknologi pertama yang disetujui FDA dan membuka jalan bagi pengembangan terapi protein lainnya (Walsh, 2018).

2. Hormon Pertumbuhan Manusia (*Human Growth Hormone-hGH*)

Human Growth Hormone (hGH) berfungsi untuk merangsang pertumbuhan jaringan dan metabolisme. Sebelum era bioteknologi, hGH diekstraksi dari kelenjar pituitari penyakit (Kemp, 2020).

Pada tahun 1985, diperkenalkan hGH rekombinan (somatotropin) yang diproduksi melalui bakteri *E. Coli* menggunakan gen *GH1* manusia. Obat ini digunakan untuk terapi gangguan pertumbuhan pada anak, sindrom Turner, dan kekurangan hormon pertumbuhan pada orang dewasa (Rosenfeld et al., 2019).

3. Interferon

Interferon adalah protein alami yang berfungsi sebagai antivirus dan imunomodulator. Teknologi rekombinan memungkinkan produksi interferon- α , β , dan γ dalam skala besar menggunakan sistem ekspresi bakteri atau sel mamalia (Pestka, 2021).

Contoh interferon rekombinan yang telah disetujui :

- a. Interferon- α 2b (intron A®) : digunakan untuk terapi hepatitis B dan C.
- b. Interferon- β 1a (Avonex®) : digunakan dalam terapi multiple sclerosis.

Keberhasilan produksi interferon rekombinan menunjukkan kemampuan bioteknologi dalam menyediakan terapi imunomodulator yang efektif.

4. Antibodi Monoklonal

Antibodi monoklonal (mAb) telah menjadi salah satu obat paling penting hasil rekayasa genetika. Teknologi awal dikembangkan oleh Köhler dan Milstein (1975) melalui teknik hibridoma, dan kini dikombinasikan dengan teknologi DNA rekombinan untuk menghasilkan antibodi humanized. Beberapa contoh antibodi monoklonal terkenal :

- a. Trastuzumab (Herceptin®) : menarget reseptor HER2 pada kanker payudara.

- b. Rituximab (Rituxan®) : terapi untuk limfoma non-Hodgkin dan rheumatoid arthritis.
- c. Adalimumab (Humira®) : menghambat TNF- α dalam penyakit autoimun seperti artritis reumatoid (Ecker et al., 2015).

Antibodi monoklonal memiliki keuntungan spesifisitas tinggi, sehingga hanya menargetkan sel atau molekul penyebab penyakit tanpa merusak jaringan sehat (Ghosh et al., 2022).

5. Erythropoietin (EPO)

Erythropoietin (EPO) merupakan hormon yang merangsang pembentukan sel darah merah. Gen EPO berhasil di kloning dan diekspresikan dalam sel mamalia oleh Lin (1985). Produk rekombinan seperti *Epoetin alfa* (*Epogen*®) digunakan untuk mengatasi anemia pada pasien gagal ginjal kronik atau yang menjalani kemoterapi (Jelkmann, 2019).

Produksi EPO memerlukan sistem ekspresi eukariotik karena memerlukan modifikasi glikosilasi untuk aktivitas biologinya yang optimal.

6. Albumin dan Enzim Rekombinan

Selain protein terapeutik utama, teknologi rekombinan juga digunakan untuk memproduksi *albumin manusia* dan berbagai enzim terapi, seperti :

- a. *Alglucerase* (*Ceredase*®) : untuk terapi penyakit Gaucher.
- b. *Dornase alfa* (*Pulmozyme*®) : untuk menguraikan lendir pada pasien cystic fibrosis.

Albumin rekombinan digunakan sebagai bahan tambahan dalam pembuatan vaksin dan media kultur sel karena stabilitasnya yang tinggi (Walsh, 2021).

7. Dampak Sosial dan Ekonomi

Produksi obat rekombinan memberikan dampak besar terhadap masyarakat, antara lain :

- a. Meningkatkan akses terhadap terapi penyakit kronis.
- b. Mendorong pertumbuhan industri biofarmasi global.

- c. Membuka peluang riset bagi mahasiswa dan peneliti di bidang bioteknologi.

Namun, tingginya biaya produksi dan paten masih menjadi hambatan utama, terutama bagi negara berkembang (Rader, 2018).

DAFTAR PUSTAKA

- Ahad, S. (2021). *History and evolution of biotechnology*. Journal of Applied Life Sciences, 12(3), 45-53.
- Baden, L. R., et al. (2021). *Efficacy and safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 vaccine*. The New England Journal of Medicine, 384 (5), 403-416.
- Berg, J. M., Tymoczko, J. L., Gatto, G. J., and Stryer, L. (2021). *Biochemistry* (9th ed.). W. H. Freeman.
- Bogaert, D., De Groot, R., and Hermans, P. W. M. (2020). *Streptococcus pneumoniae colonisation : The key to pneumococcal disease*. The Lancet Infectious Diseases, 4(3), 144-154.
- Brown, T. A. (2021). *Gene Cloning and DNA Analysis* (8th ed.) Wiley-Blackwell.
- Carter, L. J., et al. (2021). *Real-time PCR applications in COVID-19 testing*. Journal of Clinical Diagnostics, 45 (2), 65-72.
- Carter, P. J. (2020). *Introduction to biopharmaceuticals and molecular medicine*. Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 60(1), 1-20.
- Chua, B. Y., et al. (2021). *Virus-like particle-based vaccines for pandemic influenza*. Expert Review of Vaccines, 20 (6), 713-726.
- Doudna, J. A., and Charpentier, E. (2014). *The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9*. Science, 346 (6213), 1258096.
- Freshney, R. I. (2020). *Culture of Animal Cells : A Manual of Basic Technique and Specialized Applications* (8th ed.). Wiley-Blackwell.
- Ghosh, R., Chatterjee, S., and Sengupta, S. (2022). *Recent advances in monoclonal antibody therapy*. Frontiers in Immunology, 13, 895412.
- Goeddel, D. V., et al. (1979). *Expression in Escherichia coli of chemically synthesized genes for human insulin*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 76 (1), 106-110.

- Green, M. R., and Sambrook, J. (2021). *Molecular Cloning : A Laboratory manual* (5th ed.). Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Henao-Restrepo, A. M., et al. (2017). *Efficacy and effectiveness of an rVSV-vectored vaccine in preventing Ebola virus disease*. The New England Journal of Medicine, 376(4), 331-343.
- Jelkmann, W. (2019). *Erythropoietin : Structure, control of production, and function*. Physiological Reviews, 100 (2), 611-638.
- June, C. H., and Sadelain, M. (2018). *Chimeric antigen receptor therapy*. The New England Journal of medicine, 379 (1), 64-73.
- Kemp, S. F. (2020). *Human growth hormone therapy: A historical perspective*. Hormone Research in Paediatrics, 93 (1), 1-9.
- Kim, J., et al. (2021). *DNA vaccines for COVID-19 : Current perspectives and future directions*. Vaccine, 39(37), 5102-5112.
- Köhler, G., and Milstein, C. (1975). *Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity*. Nature, 256 (5517), 495-497.
- Krammer, F. (2020). *SARS-CoV-2 vaccines in development*. Nature, 586(7830), 516-527.
- Kumar, R., and Patel, V (2024). *Modern biotechnology : Advances and applications in health*. Biotechnology Review, 18(2), 112-126.
- Kutzler, M. A., and Weiner, D. B. (2020). *DNA and RNA-based vaccines : Principles, progress and prospects*. Nature Reviews Genetics, 21 (12), 761-775.
- Lee, S, and Kim, H. (2022). *Applications of polymerase chain reaction in biomedical research*. Frontiers in Molecular Biosciences, 9, 1-9.
- Lin, F. K. (1985). *Cloning and expression of the human erythropoietin gene*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 82 (22), 7580-7584.

- Mendell, J. R., et al. (2021). *Single-dose gene-replacement therapy for spinal muscular atrophy*. The New England Journal of Medicine, 384 (7), 715.
- Mullis, K., and Faloona, F. (1987). Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. Methods in Enzymology, 155, 335-350.
- Naldini, L. (2019). *Gene therapy returns to centre stage*. Nature, 526 (7573), 351-360.
- Nelson, D. L., and Cox, M. M. (2022). *Lehninger Principles of Biochemistry* (8th ed). W. H. Freeman.
- Pardi, N., Hogan, M. J., Porter, F. W., and Weissman, D. (2018). *mRNA vaccines-a new era in vaccinology*. Nature Reviews Drug Discovery, 17(4), 261-279.
- Perez, M. (2022). *Foundations of biotechnology and molecular medicine*. Elsevier Academic Press.
- Pestka, S. (2021). *The interferons revisited : Function, induction and clinical uses*. Annual Review of Biochemistry, 90, 153-176.
- Plotkin, S. A., Orenstein, W. A., Offit, P. A., and Edwards, K. M. (2021). *Plotkin's Vaccines* (8th ed.). Elsevier.
- Polack, F. P., et al. (2020). *Safety and efficacy of the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine*. The New England Journal of Medicine, 383(27), 2603-2615.
- Rader, R. A. (2018). *Biopharmaceutical manufacturing trends and future outlook*. BioProcess International, 16 (2), 4-12.
- Rahman, A., Li, J., and Ooi, K. (2023) *Molecular tools in biotechnology and health research*. Frontiers in Biotechnology, 9, 234-245.
- Rappuoli, R. (2018). *Vaccines : A tool for global health*. Cell, 172(3), 550-556.
- Reed, S. G., Orr, M. T., and Fox, C. B. (2020). Key roles of adjuvants in modern vaccines. Nature Medicine, 26(4), 459-470.

- Scopes, R. K. (2019). *Protein Purification : Principles and Practice*. Springer.
- Singh, P., Gupta, A., and Rana, D. (2023). *Integrating biotechnology in modern medicine*. *Nature Biotechnology Reports*, 7(1), 56-68.
- Valenzuela, P., Medina, A., Rutter, W. J., Ammerer, G., and Hall, B. D. (2021). *Synthesis and assembly of hepatitis B virus surface antigen particles in yeast*. *Nature*, 298(5872), 347-350.
- Voysey, M., et al. (2021). *Safety and efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine (AZD1222)*. *The Lancet*, 397 (10269), 99-111.
- Walsh, G. (2018). *Biopharmaceutical benchmarks 2018*. *Nature Biotechnology*, 36 (12), 1136-1145.
- Walsh, G. (2021). *Biopharmaceutical Benchmarks 2021*. *Nature Biotechnology*, 39 (10), 1255-1270.
- Watson, J. D., and Crick, F. H. C. (1953). *Molecular structure of nucleic acids*. *Nature*, 171 (4356), 737-738.
- Watson, J. D., Baker, T. A., Bell, S. P., Gann, A., Levine, M., and Losick, R. (2020). *Molecular Biology of the Gene* (8th ed.). Pearson.
- World Health Organization (WHO). (2021). *The role of biotechnology in vaccine development*. WHO Technical Report Series.
- World Health Organization (WHO). (2022). *Immunization agenda 2030: A global strategy to leave no one behind*. WHO Publications.
- Yang, J., et al. (2020). *Advances in recombinant sub-unit vaccine design for infectious diseases*. *Frontiers in Immunology*, 11,1781.
- Zhao, Q., et al. (2022). *Virus-like particle-based vaccines in biotechnology and medicine*. *Biotechnology Advances*, 58, 107880.
- Zhao, Y., and Chen, T. (2023). *Genomic approaches in personalized medicine*. *Trends in Biotechnology*, 41(6), 452-460.

BAB

6

BIOTEKNOLOGI TERAPI GEN

apt. Besse Hardianti, M.Pharm.Sc., Ph.D.

A. Pendahuluan

Kemajuan pesat dalam bioteknologi telah membuka jalan bagi pendekatan terapeutik yang revolusioner, salah satunya adalah terapi gen. Terapi gen merupakan intervensi medis yang bertujuan untuk mengobati atau mencegah penyakit dengan cara memodifikasi materi genetik pasien. Pendekatan ini tidak hanya menawarkan harapan baru bagi penyakit-penyakit yang sebelumnya sulit diobati, tetapi juga menandai pergeseran paradigma dari pengobatan simptomatik menuju pengobatan berbasis molekuler yang presisi (Wirth, Parker and Ylä-Herttuala, 2013a).

Sejak pertama kali dikonseptualisasikan pada akhir abad ke-20, terapi gen telah mengalami transformasi signifikan. Dari eksperimen awal yang penuh tantangan hingga keberhasilan uji klinis pada penyakit genetik seperti severe combined immunodeficiency (SCID), terapi gen kini menjadi bagian integral dari lanskap biomedis modern (Pfeifer and Verma, 2001).

B. Definisi dan Konsep Dasar Terapi Gen

Definisi Terapi Gen

Terapi gen adalah pendekatan biomedis yang bertujuan untuk mengobati, mencegah, atau memodifikasi perjalanan penyakit melalui manipulasi langsung terhadap materi genetik sel target. Intervensi ini dilakukan dengan cara memasukkan,

mengganti, mengedit, atau menonaktifkan gen dalam sel pasien, sehingga ekspresi genetik yang patologis dapat dikoreksi atau dikompensasi (Verma and Somia, 1997).

Secara formal, terapi gen dapat didefinisikan sebagai:

“Suatu prosedur terapeutik yang melibatkan transfer materi genetik ke dalam sel pasien untuk menghasilkan efek biologis yang diinginkan, baik melalui ekspresi gen baru maupun modifikasi gen yang sudah ada.”

Klasifikasi Terapi Gen

Terapi gen dapat diklasifikasikan berdasarkan beberapa aspek berikut:

1. Berdasarkan Jenis Sel Target:

- a. **Terapi gen somatik:** Modifikasi dilakukan pada sel tubuh (non-germline), sehingga perubahan genetik tidak diwariskan ke keturunan. Ini adalah bentuk yang paling umum dan telah digunakan dalam berbagai uji klinis (Ledley, 1996).
- b. **Terapi gen germline:** Modifikasi dilakukan pada sel germinal (sperma atau ovum), sehingga perubahan genetik dapat diwariskan. Meskipun secara teoritis menjanjikan, pendekatan ini masih kontroversial dan dilarang di banyak yurisdiksi karena implikasi etis dan sosialnya (Fletcher and Anderson, 1992).

Badan Pengawas Obat dan Makanan Amerika Serikat (FDA) mendefinisikan terapi gen sebagai produk yang memberikan efek terapeutik melalui proses transkripsi dan/atau translasi dari materi genetik yang ditransfer, atau melalui integrasi ke dalam genom inang. Produk ini diberikan dalam bentuk asam nukleat, virus, atau mikroorganisme yang telah direkayasa secara genetik. Terapi gen dapat digunakan untuk memodifikasi sel secara langsung di dalam tubuh (in vivo), atau dilakukan terlebih dahulu di luar tubuh (ex vivo) sebelum sel dimasukkan kembali ke pasien. Perbedaan antara terapi gen somatik dan germline sangat penting secara hukum dan etis. Karena

terapi gen germline berpotensi mengubah sifat genetik populasi manusia secara turun-temurun, maka pendekatan ini masih dianggap kontroversial dan belum diizinkan untuk aplikasi klinis. Sebaliknya, terapi gen somatik dianggap lebih aman dan etis karena hanya berdampak pada individu yang menerima terapi, tanpa risiko pewarisan genetik yang tidak diinginkan(Wirth, Parker and Ylä-Herttua, 2013b).

2. Berdasarkan Mekanisme Aksi:

a. *Gene addition* (penambahan gen):

Menambahkan salinan gen normal ke dalam sel yang mengalami mutasi atau kehilangan fungsi genetik (Papapetrou and Schambach, 2016).

Terapi Gen untuk Penyakit Defisiensi Imun Primer (PID)

Selama lebih dari empat dekade, penyakit defisiensi imun primer (Primary Immune Deficiency Diseases/ PIDs) yang paling berat telah berhasil diobati melalui transplantasi sel punca hematopoietik alogenik (allogeneic hematopoietic stem cell transplantation). Namun, keberhasilan prosedur ini sangat bergantung pada ketersediaan donor yang cocok secara genetik, terutama saudara kandung yang memiliki kecocokan HLA(Notarangelo *et al.*, 2004). Tanpa donor yang cocok, risiko komplikasi imun seperti penyakit graft-versus-host (GVHD) meningkat secara signifikan.

Sebagai alternatif, terapi gen telah dikembangkan untuk memungkinkan transplantasi autologus, yaitu penggunaan sel punca milik pasien sendiri yang telah dikoreksi secara genetik. Melalui proses translasi riset dari laboratorium ke klinik dan kembali ke laboratorium (bench-to-bedside-and-back), para peneliti berhasil mengembangkan metode yang efisien untuk menambahkan salinan gen yang relevan ke dalam sel punca hematopoietik(Hatzimichael and Tuthill, 2010). Pendekatan ini telah menghasilkan terapi yang aman dan efektif untuk beberapa jenis PID, termasuk:

- 1) **Severe Combined Immune Deficiency (SCID)**
- 2) **Wiskott-Aldrich Syndrome**
- 3) **Chronic Granulomatous Disease**

Lebih lanjut, teknologi pengeditan gen (gene editing) yang baru berpotensi memperluas cakupan terapi gen terhadap jenis PID lainnya. Dengan kemampuan untuk memperbaiki gen endogen dan mempertahankan ekspresinya di bawah elemen regulasi alami, terapi ini menjadi sangat penting bagi gen-gen yang terlibat dalam proses seluler seperti pensinyalan, aktivasi, dan proliferasi(Doudna, 2020).

b. *Gene editing* (pengeditan gen):

Mengubah urutan DNA secara spesifik untuk memperbaiki mutasi atau mengatur ulang ekspresi gen. Teknologi seperti CRISPR-Cas9, TALEN, dan ZFN digunakan dalam pendekatan ini. Teknologi CRISPR-Cas9, TALEN, dan ZFN merupakan tiga pendekatan utama dalam terapi gen yang memungkinkan pengeditan DNA secara presisi untuk memperbaiki mutasi genetik penyebab penyakit. Ketiganya bekerja dengan prinsip dasar yang sama, yaitu mengenali urutan DNA target dan memotongnya menggunakan enzim nuklease, sehingga memungkinkan perbaikan atau modifikasi genetik oleh sistem perbaikan DNA sel(Shamshirgaran *et al.*, 2022). CRISPR-Cas9 berasal dari sistem imun bakteri dan menggunakan RNA pemandu (guide RNA) untuk mengarahkan enzim Cas9 ke lokasi spesifik dalam genom. Setelah DNA dipotong, sel dapat memperbaikinya melalui mekanisme non-homologous end joining (NHEJ) atau homology-directed repair (HDR), tergantung pada tujuan terapi. Teknologi ini sangat populer karena efisiensinya tinggi, desainnya sederhana, dan fleksibel untuk berbagai aplikasi(Daniel, Monnoye and Boulanger, 2013).

Sementara itu, TALEN (Transcription Activator-Like Effector Nucleases) menggunakan protein TAL yang dirancang untuk mengenali urutan DNA tertentu, dikombinasikan dengan nuklease FokI untuk memotong DNA. TALEN memiliki tingkat presisi yang sangat tinggi dan risiko efek samping yang lebih rendah dibandingkan CRISPR, namun desain dan produksinya lebih kompleks (Sprink, Metje and Hartung, 2015). ZFN (Zinc Finger Nucleases) adalah teknologi yang lebih awal dikembangkan, menggunakan domain zinc finger untuk mengenali triplet DNA dan juga mengandalkan FokI sebagai pemotong. Meskipun telah digunakan dalam beberapa uji klinis, ZFN memiliki keterbatasan dalam fleksibilitas desain dan potensi efek samping yang lebih tinggi (Petersen and Niemann, 2015).

Ketiga teknologi ini telah merevolusi bidang terapi gen dengan memungkinkan koreksi genetik yang sebelumnya tidak mungkin dilakukan. CRISPR-Cas9 saat ini menjadi pilihan utama dalam banyak penelitian dan aplikasi klinis karena kemudahan penggunaannya dan potensi terapeutik yang luas. TALEN dan ZFN tetap relevan untuk aplikasi yang membutuhkan presisi tinggi atau kondisi biologis tertentu. Dengan kemajuan teknologi dan bioinformatika, terapi gen berbasis editing genom diperkirakan akan menjadi pilar utama dalam pengobatan presisi masa depan (Gaj, Gersbach and Barbas, 2013).

c. *Gene silencing* (pembungkaman gen):

Menonaktifkan ekspresi gen yang menyebabkan patologi, misalnya dengan menggunakan RNA interference (RNAi) atau antisense oligonucleotides.

Interferensi RNA (RNAi): Mekanisme dan Perkembangannya

Pada tahun 1998, RNA beruntai ganda (double-stranded RNA) pertama kali ditemukan sebagai molekul efektor yang mampu menekan ekspresi gen di dalam

organisme model *Caenorhabditis elegans* (Fire et al., 1998). Penemuan ini menjadi titik awal revolusi dalam regulasi genetik berbasis RNA. Tak lama kemudian, fenomena serupa juga ditemukan pada tumbuhan dan mamalia (Hamilton dan Baulcombe, 1999), yang mengungkap keberadaan mekanisme baru bernama interferensi RNA (RNA interference/RNAi). Sejak saat itu, RNAi berkembang pesat menjadi salah satu alat paling kuat dan luas digunakan dalam studi fungsi gen. Selain sebagai alat riset, RNAi juga dikembangkan sebagai pendekatan terapeutik baru untuk menargetkan gen penyebab penyakit secara spesifik. RNAi didefinisikan sebagai mekanisme penghambatan ekspresi gen secara pasca-transkripsi yang dimediasi oleh molekul RNA kecil (Kim and Rossi, 2008). Molekul ini mencakup:

- 1) **microRNA (miRNA):** RNA kecil endogen yang terbentuk secara alami dalam sel.
- 2) **small interfering RNA (siRNA) dan short hairpin RNA (shRNA):** RNA eksogen yang dapat dirancang secara sintetik untuk tujuan terapeutik.

RNA kecil beruntai ganda ini akan bergabung dengan kompleks silencing yang disebut RNA-Induced Silencing Complex (RISC). Di dalam RISC, kedua untai RNA dipisahkan, dan salah satu untai akan berfungsi sebagai pemandu untuk mengenali urutan mRNA target yang komplementer atau hampir komplementer. Setelah pengenalan terjadi, ekspresi gen akan ditekan melalui dua mekanisme utama: Degradasi mRNA target dan Inhibisi translasi mRNA (Kim and Rossi, 2008). Mekanisme ini memungkinkan pengendalian ekspresi gen secara spesifik dan efisien, menjadikan RNAi sebagai platform penting dalam terapi gen dan pengobatan berbasis molekuler.

3. Berdasarkan Tujuan Terapeutik:

- a. **Korektif:** Memulihkan fungsi genetik normal.
- b. **Profilaksis:** Mencegah ekspresi genetik yang berpotensi patologis.

- c. **Enhancement:** Meningkatkan fungsi biologis tertentu (masih dalam ranah eksperimental dan etis).

C. Komponen Utama Terapi Gen

Agar terapi gen dapat berhasil, diperlukan integrasi beberapa komponen kunci:

1. Gen Terapeutik:

Gen yang akan dimasukkan atau dimodifikasi, biasanya berupa cDNA dari gen normal. Dalam eksplorasi mendalam biologi molekuler modern, DNA komplemen (complementary DNA/cDNA) telah menjadi elemen inti yang mendorong perkembangan riset multidimensional berkat karakteristiknya yang unggul. Seiring dengan semakin dalamnya kajian terhadap jaringan regulasi ekspresi gen, kerangka genomik fungsional, dan mekanisme patologi molekuler berbagai penyakit, keterbatasan pendekatan riset tradisional dalam menghadapi kompleksitas proses kehidupan menjadi semakin nyata. Sebagai produk dari proses transkripsi balik mRNA, cDNA mampu merepresentasikan secara akurat dan spesifik gambaran menyeluruh ekspresi gen dalam sel pada kondisi fisiologis maupun patologis tertentu. Hal ini menjadikan cDNA sebagai titik masuk yang sangat penting untuk mengungkap berbagai peristiwa molekuler kompleks dalam proses kehidupan. cDNA telah digunakan secara luas dan mendalam dalam berbagai bidang akademik terdepan, seperti riset dasar ilmiah, kedokteran translasional, dan pengembangan bioteknologi, menunjukkan nilai penting yang tidak tergantikan. Secara khusus, teknologi sekuensing transkriptom berbasis cDNA telah menjadi alat yang sangat kuat untuk mempelajari pola ekspresi gen dan keragaman transkrip secara sistematis(Xiang and Chen, 2000).

Peran Teknologi cDNA dalam Penapisan Obat dan Pengembangan Terapi Gen

a. Penapisan dan Evaluasi Obat

Pustaka cDNA (cDNA library) merupakan alat penting dalam proses penapisan obat (drug screening). Dalam pendekatan ini, senyawa obat diuji pada model sel atau hewan yang mengekspresikan cDNA spesifik. Tujuannya adalah untuk mengamati bagaimana obat memengaruhi ekspresi gen dan fungsi sel, sehingga dapat diidentifikasi senyawa yang memiliki potensi terapeutik. Selain untuk penapisan, teknologi cDNA juga digunakan dalam evaluasi efektivitas dan keamanan obat. Dalam uji klinis, profil ekspresi cDNA pasien dianalisis sebelum dan sesudah pemberian obat. Analisis ini memungkinkan peneliti menilai apakah obat memberikan efek terapeutik yang diharapkan serta mendeteksi kemungkinan efek toksik atau samping yang tidak diinginkan. Dengan demikian, cDNA menjadi alat molekuler yang sangat berguna dalam validasi farmakodinamik dan farmakogenomik suatu terapi.

b. Pengembangan Obat Terapi Gen

cDNA juga merupakan komponen fundamental dalam pengembangan obat berbasis terapi gen. Prinsip dasar terapi gen adalah memasukkan gen normal atau gen terapeutik ke dalam tubuh pasien untuk memperbaiki gen yang rusak atau mengatur ekspresi gen yang abnormal. Proses ini dilakukan dengan mengkloning cDNA dari gen terapeutik ke dalam vektor yang sesuai, baik vektor virus (seperti lentivirus atau AAV) maupun vektor non-virus (seperti nanopartikel atau liposom), kemudian dimasukkan ke dalam sel target. Dalam terapi gen untuk penyakit defisiensi imun hereditas, misalnya, cDNA dari gen normal yang berperan dalam sistem imun dimasukkan ke dalam sel punca hematopoietik pasien. Dengan cara ini, sel-sel yang dihasilkan dari sel punca tersebut dapat mengekspresikan gen normal dan

memulihkan fungsi imun yang terganggu(DeRisi *et al.*, 1996).

c. Masa Depan Teknologi cDNA

Seiring dengan kemajuan teknologi, peran cDNA dalam riset penyakit dan pengembangan obat diperkirakan akan semakin besar. Integrasi teknologi kecerdasan buatan (AI) dan pembelajaran mesin (machine learning) memungkinkan analisis dan interpretasi data cDNA secara lebih akurat dan efisien. Hal ini akan membantu mengungkap mekanisme penyakit yang lebih kompleks, mengidentifikasi target obat baru, dan mendorong pengembangan pengobatan yang lebih personal dan presisi.

Tren Masa Depan Teknologi cDNA:

Sequencing, Analisis Sel Tunggal, dan Integrasi Genomik. Teknologi cDNA terus berkembang dan diperkirakan akan memainkan peran yang semakin penting dalam riset biomedis dan pengembangan pengobatan presisi. Beberapa tren utama yang akan membentuk masa depan teknologi ini meliputi:

1) Kombinasi cDNA dengan Super High-Throughput Sequencing

Dengan semakin menurunnya biaya sekuensing dan pesatnya kemajuan teknologi, platform sekuensing berkapasitas sangat tinggi (super high-throughput sequencing) akan semakin terintegrasi dengan teknologi cDNA. Jika metode konvensional hanya mampu menganalisis beberapa sampel dalam satu waktu, maka platform masa depan akan memungkinkan ribuan sampel cDNA disekuensi secara simultan dalam waktu singkat. Hal ini akan meningkatkan efisiensi riset secara drastis, terutama dalam studi profil ekspresi gen berskala besar(Fox, Filichkin and Mockler, 2009).

Melalui pendekatan ini, peneliti dapat memahami perbedaan ekspresi gen antar berbagai kondisi sel secara komprehensif. Hasilnya akan mempercepat identifikasi penanda penyakit baru dan target terapeutik, serta mendorong pengembangan pengobatan yang lebih personal dan berbasis molekuler.

2) Aplikasi Mendalam Analisis cDNA Sel Tunggal

Teknologi analisis cDNA pada tingkat sel tunggal (single-cell cDNA analysis) akan semakin luas digunakan. Dalam sistem biologis, terdapat heterogenitas yang signifikan antar sel individu, yang sering kali tidak terdeteksi oleh metode analisis populasi sel secara konvensional. Analisis cDNA sel tunggal memungkinkan pengungkapan pola ekspresi gen unik dari setiap sel, memberikan perspektif baru yang sangat mendalam terhadap proses diferensiasi sel, perkembangan jaringan, dan mekanisme molekuler penyakit.

Teknologi ini sangat penting dalam memahami dinamika seluler pada kondisi fisiologis maupun patologis, termasuk kanker, imunologi, dan neurobiologi.

3) Integrasi dengan Teknologi Whole Genome Sequencing (WGS)

Perkembangan pesat teknologi sekuensing seluruh genom (Whole Genome Sequencing/WGS) membuka peluang baru dalam riset cDNA (Balloux *et al.*, 2018). Dengan membandingkan urutan cDNA dengan data genom lengkap, peneliti dapat:

- a) Mengidentifikasi secara akurat gen asal dari transkrip yang diamati
- b) Menemukan kejadian splicing alternatif baru dan RNA non-koding
- c) Memperluas pemahaman terhadap kompleksitas ekspresi gen

Pendekatan ini mendukung analisis multi-omik yang menggabungkan data genomik, transkriptomik, dan epigenomik, sehingga menjadi alat yang sangat kuat dalam riset pengobatan presisi dan genomik fungsional (Balloux *et al.*, 2018).

2. Vektor Penghantar:

Sistem yang digunakan untuk membawa gen terapeutik ke dalam sel target. Vektor dapat berupa virus (misalnya lentivirus, adenovirus, AAV) (Merentie *et al.*, 2016) atau non-virus (misalnya nanopartikel, liposom) (Al-Jamal and Kostarelos, 2007). Lentivirus, adenovirus, dan AAV (Adeno-Associated Virus) merupakan tiga jenis vektor virus yang paling umum digunakan dalam terapi gen untuk mengantarkan materi genetik ke dalam sel target. Masing-masing memiliki karakteristik biologis dan aplikasi klinis yang berbeda. Lentivirus adalah bagian dari keluarga retrovirus yang mampu menginfeksi sel yang sedang maupun tidak sedang membelah. Vektor ini bekerja dengan cara menyisipkan gen terapeutik ke dalam genom sel inang secara permanen, sehingga cocok untuk terapi gen yang membutuhkan ekspresi jangka panjang, seperti pada penyakit genetik kronis atau gangguan imun. Namun, karena sifat integratifnya, lentivirus memiliki risiko aktivasi gen onkogen jika integrasi terjadi di lokasi genetik yang tidak diinginkan (Tang, Kuhen and Wong-Staal, 1999).

Adenovirus, di sisi lain, adalah virus DNA beruntai ganda yang tidak menyisipkan gen ke dalam genom, melainkan mengekspresikan gen terapeutik secara episomal di dalam inti sel. Vektor ini memiliki kapasitas muatan genetik yang besar dan efisiensi transduksi tinggi, tetapi juga memiliki tingkat imunogenisitas yang tinggi, sehingga lebih cocok untuk terapi jangka pendek atau aplikasi seperti vaksin berbasis vektor (Russell, 2000). Sementara itu, AAV merupakan virus kecil yang tidak patogen dan sangat populer dalam terapi gen karena profil keamanannya yang tinggi dan imunogenisitasnya yang rendah. AAV umumnya

tidak mengintegrasikan gen ke dalam genom, tetapi tetap memberikan ekspresi jangka panjang melalui episom. Meskipun kapasitas muatan genetiknya terbatas, AAV sangat efektif untuk terapi gen pada penyakit retina, hemofilia, dan gangguan neurologis, terutama karena kemampuan serotipe AAV untuk menargetkan jaringan tertentu secara spesifik (Phase I, Phase II and Phase III, 2021).

Secara keseluruhan, pemilihan vektor virus dalam terapi gen sangat bergantung pada tujuan terapeutik, jenis sel target, durasi ekspresi yang diinginkan, dan pertimbangan keamanan. Ketiga vektor ini telah memainkan peran penting dalam kemajuan terapi gen modern dan terus dikembangkan untuk meningkatkan efisiensi, spesifisitas, dan keamanan klinisnya.

Nanopartikel dan liposom memiliki hubungan yang erat dengan terapi gen karena keduanya berfungsi sebagai sistem penghantaran non-virus yang efektif untuk membawa materi genetik ke dalam sel target. Dalam konteks terapi gen, pendekatan non-virus menjadi alternatif penting terhadap vektor virus seperti lentivirus, adenovirus, dan AAV, terutama karena pertimbangan keamanan, fleksibilitas desain, dan kapasitas muatan genetik. Nanopartikel, yang berukuran nano dan dapat dirancang dari berbagai bahan seperti lipid, polimer, atau logam, mampu melindungi DNA atau RNA terapeutik dari degradasi enzimatik dan mengantarkannya secara spesifik ke jaringan sasaran. Teknologi ini memungkinkan modifikasi permukaan untuk meningkatkan targeting seluler dan mengurangi efek samping sistemik (Meng, Niu and Li, 2023).

Sementara itu, liposom adalah vesikel berbentuk bola yang terdiri dari bilayer lipid mirip membran sel, dan dapat mengenkapsulasi molekul genetik seperti cDNA, siRNA, atau plasmid DNA. Liposom bekerja dengan cara menyatu dengan membran sel atau melalui endositosis, sehingga materi genetik dapat masuk ke dalam sitoplasma dan menjalankan fungsinya. Keduanya – nanopartikel dan

liposom—telah digunakan dalam berbagai aplikasi terapi gen, termasuk pengobatan kanker, penyakit genetik, dan vaksin berbasis mRNA. Keunggulan utama dari sistem non-virus ini adalah rendahnya imunogenisitas, kemudahan produksi skala besar, dan kemampuan untuk disesuaikan dengan berbagai jenis terapi. Dengan kemajuan teknologi bioengineering dan integrasi kecerdasan buatan, sistem penghantaran berbasis nanopartikel dan liposom diperkirakan akan memainkan peran yang semakin besar dalam pengembangan terapi gen yang aman, efisien, dan personal (Meng, Niu and Li, 2023).

- a. **Sel target:** Sel yang menjadi sasaran terapi, bisa berupa sel *in vivo* (langsung dalam tubuh) atau sel *ex vivo* (dimodifikasi di luar tubuh lalu dikembalikan).
- b. **Regulasi ekspresi gen:** Elemen seperti promotor, enhancer, dan insulator digunakan untuk mengatur tingkat dan spesifisitas ekspresi gen terapeutik. Regulasi ekspresi gen memiliki peran krusial dalam terapi gen karena keberhasilan terapi tidak hanya bergantung pada penyisipan gen terapeutik, tetapi juga pada bagaimana gen tersebut diekspresikan secara tepat dalam sel target—baik dari segi waktu, lokasi, maupun tingkat ekspresinya. Elemen-elemen pengatur seperti promotor, enhancer, dan insulator digunakan untuk memastikan bahwa gen yang dimasukkan dapat berfungsi secara optimal tanpa menimbulkan efek samping, seperti ekspresi berlebihan atau aktivasi gen yang tidak diinginkan. Regulasi ini juga memungkinkan ekspresi gen spesifik jaringan atau kondisi tertentu, sehingga meningkatkan efisiensi dan keamanan terapi. Dalam pendekatan terapi gen modern, kontrol ekspresi gen yang presisi menjadi kunci untuk mencapai pengobatan yang efektif, minim risiko, dan sesuai dengan prinsip pengobatan presisi.

D. Prinsip Biologis Terapi Gen

Terapi gen bekerja berdasarkan prinsip bahwa ekspresi genetik menentukan fungsi seluler. Dengan memodifikasi gen, kita dapat:

1. Mengganti gen yang rusak atau hilang
2. Menghambat ekspresi gen yang menyebabkan penyakit
3. Menginduksi ekspresi gen baru yang bersifat terapeutik

Efektivitas terapi gen sangat bergantung pada kemampuan untuk mencapai ekspresi gen yang stabil, spesifik terhadap jaringan target, dan minim efek samping imunologis atau genotoksik. Efektivitas terapi gen sangat ditentukan oleh tiga pilar utama: stabilitas ekspresi gen, spesifisitas jaringan target, dan keamanan biologis. Pertama, ekspresi gen yang stabil memastikan bahwa gen terapeutik yang disisipkan dapat berfungsi dalam jangka panjang tanpa kehilangan aktivitasnya, yang penting untuk penyakit kronis atau genetik yang memerlukan koreksi permanen. Kedua, spesifisitas terhadap jaringan target sangat krusial agar gen hanya diekspresikan di sel atau organ yang membutuhkan, sehingga menghindari efek samping akibat ekspresi di jaringan non-target. Hal ini dapat dicapai melalui penggunaan promotor spesifik jaringan atau sistem pengantaran yang terarah. Ketiga, terapi gen harus meminimalkan risiko imunogenisitas—yakni reaksi imun terhadap vektor atau produk genetik asing—serta genotoksisitas, seperti integrasi gen ke lokasi genom yang dapat memicu mutasi atau kanker. Oleh karena itu, desain vektor, pemilihan metode pengantaran (seperti AAV, lentivirus, atau nanopartikel), dan strategi regulasi ekspresi gen menjadi aspek teknis yang sangat penting dalam menjamin keberhasilan dan keamanan terapi gen (Mulligan, 1993).

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Jamal, W. and Kostarelos, K. (2007) 'Liposome-nanoparticle hybrids for multimodal diagnostic and therapeutic applications', *Nanomedicine*, 2(1), pp. 85–98.
- Balloux, F. *et al.* (2018) 'From theory to practice: translating whole-genome sequencing (WGS) into the clinic', *Trends in microbiology*, 26(12), pp. 1035–1048.
- Daniel, N.N., Monnoye, M. and Boulanger, L. (2013) 'ZFN, TALEN, CRISPR/Cas9. The new tool of fonctionnal genomic', in. 36. *ECFS Basic Science Conference" New Fontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis"*, pp. 1-p.
- DeRisi, J. *et al.* (1996) 'Use of a cDNA microarray to analyse gene expression', *Nat. genet*, 14, pp. 457–460.
- Doudna, J.A. (2020) 'The promise and challenge of therapeutic genome editing', *Nature*, 578(7794), pp. 229–236.
- Fletcher, J.C. and Anderson, W.F. (1992) 'Germ-line Gene Therapy: A New Stage of Debate', *Law, Medicine and Health Care*. 2021/04/29 edn, 20(1-2), pp. 26–39. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1748-720X.1992.tb01171.x>.
- Fox, S., Filichkin, S. and Mockler, T.C. (2009) 'Applications of ultra-high-throughput sequencing', *Plant Systems Biology*, pp. 79–108.
- Gaj, T., Gersbach, C.A. and Barbas, C.F. (2013) 'ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering', *Trends in biotechnology*, 31(7), pp. 397–405.
- Hatzimichael, E. and Tuthill, M. (2010) 'Hematopoietic stem cell transplantation', *Stem cells and cloning: advances and applications*, pp. 105–117.
- Kim, D.H. and Rossi, J.J. (2008) 'RNAi mechanisms and applications', *Biotechniques*, 44(5), pp. 613–616.

- Ledley, F.D. (1996) 'Pharmaceutical Approach to Somatic Gene Therapy', *Pharmaceutical Research*, 13(11), pp. 1595–1614. Available at: <https://doi.org/10.1023/A:1016420102549>.
- Meng, Y., Niu, X. and Li, G. (2023) 'Liposome nanoparticles as a novel drug delivery system for therapeutic and diagnostic applications', *Current Drug Delivery*, 20(1), pp. 41–56.
- Merentie, M. *et al.* (2016) 'Efficacy and safety of myocardial gene transfer of adenovirus, adeno-associated virus and lentivirus vectors in the mouse heart', *Gene therapy*, 23(3), pp. 296–305.
- Mulligan, R.C. (1993) 'The basic science of gene therapy', *Science*, 260(5110), pp. 926–932.
- Notarangelo, L. *et al.* (2004) 'Primary immunodeficiency diseases: an update', *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 114(3), pp. 677–687.
- Papapetrou, E.P. and Schambach, A. (2016) 'Gene Insertion Into Genomic Safe Harbors for Human Gene Therapy', *Molecular Therapy*, 24(4), pp. 678–684. Available at: <https://doi.org/10.1038/mt.2016.38>.
- Petersen, B. and Niemann, H. (2015) 'Advances in genetic modification of farm animals using zinc-finger nucleases (ZFN)', *Chromosome Research*, 23(1), pp. 7–15.
- Pfeifer, A. and Verma, I.M. (2001) 'Gene Therapy: Promises and Problems', *Annual Review of Genomics and Human Genetics*. Annual Reviews. Available at: <https://doi.org/10.1146/annurev.genom.2.1.177>.
- Phase, I., IIPhase II, I.P. and Phase III, I. (2021) 'The clinical landscape for AAV gene therapies', *nature reviews| Drug DIScoVery*, 20, p. 173.
- Russell, W. (2000) 'Update on adenovirus and its vectors', *Journal of general virology*, 81(11), pp. 2573–2604.

- Shamshirgaran, Y. *et al.* (2022) 'Tools for efficient genome editing; ZFN, TALEN, and CRISPR', *Applications of genome modulation and editing*, pp. 29–46.
- Sprink, T., Metje, J. and Hartung, F. (2015) 'Plant genome editing by novel tools: TALEN and other sequence specific nucleases', *Current opinion in biotechnology*, 32, pp. 47–53.
- Tang, H., Kuhen, K.L. and Wong-Staal, F. (1999) 'Lentivirus replication and regulation', *Annual review of genetics*, 33(1), pp. 133–170.
- Verma, I.M. and Somia, N. (1997) 'Gene therapy - promises, problems and prospects', *Nature*, 389(6648), pp. 239–242. Available at: <https://doi.org/10.1038/38410>.
- Wirth, T., Parker, N. and Ylä-Herttuala, S. (2013a) 'History of gene therapy', *50 years of gene therapy - a contribution of Waclaw Szybalski to science and humanity*, 525(2), pp. 162–169. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.03.137>.
- Wirth, T., Parker, N. and Ylä-Herttuala, S. (2013b) 'History of gene therapy', *50 years of gene therapy - a contribution of Waclaw Szybalski to science and humanity*, 525(2), pp. 162–169. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.03.137>.
- Xiang, C.C. and Chen, Y. (2000) 'cDNA microarray technology and its applications', *Biotechnology Advances*, 18(1), pp. 35–46.

BAB

7

BIOTEKNOLOGI TERAPI SEL PUNCA

Dr. dr. Mutiara Indah Sari, M.Kes.

A. Pendahuluan

Sel punca (stem cells) adalah sel prekursor jaringan imatur yang mampu memperbarui diri secara tak terbatas (*self-renewal*), membentuk populasi sel klonal, dan berdiferensiasi menjadi beberapa garis keturunan/ sel fungsional di dalam tubuh. Dua sifat ini menjadikan sel punca sangat penting dalam proses perbaikan jaringan yang rusak dan pembentukan jaringan baru (Vizoso, et al., 2017).

Kemajuan bioteknologi modern memungkinkan pengembangan sel punca dalam skala laboratorium melalui teknik kultur dan manipulasi genetik yang presisi. Teknologi seperti *three-dimensional (3D) culture systems*, bioprinting, dan *genome editing* berbasis *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR)-Cas9* telah memberikan kemampuan baru dalam meniru lingkungan mikro fisiologis jaringan dan memperluas potensi aplikasi klinik. Kemajuan pesat bioteknologi sel punca dalam dua dekade terakhir telah menjadikan sel punca salah satu pilar utama dalam terapi berbagai penyakit (Vizoso, et al., 2017).

Bab ini berfokus pada penerapan sel punca di bidang kesehatan. Pembahasan bioteknologi terapi sel punca pada bab ini mencakup klasifikasi, mekanisme kerja (konsep "*homing*") dan prinsip dasar penggunaannya dalam terapeutik, serta contoh aplikasinya dalam terapi penyakit.

B. Klasifikasi Sel Punca Dewasa

Sel punca dapat dibagi menjadi tiga kategori: (i) batang embriyonik sel yang berasal dari embrio tahap awal; (ii) sel punca berpotensi majemuk yang diinduksi dan (iii) sel punca dewasa termasuk sel punca hematopoietik, sel punca saraf dan sel punca mesenkimal (Vizoso, et al., 2017).

1. Sel Punca Mesenkimal

Setiap organ berpotensi memiliki sumber sel punca mesenkim, yang disebut sel punca mesenkimal (SPM) residen. Plasenta, darah tali pusat, dan cairan ketuban saat lahir serta jaringan adiposa atau pulpa gigi bayi setelah lahir telah terbukti menjadi sumber SPM yang praktis dan mudah diakses (Rizvanov, et al., 2016). SPM adalah sel stroma turunan mesoderm yang menetap. Sel-sel ini berfungsi sebagai prekursor jaringan ikat non-hematopoietik yang menghasilkan potensi terapi regeneratifnya. Namun, ketertarikan klinis pada terapi sel SPM semakin kuat karena sifat imunomodulator dan antiinflamasi. SPM manusia atau mencit efektif dalam mencegah kelangsungan hidup penyakit *graft-versus-host*, artritis reumatoid, ensefalomielitis autoimun eksperimental, kolitis dan model eksperimental sepsis (Souza-Moreira, et al., 2019)

Kemajuan terbaru dalam memahami sifat imunomodulator SPM telah memberikan wawasan baru tentang efek manfaatnya pada modulasi monosit/makrofag. Dengan demikian, plastisitas makrofag yang terkenal merupakan komponen penting untuk perbaikan dan regenerasi jaringan (Souza-Moreira, et al., 2019).

Terapi sel punca sebagai pendekatan baru untuk memodulasi respons imun, merupakan formulasi obat alternatif yang menggunakan sel hidup daripada satu molekul saja. Pemberian sel punca dewasa telah dievaluasi pada beberapa penyakit yang dimediasi oleh imunitas. Injeksi sel stroma multipoten sumsum tulang yang biasa disebut sebagai sel punca mesenkim (SPM), pada tikus dengan sepsis mengurangi mortalitas dan meningkatkan

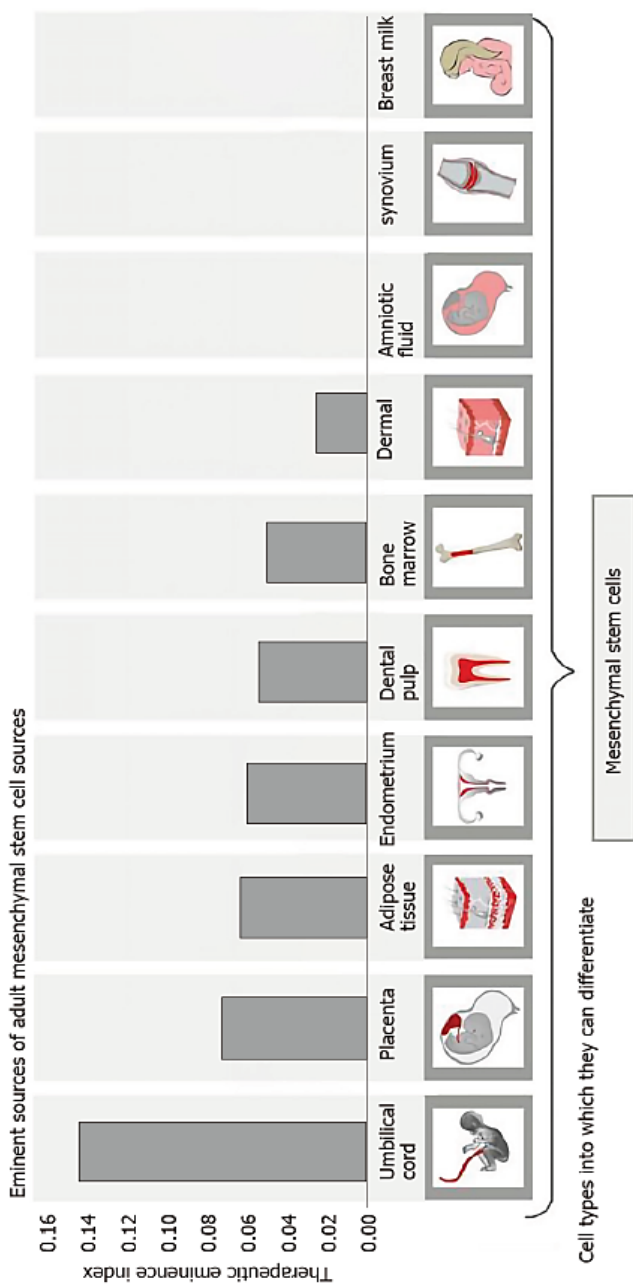
fungsi organ. SPM adalah fibroblas heterogen yang dapat diisolasi dari hampir semua sumber jaringan manusia, seperti sumsum tulang, adiposa, otot rangka, jantung, tali pusat, dan plasenta. Sel mirip SPM baru-baru ini telah dihasilkan dari sel punca yang memiliki kapasitas untuk ekspansi sel yang signifikan dan diferensiasi mesodermal. Jenis SPM yang berasal dari sel punca embrio manusia ini dikenal sebagai *human embryonic stem cell derived-mesenchymal stem cell* (hESC-MSC). Potensi terapi *embryonic stem cell derived-mesenchymal stem cell* (ESC-MSC) pada model tikus cedera paru akut yang diinduksi LPS menunjukkan bahwa ESC-MSC secara nyata menurunkan inflamasi yang diinduksi LPS. SPM membentuk relung regeneratif dengan mengeluarkan mediator bioaktif (*secretome*) dan memodulasi respons imun (Jahandideh, et al., 2018).

SPM memiliki lokalisasi yang tampak berada di mana-mana dan telah diisolasi dari jaringan dewasa lainnya seperti jaringan adiposa, kulit, paru-paru, membran sinovial, pulpa gigi, mukosa penciuman hidung, ASI, jaringan kulit kepala, otot, periosteum, limbus kornea, darah tepi, darah endometrium dan menstruasi, dan serviks uterus, serta dari janin / jaringan neonatal. Semua *mesenchymal stem cell* (MSC) ini dapat diisolasi dan diperluas dari stroma berbagai jaringan, sumsum tulang dan lemak subkutan menjadi sumber yang lebih disukai (Vizoso, et al., 2017).

Beberapa penelitian tentang sel punca yang diturunkan dari sumsum tulang telah dilaporkan dapat mengobati penyakit inflamasi. Namun, pengambilan sumsum tulang adalah prosedur yang menyakitkan dan jumlah SPM yang rendah terdapat di sumsum yang diambil, dapat menjadi beban pada beberapa pasien dengan komplikasi yang berat. Jaringan adiposa dalam jumlah besar dapat diperoleh dari aspirasi lemak dan juga mengandung SPM dalam jumlah besar yang dapat dengan mudah diperluas secara *in vitro* untuk menghasilkan dosis yang efektif secara klinis (Shin, et al., 2013).

International Society of Cellular Therapy menetapkan bahwa SPM harus mengikuti tiga kriteria: (1) SPM harus mengikuti bentuk, (2) SPM harus mengekspresikan beberapa penanda permukaan sel, seperti CD105, CD90, dan CD73, tetapi tidak boleh mengekspresikan penanda lain, termasuk CD45, CD34, CD14, atau CD11b, dan (3) SPM harus memiliki kapasitas untuk berdiferensiasi menjadi garis turunan mesenkim (osteoblas, adiposit, dan kondroblas) dalam kondisi in vitro (Guillamat-Prats dan Artigas, 2019).

SPM memiliki tingkat plastisitas yang tinggi dan dapat dibedakan menjadi berbagai garis keturunan sel, tetapi tidak memiliki plastisitas sel punca embrionik (SPE). Namun, SPM memiliki beberapa keuntungan karena isolasi yang mudah dan penyebaran yang sangat besar dalam budaya dan juga karena penggunaannya tidak melibatkan masalah etika yang terkait dengan penggunaan SPE. SPM tidak bersifat imunogenik dan memiliki kemampuan bawaan untuk menghindari deteksi oleh sistem imun penerima karena mereka mengekspresikan tingkat menengah dari *major histocompatibility complex* (MHC)-I tetapi tidak mengekspresikan MHC-II (Guillamat-Prats dan Artigas, 2019).



Gambar 7.1 Sumber utama sel punca mesenkimal dan indeks terapi
(Al-Dhamin, et al., 2020)

Sekretom Sel Punca Mesenkimal

Media yang dikondisikan sel punca, atau secara alternatif dinamai sekretom atau eksosom sebagai alternatif yang efektif. SPM memediasi efek terapeutik mereka dengan sekresi dan pelepasan molekul trofik yang dikenal sebagai sekretom (Gwam, et al., 2021). Sekretom sel punca mesenkimal-*conditioned media* (SPM-CM) umumnya dipengaruhi oleh kondisi seperti nomor bagian sel, kepadatan sel, jenis media kultur, durasi kultur (Shrestha, et al., 2013; Bhang, et al., 2014)

Sekretom didefinisikan sebagai molekul dan faktor biologis yang disekresikan dari sel ke dalam ruang ekstraseluler. Faktor sekretori ini memainkan peran penting dalam banyak fungsi biologis, termasuk homeostasis, perkembangan, pensinyalan, imunomodulasi, inflamasi, angiogenesis, apoptosis, proteolisis, adhesi, dan matriks ekstraseluler. Sekretom terdiri dari berbagai protein serum, faktor pertumbuhan, faktor angiogenik, hormon, sitokin, protein matriks ekstraseluler, protease, mediator lipid, dan materi genetik (Daneshmandi, et al., 2020).

Sekretom SPM terbuat dari kedua protein yang dapat larut, termasuk spektrum luas dari sitokin, kemokin, faktor pertumbuhan dan EV berukuran mikro dan nano. Setelah dilepaskan, EV dan protein terlarut berinteraksi dengan sel target (dengan interaksi ligan-reseptor atau dengan internalisasi) dan memodulasi respons seluler. Secara rinci, sekretom dapat mengaktifkan sel induk endogen dan sel progenitor, menekan apoptosis, mengatur respon inflamasi, merangsang remodeling matriks ekstraseluler dan angiogenesis, mengurangi fibrosis dan menengahi kemoatraksi (Vardaridou-Minasian, et al., 2020).

Penelitian terbaru telah menunjukkan bahwa *mesenchymal stem cell derived extracellular vesicle* (MSC-EV) memberikan efek menguntungkan pada model penyakit yang berbeda termasuk cedera iskemia/ reperfusion miokard, penyembuhan luka, cedera ginjal, penyakit graft versus host,

stroke dan sepsis. *Extracellular vesicle* (EV) adalah struktur membran yang disekresikan, menutupi berbagai sub tipe seperti eksosom, mikrovesikel atau badan apoptosis (Vardieridou-Minasian, et al., 2020).

EV menggunakan banyak fungsinya yang bertindak sebagai pertukaran antar sel, mengangkut protein, *ribonucleic acid* (RNA), lipid dan karbohidrat antar sel. Komposisi kargo spesifik EV sebagian besar ditentukan oleh jaringan/ jenis sel tempat mereka berada. Laporan tentang efek menguntungkan dari MSC-EV pada inflamasi dan perbaikan jaringan telah memicu minat yang signifikan terhadap penerapan MSC-EV sebagai terapi tanpa sel. Terapi berbasis MSC-EV memiliki beberapa keunggulan dibandingkan terapi seluler. EV sebagai pilihan terapeutik seharusnya tidak begitu rentan SPM untuk perubahan yang tidak diinginkan akibat injeksi ke dalam lingkungan inflamasi jaringan yang terluka (Vardieridou-Minasian, et al., 2020).

2. Sel Punca Hematopoietik

Sel punca hematopoietik (SPH) sebagai sel progenitor multipoten yang dapat diturunkan menjadi berbagai jenis sel darah. SPH ditemukan dalam sel mononuklear darah perifer, sumsum tulang, atau darah tali pusat. Isolasi dan kultur SPH yang berasal dari sel darah perifer mononuklear dan sumsum tulang harus mengekspresikan penanda CD73, CD90, atau CD105, dan tidak mengekspresikan penanda CD14, CD34, CD45. SPH selanjutnya mengubah profil sekresi sitokin dari sel NK, sel dendritik, dan sel *T-naive* dan efektor untuk menginduksi fenotipe yang lebih progresif dan anti-inflamasi (Purwati, et al., 2020).

SPH yang ditemukan di sumsum tulang, dapat diinduksi secara terpisah menjadi beberapa jalur diferensiasi garis keturunan (Caplan, 2015). SPH mungkin adalah jenis sel punca terbaik dengan aplikasi skala besar untuk pengobatan berbagai penyakit. SPH mengubah profil sekresi sitokin dari sel NK, sel dendritik, sel *T-naive* dan efektor untuk menginduksi a fenotipe yang lebih progresif dan

antiinflamasi, menurunkan sekresi TNF- α dan IFN- γ sebagai sitokin pro-inflamasi, sedangkan IL-4 dan IL-10 lebih distimulasi secara supresif. Faktor lain juga mungkin terlibat, seperti IL-6, IL-10, TGF- β 1, faktor pertumbuhan hepatosit, oksida nitrat, PGE2, dan kemungkinan indoleamin 2, 3-dioksigenase (Purwati, et al., 2020).

Kerusakan atau pelepasan SPH dari konteks sumsum tulang asli dapat menyebabkan hematopoiesis terhambat dan diferensiasi yang tidak menentu sehingga transplantasi SPH biasanya digunakan untuk mengobati gangguan darah dan sistem kekebalan dan terapi kemoradiasi (Gilchrist dan Harley 2020).

C. Konsep "Homing" Sel Punca

Potensi terapeutik sel punca dapat dikaitkan dengan tiga mekanisme aksi utama, yang pertama adalah "homing", di mana sel punca yang dikelola secara sistematis bermigrasi ke fokus cedera akut karena gradien kimiawi. Migrasi ke jaringan target terjadi melalui proses yang mirip dengan migrasi leukosit. Kemoatraksi dimediasi oleh reseptor permukaan sel seperti reseptor kemokin. Meskipun mekanisme yang tepat dari interaksi sel punca-endotel di situs target tidak mapan, integrin dan selektin memediasi interaksi ini. Transmigrasi sel punca ke fokus cedera terjadi di seluruh endotel melalui jalur mirip leukosit yang melibatkan *vascular cell adhesion molecule 1* (VCAM-1) dan *G-protein-coupled receptor signaling* (Vizoso, et al., 2017)

Semua sel punca menjadi "homing" bagi situs jaringan cedera, kerusakan, atau peradangan. Mekanismenya untuk proses ini belum digambarkan, tetapi sejak permulaan proses regeneratif melibatkan gangguan sel punca, mungkin gangguan seperti itu melepaskan atau mengungkap antigen yang membantu masuk lokalisasi sel punca. Endotel vaskular sel mungkin memainkan peran penting dalam menarik regeneratif ini sel ke situs cedera (Caplan, 2015).

D. Aplikasi Klinis Sel Punca pada Terapi Penyakit

1. Sel Punca pada Penyakit Degeneratif

Penyakit degeneratif merupakan kelompok penyakit kronik yang ditandai oleh kerusakan progresif jaringan, penurunan fungsi seluler, dan kapasitas regeneratif yang terbatas. Perkembangan terapi sel punca (stem cell therapy) telah menjadi strategi intervensi biologis yang menjanjikan untuk memperbaiki struktur dan fungsi jaringan yang mengalami degenerasi. Sel punca memiliki kemampuan diferensiasi multipoten, aktivitas imunomodulator, serta kapasitas homing ke lokasi cedera, juga menyediakan sumber sel autologous tak terbatas yang dapat diarahkan menjadi tipe sel spesifik. Pendekatan ini didukung oleh sejumlah penelitian translasi yang menunjukkan perbaikan struktur dan fungsi jaringan pada berbagai penyakit degeneratif (Trounson & McDonald, 2015; Stoltz, et al., 2015). Beberapa penelitian efek terapi SP pada kelainan degeneratif diuraikan di bawah ini.

a. Terapi Sel Punca pada Osteoarthritis

Osteoarthritis merupakan penyakit degeneratif sendi yang ditandai hilangnya kartilago hialin, perubahan tulang subkondral, dan inflamasi kronik tingkat rendah. Kerusakan ini sulit diperbaiki secara spontan karena kemampuan regenerasi kondrosit yang terbatas. SPM terutama yang berasal dari sumsum tulang, lemak, dan tali pusat, menjadi kandidat utama dalam regenerasi kartilago karena kemampuan mereka berdiferensiasi menjadi kondrosit serta menghasilkan faktor parakrin yang menekan inflamasi. Bukti klinis kuat muncul dari uji fase II yang menunjukkan bahwa injeksi intra-artikular SPM adiposa konsentrasi tinggi memberikan peningkatan fungsi sendi dan perbaikan radiologis kartilago setelah 6 bulan pada pasien dengan osteoarthritis lutut derajat menengah (Jo et al., 2014).

b. Terapi Sel Punca pada Penyakit

Neurodegeneratif Kerusakan jaringan saraf, baik pada sistem saraf pusat maupun perifer, memiliki kemampuan regeneratif yang minimal, sehingga terapi sel punca menjadi strategi yang sangat relevan. Pada penyakit Parkinson, studi pre-klinis menggunakan *induced pluripotent stem cell*/iPSC yang diarahkan menjadi neuron dopaminergik menunjukkan pemulihan fungsi motorik dan peningkatan kadar dopamin striatal pada model hewan; temuan ini mengarah pada uji klinis awal untuk transplantasi neuron dopaminergik turunan iPSC pada manusia (Kikuchi et al., 2017).

c. Terapi Sel Punca pada Penyakit Kardiovaskular

Degeneratif Penyakit kardiovaskular degeneratif, seperti gagal jantung akibat infark miokard, ditandai kehilangan kardiomyosit dan pembentukan jaringan parut yang tidak dapat mengembalikan fungsi kontraktile. SPM menunjukkan kemampuan meningkatkan neovaskularisasi, menurunkan fibrosis, dan meningkatkan viabilitas kardiomyosit melalui sekresi faktor pro-regeneratif. Uji klinis Fase II-III (POSEIDON Trial) meneliti SPM sumsum tulang dan SPM alogenik pada gagal jantung iskemik kronik, dan menunjukkan bahwa terapi ini memperbaiki fungsi ventrikel kiri, menurunkan ukuran parut miokard, dan meningkatkan kualitas hidup pasien (Hare et al., 2012). Selain itu, iPSC telah digunakan untuk menghasilkan kardiomyosit fungsional yang dapat berintegrasi dengan jaringan miokard. Studi translasi menunjukkan bahwa transplantasi kardiomyosit turunan iPSC pada model hewan besar memperbaiki kontraktilitas dan menurunkan aritmia ventrikular, membuka peluang terapi regeneratif pada penyakit jantung degeneratif (Shiba et al., 2016).

d. Tantangan Klinis dan Prospek Masa Depan Terapi Sel Punca pada Penyakit Degeneratif

Meskipun terapi sel punca menunjukkan hasil menjanjikan, terdapat sejumlah tantangan klinis yang menghambat implementasi luas. Variabilitas sumber sel, perbedaan protokol kultur, heterogenitas respon pasien, serta risiko diferensiasi ektopik atau transformasi seluler menjadi isu utama dalam terapi berbasis MSC. Untuk iPSC, masalah genotoksisitas dan potensi tumorigenesis masih menjadi hambatan, sehingga diperlukan mekanisme kontrol diferensiasi yang lebih presisi. Selain itu, efektivitas terapi banyak bergantung pada kondisi mikro lingkungan jaringan penerima, karena lingkungan inflamasi kronik dapat menghambat kemampuan regeneratif sel punca. Pengembangan bio-material sebagai scaffold, rekayasa genetik untuk meningkatkan stabilitas fenotipe, dan terapi kombinasi dengan faktor pertumbuhan menjadi fokus utama riset. Bukti translasi terbaru mendukung bahwa ke depan, pendekatan multi-disiplin yang menggabungkan biologi sel punca, rekayasa jaringan, dan imunomodulasi akan memperkuat peran terapi seluler dalam menangani penyakit degeneratif secara lebih efektif dan aman (Trounson & McDonald, 2015).

2. Sel Punca pada Penyakit Autoimun

Penyakit autoimun merupakan kelompok gangguan imunologis yang ditandai oleh kegagalan sistem imun dalam membedakan antigen diri (self-antigen) dari antigen asing, yang mengakibatkan destruksi jaringan secara kronik. Sel punca menawarkan pendekatan terapeutik yang berpotensi memodulasi sistem imun sekaligus meregenerasi jaringan yang rusak akibat proses autoimunitas (Mohammedsaleh et al., 2022; Alexander and Greco, 2022). Secara umum, terapi sel punca dalam konteks autoimun didasarkan pada tiga mekanisme utama (Chen et al., 2025; Zaripova et al., 2023):

- a. Imunoregulasi, yaitu kemampuan sel punca menekan hiperaktivitas imun adaptif, menyeimbangkan rasio sel T efektor dan sel T regulator, serta menurunkan produksi sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α , IL-6, dan IFN- γ
- b. Regenerasi jaringan, melalui diferensiasi atau efek parakrin yang menstimulasi perbaikan jaringan yang rusak oleh peradangan kronik; dan
- c. Reset sistem imun, dengan menghancurkan repertoar sel imun yang autoreaktif dan membangun sistem imun baru yang lebih toleran terhadap antigen diri.

Berbagai jenis sel punca telah dieksplorasi dalam terapi penyakit autoimun, antara lain SPM, SPH, sel punca pluripoten terinduksi (iPSC), serta sel punca jaringan spesifik seperti sel punca epitelial dan sel punca neural. SPM diketahui berperan terutama sebagai agen imunomodulator dan regeneratif. Sel ini menekan proliferasi sel T dan sel B, menginduksi ekspansi Treg, serta menekan aktivitas sel dendritik dan makrofag pro-inflamasi. Selain itu, SPM melepaskan berbagai molekul bioaktif seperti IL-10, TGF- β , PGE₂, dan IDO yang menekan respon inflamasi sistemik. Studi klinis fase I-II menunjukkan keamanan dan potensi efektivitas SPM pada pasien dengan *rheumatoid arthritis* (RA), *systemic lupus erythematosus* (SLE), dan *primary Sjögren's syndrome* (Chen et al., 2025; Swain et al., 2024). Meskipun demikian, variabilitas hasil antar penelitian disebabkan oleh perbedaan sumber SPM (sumsum tulang, tali pusat, jaringan adiposa) serta kondisi pasien yang heterogen (Chen et al., 2025).

Selain SPM, SPH juga merupakan sumber utama sel imun baru dan telah digunakan dalam bentuk transplantasi autologus untuk penyakit autoimun refrakter seperti SLE, *multiple sclerosis* (MS), dan *systemic sclerosis* (skleroderma). Tujuan utamanya adalah melakukan “immune reconstitution” atau “immunologic reboot”, yaitu menghapus limfosit autoreaktif dan memungkinkan

rekonstruksi sistem imun yang lebih toleran (Alexander and Greco, 2022; Hew et al., 2015).

Teknologi iPSC telah memperluas potensi terapi autoimun melalui kemampuan diferensiasi menjadi berbagai tipe sel imun atau jaringan target secara patient-specific, sehingga menghindari risiko imunogenisitas. Model iPSC memungkinkan penciptaan sel imun tolerogenik seperti sel dendritik toleran (tolerogenic dendritic cells) dan sel β pankreas autologus untuk diabetes tipe 1 (Hew et al., 2015; Thiab et al., 2025).

Secara keseluruhan, terapi sel punca telah memberikan hasil klinis menjanjikan pada berbagai penyakit autoimun berat. Baik SPM maupun SPH menunjukkan potensi untuk menekan hiperaktivitas imun, memperpanjang remisi, dan memperbaiki fungsi organ yang rusak. Meskipun demikian, tantangan yang tersisa meliputi standarisasi prosedur, pemilihan pasien yang tepat, serta keamanan jangka panjang (Mohammedsaleh et al., 2022; Chen et al., 2025).

3. Sel Punca pada Penyakit Kanker

Perkembangan teknologi sel punca memberikan arah baru dalam pengobatan kanker melalui pendekatan yang memadukan regenerasi jaringan, modulasi inflamasi, dan penargetan subpopulasi sel tumor yang bersifat resisten. Konsep dasar penatalaksanaan berlandaskan pemahaman bahwa sel punca memiliki kemampuan perbaruan diri, diferensiasi multilinier, dan interaksi aktif dengan mikro lingkungan yang terlibat dalam dinamika kanker (Batlle & Clevers, 2017; Yang et al., 2020).

Sampai saat ini SPH merupakan aplikasi klinis tertua dan paling mapan dalam terapi kanker berbasis sel punca. Sebagai strategi kuratif, SPH telah menjadi standar untuk leukemia mieloblastik akut, leukemia limfoblastik akut, limfoma Hodgkin dan non-Hodgkin, serta mieloma multipel. Keefektifan SPH tidak hanya berasal dari restorasi hematopoiesis setelah ablasi sumsum tulang, tetapi juga dari efek imunologis *graft-versus-leukemia* (GVL). Bukti kuat

ditunjukkan oleh studi klinis skala besar yang melibatkan lebih dari 2.000 pasien, di mana SPH *allogeneic* meningkatkan kelangsungan hidup bebas secara signifikan pada leukemia akut risiko tinggi setelah kemoterapi konsolidasi (Gschweng, De Oliveira & Kohn, 2014; Copelan, 2006).

Selain itu, pengembangan teknik *reduced-intensity conditioning* (RIC) memungkinkan pasien dengan usia lebih tua atau komorbiditas menerima SPH dengan risiko toksisitas yang lebih rendah. Studi prospektif multicenter menunjukkan bahwa pasien leukemia mieloid akut usia >60 tahun memiliki peningkatan overall survival setelah RIC-SPH dibandingkan kemoterapi konvensional dosis rendah (Lindsley et al., 2015). Temuan-temuan tersebut memastikan bahwa terapi SPH tetap menjadi modalitas kuratif utama untuk keganasan hematologi.

Selain SPH, peran MSC dalam terapi kanker terutama pada penanganan komplikasi pasca-transplantasi serta perbaikan jaringan yang rusak akibat kemoterapi dan radiasi telah diteliti. SPM memiliki sifat imunomodulator, dapat menekan aktivasi limfosit T, dan menurunkan produksi sitokin inflamasi. Penelitian lanjutan menunjukkan perbaikan fungsi mukosa gastrointestinal pada aGVHD grade III-IV melalui mekanisme penurunan sitokin TNF- α dan IL-1 β . Selain manfaat imunologis, MSC menunjukkan kemampuan regeneratif pada kerusakan organ akibat terapi kanker. Model hewan yang mengalami enteritis radiasi menunjukkan bahwa injeksi SPM intravena memperbaiki integritas mukosa usus, mengurangi fibrosis, serta meningkatkan angiogenesis melalui sekresi faktor VEGF dan HGF. Efek serupa dilaporkan pada studi klinis kecil yang mengevaluasi SPM dalam mengurangi kerusakan jaringan paru akibat radioterapi pada kanker payudara, dengan perbaikan skor fungsi paru dan penurunan biomarker inflamasi sistemik (Le Blanc et al., 2008; Xu et al., 2018). Temuan ini memperkuat potensi MSC sebagai terapi suportif yang aman dan efektif.

Pada terapi kanker, efek terapi lain dari SPM adalah karena memiliki kemampuan homing ke mikro-lingkungan tumor, sehingga dimanfaatkan sebagai vektor biologis untuk mengantarkan obat antikanker. Dalam studi pre-klinis, SPM direkayasa untuk mengekspresikan TRAIL (*tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand*) dan menunjukkan kemampuan menginduksi apoptosis pada sel kanker paru metastatik. Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa pemberian SPM-TRAIL pada model tikus metastasis paru menurunkan jumlah nodul metastasis lebih dari 50% dibandingkan kontrol (Loebinger et al., 2009).

Terapi sel punca pada kanker meskipun menjanjikan, tetap menghadapi tantangan besar sebelum diterapkan luas pada kanker. Risiko yang perlu diperhatikan mencakup potensi interaksi MSC dengan mikro-lingkungan tumor yang pada kondisi tertentu dapat meningkatkan angiogenesis dan invasi sel kanker, meskipun pada model lain menghasilkan efek antiproliferatif. Kompleksitas heterogenitas tumor juga membatasi efektivitas terapi yang bersifat general. Arah masa depan bergantung pada pendekatan multi-modal yang mengintegrasikan sel punca dengan terapi gen, immunotherapy, nanomedicine, dan teknik rekayasa biomaterial. Pemanfaatan induced iPSC untuk memperoleh sel imun rekayasa yang seragam dan aman menjadi salah satu area riset paling cepat berkembang, terutama dalam desain sel *natural killer* (NK) dan *Chimeric Antigen Receptor T-Cell* (CAR-T) generasi baru (Gschwend, De Oliveira & Kohn, 2014).

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Dhamin, Z., Liu, L.D., Li, D.D., Zhang, S.Y., Dong, S.M., Nan, Y.M. 2020. Therapeutic efficiency of bone marrow-derived mesenchymal stem cells for liver fibrosis: A systematic review of in vivo studies. *World Journal of Gastroenterology* 26(47):7444.
- Alexander, T., Greco, R. (2022). Hematopoietic stem cell transplantation and cellular therapies for autoimmune diseases: overview and future considerations from the Autoimmune Diseases Working Party (ADWP) of the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Bone Marrow Transplant* 57, 1055–1062. <https://doi.org/10.1038/s41409-022-01702>
- Battle, E., & Clevers, H. (2017). Cancer stem cells revisited. *Nature medicine*, 23(10), 1124–1134. <https://doi.org/10.1038/nm.4409>
- Bhang, S.H., Lee, S., Shin, J.Y., Lee, T.J., Jang, H.K., Kim, B.S. (2014). Efficacious and clinically relevant conditioned medium of human adipose-derived stem cells for therapeutic angiogenesis. *Mol. Ther.* 22: 862–872.
- Caplan, A.I., (2015). Are all adult stem cells the same?. *Regenerative Engineering and Translational Medicine* 1(1-4): 4-10.
- Chen, Y., Li, X., Zhang, J., Peng, J., Huang, F., Bao, J., Fan, Y., & Huang, S. (2025). Global clinical trials on stem cell therapy for autoimmune diseases: trends and future directions. *Frontiers in immunology*, 16, 1616231. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1616231>
- Copelan E. A. (2006). Hematopoietic stem-cell transplantation. *The New England journal of medicine*, 354(17), 1813–1826. <https://doi.org/10.1056/NEJMra052638>

- Daneshmandi, L., Shah, S., Jafari, T., Bhattacharjee, M., Momah, D., Saveh-Shemshaki, N., Lo, K.W. and Laurencin, C.T. (2020). Emergence of the stem cell secretome in regenerative engineering. *Trends in Biotechnology*
- Gilchrist, A.E. dan Harley, B.A. (2020). Connecting secretome to hematopoietic stem cell phenotype shifts in an engineered bone marrow niche. *Integrative Biology* 12(7): 175-187.
- Gschweng, E., De Oliveira, S., & Kohn, D. B. (2014). Hematopoietic stem cells for cancer immunotherapy. *Immunological reviews*, 257(1), 237–249. <https://doi.org/10.1111/imr.12128>
- Guillamat-Prats, R., & Artigas, A. (2020). Current Status of Stem Cell Therapy for Sepsis and Acute Respiratory Distress Syndrome. IntechOpen. doi: 10.5772/intechopen.86108
- Hare, J. M., Fishman, J. E., Gerstenblith, G., DiFede Velazquez, D. L., Zambrano, J. P., Suncion, V. Y., Tracy, M., Gherlin, E., Johnston, P. V., Brinker, J. A., Breton, E., Davis-Sproul, J., Schulman, I. H., Byrnes, J., Mendizabal, A. M., Lowery, M. H., Rouy, D., Altman, P., Wong Po Foo, C., Ruiz, P., ... Lardo, A. (2012). Comparison of allogeneic vs autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells delivered by transendocardial injection in patients with ischemic cardiomyopathy: the POSEIDON randomized trial. *JAMA*, 308(22), 2369–2379. <https://doi.org/10.1001/jama.2012.25321>
- Hew, M., O'Connor, K., Edel, M. J., & Lucas, M. (2015). The Possible Future Roles for iPSC-Derived Therapy for Autoimmune Diseases. *Journal of clinical medicine*, 4(6), 1193–1206. <https://doi.org/10.3390/jcm4061193>
- Jahandideh, S., Khatami, S., Eslami Far, A. and Kadivar, M. (2018). Anti-inflammatory effects of human embryonic stem cell-derived mesenchymal stem cells secretome preconditioned with diazoxide, trimetazidine and MG-132 on LPS-induced systemic inflammation mouse model. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology* 46(sup2): 1178-1187.

- Jo, C. H., Lee, Y. G., Shin, W. H., Kim, H., Chai, J. W., Jeong, E. C., Kim, J. E., Shim, H., Shin, J. S., Shin, I. S., Ra, J. C., Oh, S., & Yoon, K. S. (2014). Intra-articular injection of mesenchymal stem cells for the treatment of osteoarthritis of the knee: a proof-of-concept clinical trial. *Stem cells (Dayton, Ohio)*, 32(5), 1254–1266. <https://doi.org/10.1002/stem.1634>
- Kikuchi, T., Morizane, A., Doi, D., Magotani, H., Onoe, H., Hayashi, T., Mizuma, H., Takara, S., Takahashi, R., Inoue, H., Morita, S., Yamamoto, M., Okita, K., Nakagawa, M., Parmar, M., & Takahashi, J. (2017). Human iPS cell-derived dopaminergic neurons function in a primate Parkinson's disease model. *Nature*, 548(7669), 592–596. <https://doi.org/10.1038/nature23664>
- Le Blanc, K., Frassoni, F., Ball, L., Locatelli, F., Roelofs, H., Lewis, I., Lanino, E., Sundberg, B., Bernardo, M. E., Remberger, M., Dini, G., Egeler, R. M., Bacigalupo, A., Fibbe, W., Ringdén, O., & Developmental Committee of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (2008). Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study. *Lancet (London, England)*, 371(9624), 1579–1586. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)60690-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)60690-X)
- Lindsley, R. C., Mar, B. G., Mazzola, E., Grauman, P. V., Shareef, S., Allen, S. L., Pigneux, A., Wetzler, M., Stuart, R. K., Erba, H. P., Damon, L. E., Powell, B. L., Lindeman, N., Steensma, D. P., Wadleigh, M., DeAngelo, D. J., Neuberg, D., Stone, R. M., & Ebert, B. L. (2015). Acute myeloid leukemia ontogeny is defined by distinct somatic mutations. *Blood*, 125(9), 1367–1376. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-11-610543>
- Loebinger, M. R., Eddaoudi, A., Davies, D., & Janes, S. M. (2009). Mesenchymal stem cell delivery of TRAIL can eliminate metastatic cancer. *Cancer research*, 69(10), 4134–4142. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-4698>

- Mohammedsaleh Z. M. (2022). The use of patient-specific stem cells in different autoimmune diseases. *Saudi journal of biological sciences*, 29(5), 3338–3346. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.02.009>
- Purwati, A.M., Nasronudin, D.K., Aristika Dinaryanti, E.H., Igo Syaiful Ihsan, N.E., Disca Sandyakala Purnama, T.P.A., Erika Marfiani, Z.I. and Alfian Nur Rosyid, P.A.W. (2020). The Potency of Hematopoietic Stem Cells (HSCs) and Natural Killer (NK) Cells as A Therapeutic of SARS-CoV-2 Indonesia Isolates Infection by Viral Inactivation (In Vitro Study). *Systematic Reviews in Pharmacy* 11(5):772-777.
- Shiba, Y., Gomibuchi, T., Seto, T., Wada, Y., Ichimura, H., Tanaka, Y., Ogasawara, T., Okada, K., Shiba, N., Sakamoto, K., Ido, D., Shiina, T., Ohkura, M., Nakai, J., Uno, N., Kazuki, Y., Oshimura, M., Minami, I., & Ikeda, U. (2016). Allogeneic transplantation of iPS cell-derived cardiomyocytes regenerates primate hearts. *Nature*, 538(7625), 388–391. <https://doi.org/10.1038/nature19815>
- Shin, S., Kim, Y., Jeong, S., Hong, S., Kim, I., Lee, W. and Choi, S. (2013). The therapeutic effect of human adult stem cells derived from adipose tissue in endotoxemic rat model. *International journal of medical sciences* 10(1):8.
- Shrestha, C., Zhao, L., Chen, K., He, H., Mo, Z. (2013). Enhanced healing of diabetic wounds by subcutaneous administration of human umbilical cord derived stem cells and their conditioned media. *Int. J Endocrinol.* 592454.
- Souza-Moreira, L., Soares, V.C., Dias, S.D.S.G. and Bozza, P.T. (2019). Adipose-derived Mesenchymal Stromal Cells Modulate Lipid Metabolism and Lipid Droplet Biogenesis via AKT/mTOR-PPAR γ Signalling in Macrophages. *Scientific reports* 9(1): 1-11.
- Stoltz, J. F., de Isla, N., Li, Y. P., Bensoussan, D., Zhang, L., Huselstein, C., Chen, Y., Decot, V., Magdalou, J., Li, N., Reppel, L., & He, Y. (2015). Stem Cells and Regenerative

- Medicine: Myth or Reality of the 21th Century. *Stem cells international*, 2015, 734731.
<https://doi.org/10.1155/2015/734731>
- Swain, H. N., Boyce, P. D., Bromet, B. A., Barozinksy, K., Hance, L., Shields, D., Olbricht, G. R., & Semon, J. A. (2024). Mesenchymal stem cells in autoimmune disease: A systematic review and meta-analysis of pre-clinical studies. *Biochimie*, 223, 54–73.
<https://doi.org/10.1016/j.biochi.2024.04.009>
- Thiab, S., Azeez, J. M., Anala, A., Nanda, M., Khan, S., Butler, A. E., & Nandakumar, M. (2025). Human-Induced Pluripotent Stem Cells (iPSCs) for Disease Modeling and Insulin Target Cell Regeneration in the Treatment of Insulin Resistance: A Review. *Cells*, 14(15), 1188.
<https://doi.org/10.3390/cells14151188>
- Trounson, A., & McDonald, C. (2015). Stem Cell Therapies in Clinical Trials: Progress and Challenges. *Cell stem cell*, 17(1), 11–22. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2015.06.007>
- Varderidou-Minasian, S. and Lorenowicz, M.J. 2020. Mesenchymal stromal/stem cell-derived extracellular vesicles in tissue repair: challenges and opportunities. *Theranostics* 10(13): 5979.
- Vizoso, F.J., Eiro, N., Cid, S., Schneider, J. and Perez-Fernandez, R. (2017). Mesenchymal stem cell secretome: toward cell-free therapeutic strategies in regenerative medicine. *International journal of molecular sciences* 18(9): 1852.
- Xu, T., Zhang, Y., Chang, P., Gong, S., Shao, L., & Dong, L. (2018). Mesenchymal stem cell-based therapy for radiation-induced lung injury. *Stem cell research & therapy*, 9(1), 18.
<https://doi.org/10.1186/s13287-018-0776-6>
- Yang, L., Shi, P., Zhao, G., Xu, J., Peng, W., Zhang, J., Zhang, G., Wang, X., Dong, Z., Chen, F., & Cui, H. (2020). Targeting cancer stem cell pathways for cancer therapy. *Signal*

transduction and targeted therapy, 5(1), 8.
<https://doi.org/10.1038/s41392-020-0110-5>

Zaripova, L. N., Midgley, A., Christmas, S. E., Beresford, M. W., Pain, C., Baildam, E. M., & Oldershaw, R. A. (2023). Mesenchymal Stem Cells in the Pathogenesis and Therapy of Autoimmune and Autoinflammatory Diseases. *International journal of molecular sciences*, 24(22), 16040. <https://doi.org/10.3390/ijms242216040>

BAB 8

BIOTEKNOLOGI ANTIBODI MONOKLONAL

Dr. apt. Khairuddin, S.Si., M.Si.

A. Pendahuluan

Antibodi monoklonal (mAb) telah diakui sebagai salah satu kelas agen terapeutik paling revolusioner dan signifikan di pasar farmasi global (Castelli et al., 2019). Molekul biologi ini, yang diproduksi oleh sel B, dicirikan oleh spesifisitasnya yang luar biasa tinggi, di mana ia hanya mengikat satu epitop antigen target tertentu (Lu et al., 2020, Modjtahedi et al., 2012). Karakteristik kunci inilah yang memposisikan mAb sebagai instrumen ideal, tidak hanya dalam diagnosis, tetapi yang lebih krusial, dalam terapi berbagai penyakit (Modjtahedi et al., 2012).

Sejak persetujuan antibodi monoklonal pertama oleh United States Food and Drug Administration (US FDA) pada tahun 1986, bidang rekayasa antibodi telah mengalami evolusi eksponensial (Lu et al., 2020). Saat ini, terapi berbasis mAb telah menjadi modalitas pengobatan yang dominan, mencakup spektrum penyakit yang luas—mulai dari onkologi, penyakit autoimun, kondisi metabolik, hingga infeksi (Lu et al., 2020, Alejandra et al., 2023). Bukti paling nyata dari peran sentral ini adalah dominasi produk biologi dalam pasar farmasi; pada tahun 2018, misalnya, delapan dari sepuluh obat terlaris di seluruh dunia adalah produk biologi, yang sebagian besar didasarkan pada teknologi antibodi (Lu et al., 2020). Oleh karena itu, telaah kritis terhadap perkembangan, struktur, mekanisme, dan tantangan yang menyertai Antibodi Monoklonal menjadi

esensial dalam kerangka ilmu pengetahuan biomedis kontemporer.

B. Sejarah dan Perkembangan

Fondasi konseptual untuk terapi antibodi diletakkan seabad yang lalu oleh Paul Ehrlich, yang mengajukan hipotesis tentang "peluru ajaib" (*magic bullet*) yang mampu menargetkan penyakit secara selektif (Adams and Weiner, 2005). Namun, visi ini baru terwujud secara praktis dengan penemuan teknologi hibridoma oleh Georges Köhler dan César Milstein pada tahun 1975 (Adams and Weiner, 2005, Lu et al., 2020). Teknologi perintis ini memungkinkan produksi antibodi monoklonal murni dalam jumlah besar, yang memiliki kemampuan ikatan sangat spesifik terhadap antigen targetnya (Adams and Weiner, 2005, Lu et al., 2020)

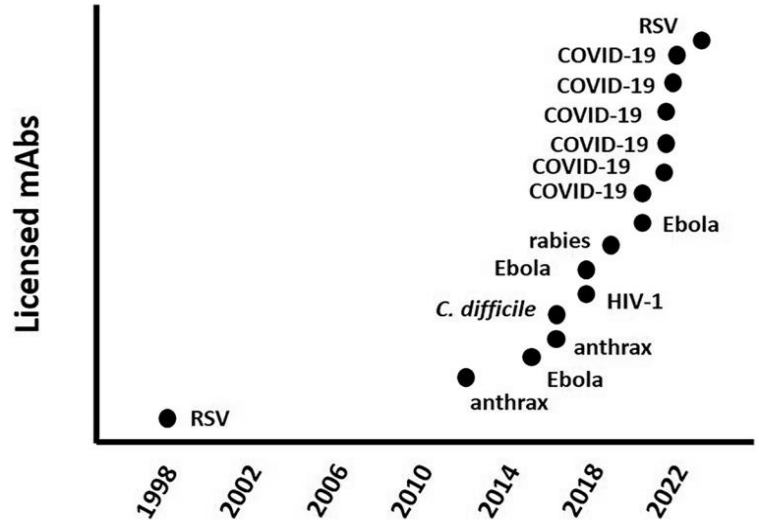
Tonggak sejarah klinis yang menggarisbawahi potensi terapeutik mAb terjadi pada tahun 1986, dengan disetujuinya Muromonab-CD3 (*Orthoclone OKT3*) oleh US FDA sebagai antibodi monoklonal pertama untuk pengobatan penolakan transplantasi ginjal (Lu et al., 2020). Muromonab-CD3, yang merupakan antibodi murine (berasal dari tikus), menghadapi keterbatasan serius, terutama risiko imunogenisitas—di mana tubuh pasien dapat menghasilkan respons imun terhadap antibodi tersebut (Lu et al., 2020).

Tantangan ini memicu evolusi rekayasa antibodi yang luar biasa:

1. **Antibodi Kimerik (-ximab):** Menggabungkan wilayah variabel tikus dengan wilayah konstan manusia, mengurangi imunogenisitas.
2. **Antibodi Humanisasi (-zumab):** Hanya fragmen penentu komplemen (*Complementarity Determining Regions*—CDR) tikus yang dicangkokkan ke dalam kerangka antibodi manusia, yang secara signifikan menurunkan imunogenisitas (Lu et al., 2020).

3. **Antibodi Manusia Penuh (-umab):** Dihasilkan dari kultur sel manusia atau mencit transgenik (seperti seri XenoMouse), menawarkan imunogenisitas terendah dan merupakan format yang paling ideal saat ini (Lu et al., 2020).

Hingga akhir tahun 2019, 79 mAb terapeutik telah berhasil disetujui oleh US FDA, menunjukkan bahwa mAb telah bertransisi dari penemuan akademis menjadi pilar industri farmasi global (Lu et al., 2020).



Gambar 8.1 Peningkatan jumlah produk monoklonal antibodi (mAbs) yang disetujui untuk penyakit menular selama beberapa dekade terakhir. Monoklonal antibodi tersebut disetujui oleh European Medicine Agency (EMA) dan Food and Drug Administration (FDA) (de Jong and Grobusch, 2024)

C. **Struktur Molekul Antibodi**

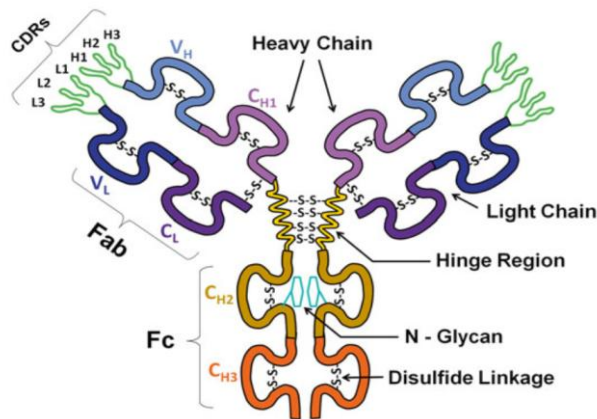
Antibodi monoklonal memiliki arsitektur molekuler yang didasarkan pada protein antibodi endogen (imunoglobulin) (Fesseha et al., 2020). Struktur dasarnya adalah protein berbentuk 'Y' yang terdiri dari dua pasang rantai: dua rantai

ringan (*light chains*) dan dua rantai berat (*heavy chains*), yang dihubungkan bersama oleh ikatan disulfida (Fesseha et al., 2020).

Secara fungsional, molekul ini dibagi menjadi dua wilayah utama:

1. **Fragmen Pengikat Antigen (Fab - *Fragment Antigen-Binding*)**: Terdiri dari wilayah variabel rantai ringan dan rantai berat. Bagian Fab adalah penentu utama spesifisitas antibodi, bertanggung jawab untuk pengikatan secara tepat ke epitop antigen target (Fesseha et al., 2020).
2. **Fragmen Kristalisasi (Fc - *Fragment Crystallizable*)**: Terdiri dari wilayah konstan rantai berat. Bagian Fc adalah penentu fungsi efektor antibodi, seperti kemampuannya untuk mengikat reseptor Fc pada sel imun atau mengaktifkan jalur komplemen (Fesseha et al., 2020, Castelli et al., 2019).

Meskipun terdapat lima kelas imunoglobulin (IgM, IgG, IgA, IgD, dan IgE), mayoritas besar mAb terapeutik yang dikembangkan saat ini memanfaatkan kelas **IgG** karena sifat farmakologisnya yang superior, termasuk paruh waktu yang lebih panjang dan kemampuan fungsi efektor yang sesuai untuk target terapeutik (Fesseha et al., 2020, Castelli et al., 2019).



Gambar 8.2 Menampilkan struktur dasar dari molekul antibody IgG, yang merupakan protein berbentuk Y yang berperan penting dalam sistem imun adaptif. Molekul ini terdiri dari empat rantai polipeptida, yaitu dua Rantai Berat (*Heavy Chains*) dan dua Rantai

Ringan (*Light Chains*), yang dihubungkan oleh ikatan disulfida (S-S). Struktur ini dibagi menjadi dua wilayah fungsional utama: fragmen Fab (*Fragment antigen-binding*) dan fragmen Fc (*Fragment crystallizable*). Fragmen Fab, yang terletak di lengan molekul, bertanggung jawab untuk mengenali dan mengikat antigen. Wilayah ini mengandung domain variabel (VH pada rantai berat dan VL pada rantai ringan) serta tiga daerah hipervariabel yang dikenal sebagai CDR (Complementarity-Determining Regions) – yaitu L1, L2, L3, H1, H2, dan H3 – yang menentukan spesifisitas ikatan terhadap antigen. Sementara itu, fragmen Fc, yang merupakan "kaki" molekul, tersusun atas domain konstan (CH2 dan CH3) dan berfungsi untuk berinteraksi dengan sel-sel imun dan molekul efektor lainnya. Kedua fragmen ini dipisahkan oleh Hinge Region yang fleksibel. Secara keseluruhan, struktur ini juga menampilkan situs modifikasi pasca-translasi seperti N-Glycan yang menempel pada domain CH2 dari fragmen Fc (Moorthy et al., 2015)

D. Tahapan Produksi Antibodi Monoklonal

Produksi mAb terapeutik telah berkembang pesat dari teknik aslinya menjadi berbagai pendekatan rekayasa genetik.

Teknologi Hibridoma (Metode Klasik)

Metode klasik ini, meskipun mulai ditinggalkan untuk mAb manusia penuh, tetap menjadi dasar sejarah produksi (Ding and Huang, 2024, Lu et al., 2020)

1. **Imunisasi:** Hewan model (seperti tikus) diinokulasi dengan antigen target (Ding and Huang, 2024).
2. **Fusi Sel:** Sel B yang diambil dari limpa hewan diimunisasi difusikan dengan sel mieloma yang bersifat imortal untuk menghasilkan **hibridoma** (Ding and Huang, 2024, Lu et al., 2020). Sel hibridoma mewarisi kemampuan sel B untuk memproduksi antibodi dan kemampuan sel mieloma untuk berproliferasi tanpa batas.
3. **Kloning dan Seleksi:** Klon hibridoma disaring dan diperbanyak untuk mengisolasi yang menghasilkan mAb spesifik yang diinginkan (Ding and Huang, 2024).

Inovasi Produksi Terkini

Untuk mengatasi masalah imunogenisitas antibodi murine dan mempercepat penemuan, teknologi yang lebih canggih telah dikembangkan:

1. **Phage Display:** Metode *in vitro* yang memungkinkan penemuan antibodi manusia dari perpustakaan sintetik dalam skala besar. Fragmen antibodi diidentifikasi dan ditampilkan pada permukaan bakteriofag, memfasilitasi seleksi antibodi dengan afinitas tinggi (Ding and Huang, 2024, Lu et al., 2020).
2. **Teknologi Sel B Tunggal (*Single B Cell Technology*):** Teknik yang sangat efisien untuk mengisolasi dan mengkloning gen antibodi langsung dari sel B tunggal yang diambil dari pasien atau hewan transgenik, yang secara signifikan mempercepat proses penemuan (Ding and Huang, 2024, Lu et al., 2020).
3. **Mencit Antibodi Manusia (*Human Antibody Mouse*):** Penggunaan tikus transgenik yang secara genetik dimodifikasi untuk membawa gen imunoglobulin manusia, sehingga mampu menghasilkan antibodi manusia sepenuhnya saat diimunisasi (Lu et al., 2020).

E. Jenis-Jenis Antibodi Monoklonal

Klasifikasi mAb terapeutik didasarkan pada tingkat komponen manusianya, yang secara langsung berkorelasi dengan potensi imunogenisitas dan stabilitas *in vivo*. Nomenklatur formalnya ditunjukkan oleh sufiks nama generik antibodi (Lu et al., 2020):

1. **Murine:** Murine monoclonal antibodies (mAbs) adalah generasi pertama terapi antibodi, di mana keseluruhan strukturnya, baik wilayah pengikat antigen (Fab) maupun wilayah konstan (Fc), sepenuhnya berasal dari protein tikus. Meskipun mudah diproduksi melalui teknik hibridoma, sifat asing protein ini menyebabkan masalah klinis serius. Sistem imun manusia sering meresponsnya dengan kuat, dikenal sebagai respons HAMA (Human Anti-Mouse Antibody), yang mengakibatkan reaksi alergi parah, eliminasi obat yang

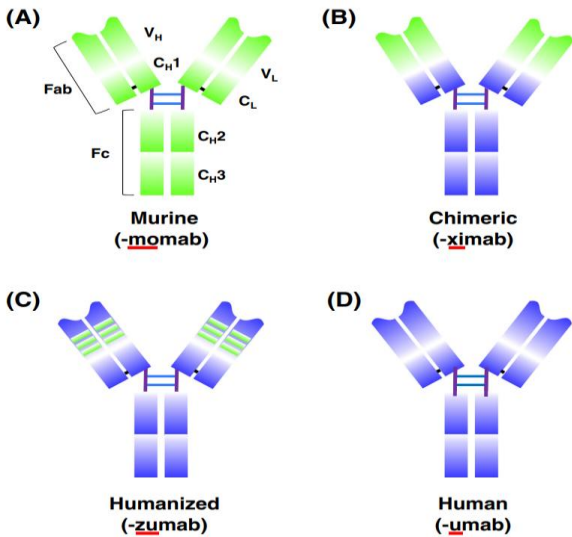
cepat dari peredaran, dan menurunnya efektivitas pengobatan. Selain itu, wilayah Fc tikus tidak berinteraksi optimal dengan sel imun manusia, menyebabkan fungsi efektor seperti ADCC dan CDC yang buruk.

2. **Chimeric:** Untuk mengurangi imunogenisitas dari mAbs Murine, dikembangkanlah jenis Chimeric. Antibodi ini direkayasa genetik dengan menggabungkan wilayah variabel (Fab) tikus (yang menyediakan spesifisitas pengikatan antigen) dengan wilayah konstan (Fc) manusia. Dengan komposisi sekitar 65–70% protein manusia, risiko respons imun pasien dapat diturunkan. Pemanfaatan wilayah Fc manusia juga secara signifikan meningkatkan fungsi efektor (ADCC dan CDC) karena kini dapat berinteraksi lebih baik dengan reseptor Fc pada sel imun manusia. Meskipun demikian, bagian Fab yang masih berasal dari tikus tetap berpotensi memicu respons imun, meskipun jauh lebih rendah daripada mAbs Murine.
3. **Humanized:** Humanized mAbs merupakan langkah maju dalam mengurangi imunogenisitas, di mana struktur antibodi dibuat hampir seluruhnya (lebih dari 90%) menjadi protein manusia. Dari struktur antibodi tikus, yang dipertahankan hanyalah rantai pendek asam amino yang spesifik, yaitu *Complementarity Determining Regions* (CDR), yang bertanggung jawab langsung atas pengikatan antigen. CDR tikus ini kemudian "dicangkokkan" ke kerangka antibodi manusia. Hasilnya, jenis ini memiliki imunogenisitas yang sangat rendah, mengurangi risiko reaksi imun dan memperpanjang waktu paruh obat dalam tubuh, sambil tetap mempertahankan spesifisitas pengikatan yang tinggi dari antibodi tikus asli.
4. **Fully Human:** Fully Human mAbs mewakili puncak rekayasa antibodi monoklonal, di mana keseluruhan strukturnya 100% berasal dari urutan asam amino manusia. Antibodi ini diproduksi menggunakan teknologi canggih seperti tikus transgenik atau teknik *phage display*. Karena identik dengan antibodi alami manusia, jenis ini memiliki risiko

imunogenisitas terendah, hampir menghilangkan pembentukan antibodi anti-obat dan reaksi alergi. Hal ini menghasilkan tolerabilitas pasien yang optimal, efikasi yang konsisten, dan waktu paruh serum yang panjang, menjadikannya pilihan ideal untuk terapi jangka panjang.

Tabel 8.1 Klasifikasi Jenis Antibodi Monoklonal

Jenis mAb	Asal Usul Utama	Akhiran Umum	Komponen Tikus	Imunogenisitas	Fungsi Efektor
Murine	Tikus	-momab	100%	Tinggi (Risiko HAMA)	Buruk
Chimeric	Tikus + Manusia	-ximab	30-35%	Sedang	Baik
Humanized	Manusia + CDR Tikus	-zumab	10%	Rendah	Optimal
Fully Human	Manusia	-umab	0%	Terendah	Optimal



Gambar 8.3 Ikhtisar skematis ini menggambarkan proses humanisasi antibodi, dimulai dari antibodi murin (ditandai dengan domain hijau) hingga mencapai antibodi sepenuhnya manusia (ditandai dengan domain oranye), dan menunjukkan sufiks yang terkait. Proses ini melibatkan beberapa tahapan: antibodi monoklonal murin (a), diikuti oleh antibodi

monoklonal kimerik (b) yang memiliki wilayah variabel murin tetapi sisa rantai bersifat manusiawi. Tahap selanjutnya adalah antibodi monoklonal terhumanisasi (c), yang hanya menyertakan segmen hipervariabel (CDR) asal murin, sebelum mencapai antibodi monoklonal manusia (d). Berbagai domain dan fragmen protein yang dijelaskan meliputi CH (domain konstan rantai berat), CL (domain konstan rantai ringan), fragmen Fab dan Fc yang dihasilkan dari proteolisis, serta VH dan VL (domain variabel rantai berat dan ringan) (Lu et al., 2020).

F. Mekanisme Kerja

Mekanisme terapeutik mAb bersifat pleiotropik (beragam) dan dapat dikelompokkan menjadi fungsi langsung dan fungsi efektor berbasis sel/komplemen (Justiz-Vaillant et al., 2025).

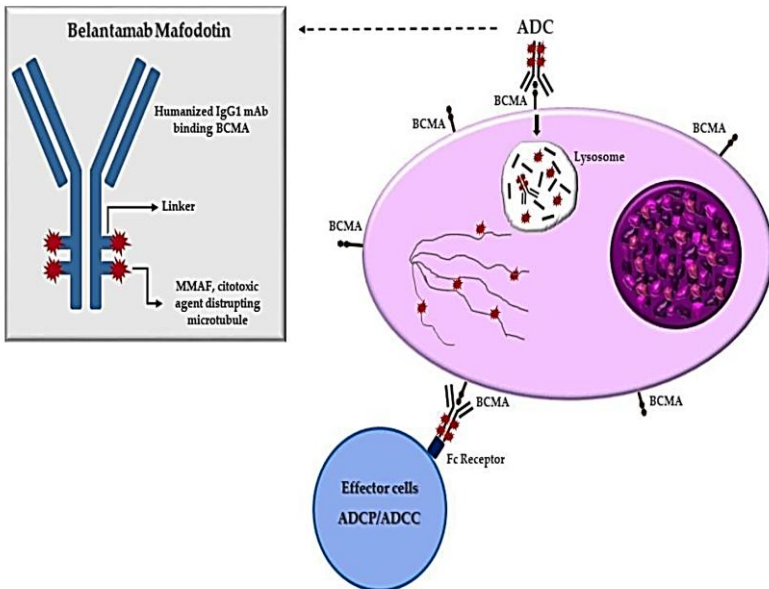
Mekanisme Langsung

Netralisasi/Penghambatan Reseptor: Antibodi mengikat ligan yang bersirkulasi (misalnya, **Bevacizumab** mengikat *Vascular Endothelial Growth Factor* – VEGF) atau reseptor pada permukaan sel (misalnya, **Cetuximab** mengikat *Epidermal Growth Factor Receptor* – EGFR) (Adams & Weiner, 2005). Pengikatan ini secara efektif menghambat jalur sinyal yang mendorong pertumbuhan tumor atau aktivitas penyakit, menyebabkan penghambatan proliferasi atau kematian sel (Justiz-Vaillant et al., 2025).

Mekanisme Efektor Imun

- 1. Sitositotoksitas Seluler yang Bergantung pada Antibodi (ADCC):** Setelah mAb mengikat antigen pada sel target (misalnya sel tumor), wilayah Fc-nya dikenali oleh reseptor Fc pada sel imun efektor seperti sel *Natural Killer* (NK) (Justiz-Vaillant et al., 2025). Pengikatan ini memicu sel NK untuk melepaskan molekul sitotoksik, yang menyebabkan lisis dan eliminasi sel target (Justiz-Vaillant et al., 2025).
- 2. Sitositotoksitas Bergantung pada Komplemen (CDC):** Pengikatan mAb ke sel target dapat memicu kaskade aktivasi sistem komplemen, yang berpuncak pada pembentukan

3. **Penghambatan Reseptor:** Mencegah sinyal proliferasi pada sel kanker atau misalnya reseptor HER2.
4. **Antibody Drug Conjugates (ADCs):** mAbs sebagai pembawa obat kimia atau radioisotop ke target spesifik. Mekanisme ini memungkinkan terapi yang sangat spesifik sekaligus meminimalkan kerusakan pada jaringan sehat.



Gambar 8.4 Salah satu jenis Antibody Drug Conjugates (ADCs). Belantamab adalah ADC IgG1 humanisasi pertama di kelasnya yang menargetkan B-cell maturation antigen (BCMA). ADC ini terdiri dari antibodi yang mampu mengikat BCMA, terkonjugasi

dengan agen sitotoksik, monometil auristatin F (mafodotin), oleh penghubung maleimidocaproyl yang resisten terhadap protease. Setelah mengikat BCMA pada sel target, Belamaf diinternalisasi dan mengalami proses pembelahan proteolitik, melepaskan mafodotin. Mafodotin yang dilepaskan mengganggu jaringan sel mikrotubulus yang menyebabkan penghentian siklus sel dan apoptosis. Selain itu, Belantamab juga memicu respons kekebalan yang disebut antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC) (Morè et al., 2023)

Modulasi Imun

Blokade Immune Checkpoint: Ini adalah mekanisme kritis dalam imunoterapi kanker. mAb menargetkan jalur penghambatan imun (seperti PD-1/PD-L1) (Justiz-Vaillant et al., 2025). Dengan memblokir "rem" pada sistem imun ini, mAb meningkatkan kemampuan sel T pasien untuk mengenali dan menyerang sel tumor (Justiz-Vaillant et al., 2025).

G. Aplikasi Antibodi Monoklonal

Aplikasi mAb telah melampaui onkologi dan merangkul berbagai bidang medis, menegaskan fleksibilitas platform terapi ini.

- 1. Onkologi (Kanker):** Aplikasi yang paling menonjol. mAb digunakan untuk menargetkan sel tumor secara langsung atau untuk memblokir sinyal pertumbuhan/angiogenesis (Modjtahedi et al., 2012)
 - a. Trastuzumab** (*Herceptin*) menargetkan HER2/neu pada kanker payudara (Adams and Weiner, 2005).
 - b. Bevacizumab** menargetkan VEGF, menghambat suplai darah ke tumor (Adams and Weiner, 2005).
 - c. Penggunaan mAb**, seringkali dalam kombinasi dengan kemoterapi, telah terbukti secara klinis dapat memperpanjang kelangsungan hidup pasien (Adams and Weiner, 2005, Modjtahedi et al., 2012).
- 2. Penyakit Autoimun dan Inflamasi:** mAb digunakan untuk menargetkan dan menetralkan sitokin pro-inflamasi, seperti *Tumor Necrosis Factor* (TNF) atau mengikat reseptor pada sel

imun (Waller-Pulido et al., 2023). **Adalimumab** adalah contoh populer dalam kelas ini (Castelli et al., 2019).

3. **Penyakit Infeksi:** Terutama didorong oleh pandemi COVID-19, mAb semakin digunakan untuk profilaksis (pencegahan) atau pengobatan infeksi viral, termasuk penyakit tropis seperti malaria dan demam kuning, dengan bertindak sebagai imunoprofilaksis pasif (Alejandra et al., 2023, de Jong and Grobusch, 2024).
4. **Neurologi:** mAb telah membuka era baru terapi dalam neurologi, seperti menargetkan *Calcitonin Gene-Related Peptide* (CGRP) untuk profilaksis migrain, dan juga digunakan untuk mengobati sklerosis multipel (Sirbu et al., 2021).

H. Tantangan dan Inovasi Terkini

Meskipun sukses, pengembangan mAb terus menghadapi tantangan, yang memicu gelombang inovasi terkini:

Tantangan Kritis

1. **Resistensi dan Durasi Respons:** Respons terapeutik, terutama pada pasien kanker, seringkali memiliki durasi yang pendek, dan resistensi dapat berkembang (Modjtahedi et al., 2012).
2. **Toksisitas dan Penargetan Radioimunokonjugat:** Upaya untuk menggabungkan mAb dengan radioisotop (radioimunokonjugat) masih terhambat oleh kompleksitas pemberian, kekhawatiran toksisitas, dan kurangnya selektivitas penargetan ke jaringan tumor (Adams and Weiner, 2005).

Inovasi Terapeutik Utama

1. **Konjugat Antibodi-Obat (ADC - *Antibody-Drug Conjugates*):** Inovasi ini menggabungkan spesifisitas mAb dengan potensi sitotoksik obat (kemoterapi) (Modjtahedi et al., 2012). Antibodi bertindak sebagai "kendaraan pengiriman" yang menargetkan obat sitotoksik langsung ke sel yang mengekspresikan antigen target, sehingga

meminimalkan toksisitas sistemik dan meningkatkan indeks terapeutik (Modjtahedi et al., 2012).

2. **Antibodi Bispesifik (*Bispecific Antibodies*):** Antibodi yang direkayasa untuk secara simultan mengikat dua target antigen yang berbeda (Lu et al., 2020). Desain ini dapat, misalnya, membawa sel T efektor lebih dekat ke sel tumor, menciptakan jembatan yang secara efisien memicu sitotoksitas.
3. **Rekayasa Afinitas (*Affinity Maturation*):** Penggunaan teknologi rekayasa protein untuk meningkatkan kekuatan ikatan (afinitas) mAb terhadap targetnya, yang dapat meningkatkan efikasi biologis (Lu et al., 2020).

I. Kesimpulan

Bioteknologi antibodi monoklonal merevolusi bidang kedokteran, diagnostik, dan penelitian. Kemampuannya mengenali antigen spesifik menjadikannya alat penting dalam terapi penyakit kompleks seperti kanker, autoimun, dan infeksi. Meskipun tantangan produksi dan biaya masih menjadi kendala, kemajuan teknologi rekombinan, humanisasi, dan platform ekspresi baru membuka peluang untuk menghasilkan antibodi yang lebih aman, efektif, dan terjangkau bagi umat manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, G. P. & Weiner, L. M. 2005. Monoclonal Antibody Therapy Of Cancer. *Nat Biotechnol*, 23, 1147-57.
- Alejandra, W.-P., Miriam Irene, J.-P., Fabio Antonio, G.-S., Patricia, R.-G. R., Elizabeth, T.-A., Aleman-Aguilar, J. P. & Rebeca, G.-V. 2023. Production Of Monoclonal Antibodies For Therapeutic Purposes: A Review. *International Immunopharmacology*, 120.
- Castelli, M. S., Mcgonigle, P. & Hornby, P. J. 2019. The Pharmacology And Therapeutic Applications Of Monoclonal Antibodies. *Pharmacol Res Perspect*, 7, E00535.
- De Jong, H. K. & Grobusch, M. P. 2024. Monoclonal Antibody Applications In Travel Medicine. *Trop Dis Travel Med Vaccines*, 10, 2.
- Ding, Z. & Huang, Y. 2024. Production Of Monoclonal Antibodies For Therapeutic Purposes: Applications, Techniques, And Improvement. *Preprints.Org*.
- Fesseha, H., Degu, T. & Endashaw, D. 2020. Therapeutic Application Of Monoclonal Antibodies: A Review. *Journal Of Life Science And Biomedicine*, 10, 59-69.
- Justiz-Vaillant, A., Pandit, B. R., Unakal, C., Vuma, S. & Akpaka, P. E. 2025. A Comprehensive Review About The Use Of Monoclonal Antibodies In Cancer Therapy. *Antibodies*, 14.
- Lu, R. M., Hwang, Y. C., Liu, I. J., Lee, C. C., Tsai, H. Z., Li, H. J. & Wu, H. C. 2020. Development Of Therapeutic Antibodies For The Treatment Of Diseases. *J Biomed Sci*, 27, 1.
- Modjtahedi, H., Ali, S. & Essapen, S. 2012. Therapeutic Application Of Monoclonal Antibodies In Cancer: Advances And Challenges. *Br Med Bull*, 104, 41-59.
- Moorthy, B. S., Xie, B., Moussa, E. M., Iyer, L. K., Chandrasekhar, S., Panchal, J. P. & Topp, E. M. 2015. Structure Of Monoclonal Antibodies. *Biobetters*.

- More', S., Offidani, M., Corvatta, L., Petrucci, M. T. & Fazio, F. 2023. Belantamab Mafodotin: From Clinical Trials Data To Real-Life Experiences. *Cancers*, 15.
- Sirbu, C. A., Ghinescu, M. C., Axelerad, A. D., Sirbu, A. M. & Ionita-Radu, F. 2021. A New Era For Monoclonal Antibodies With Applications In Neurology (Review). *Exp Ther Med*, 21, 86.

BAB

9

MIKROBIOME DAN BIOTEKNOLOGI MIKROBA

apt. Latifa Amalia, M.Pharm.Sci.

A. Pendahuluan

Istilah mikrobiome merujuk pada komunitas ekologis dari mikroorganisme komensal, simbiotik, dan patogen yang berbagi ruang dalam suatu habitat tertentu (Lederberg and Mccray, 2001). Secara lebih komprehensif, mikrobiome tidak hanya mencakup komunitas mikroorganisme hidup—seperti bakteri, archaea, fungi, dan protista—tetapi juga mencakup seluruh "teater aktivitas" mereka. Ini termasuk elemen genetik mobile (seperti fage, virus, dan plasmid), DNA sisa (relic DNA) dari sel-sel mati, serta seluruh spektrum molekul yang mereka hasilkan, mulai dari elemen struktural (protein, lipid) hingga metabolit (molekul sinyal, toksin). Habitat ini bisa sangat beragam, mulai dari lingkungan makroskopis seperti usus manusia, kulit, tanah, hingga lautan (Berg et al., 2020).

Meskipun sering digunakan secara bergantian, terdapat perbedaan teknis yang penting antara istilah "microbiome" dan "microbiota". Microbiota secara spesifik merujuk pada *kumpulan organisme hidup* itu sendiri, seperti bakteri, archaea, fungi, dan protista yang mendiami lingkungan tertentu. Di sisi lain, mikrobiome adalah istilah yang jauh lebih luas, mencakup *keseluruhan ekosistem*. Ini tidak hanya mencakup microbiota (organisme hidup), tetapi juga semua elemen non-hidup dan produk aktivitas mereka, termasuk virus, fage, plasmid, DNA sisa, serta seluruh koleksi genom dan gen dari anggota

microbiota (dikenal sebagai metagenome) (Marchesi and Ravel, 2015; Orozco-Mosqueda et al., 2018).

Mikrobiome memainkan peran krusial dalam menjaga keseimbangan atau homeostasis. Selama berabad-abad, fokus utama mikrobiologi medis adalah pada mikroba sebagai agen penyebab penyakit (patogen). Namun, penelitian komprehensif menunjukkan bahwa hanya sebagian kecil mikroorganisme yang bersifat patogen. Sebagian besar mikroba sangat esensial untuk fungsi ekosistem dan dikenal karena interaksi yang menguntungkan.

Dalam kesehatan manusia, mikrobiome (terutama di usus) bertindak sebagai organ fungsional. Tubuh manusia diperkirakan menampung 75 hingga 200 triliun organisme bakteri, melebihi jumlah sel tubuh manusia (sekitar 50-100 triliun). Mikroba ini membantu mencerna makanan, menghasilkan vitamin esensial, melatih sistem kekebalan tubuh, dan melindungi dari patogen (Sender et al., 2016).

Mikrobiome bersifat dinamis dan dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti diet, obat-obatan (terutama antibiotik), dan infeksi. Gangguan pada keseimbangan ini (dikenal sebagai disbiosis) telah dikaitkan dengan berbagai kondisi penyakit kronis, termasuk obesitas, diabetes, penyakit hati, kanker, dan penyakit kardiovaskular (de Gunzburg et al., 2018).

Studi mikrobiome modern sangat bergantung pada kemajuan bioteknologi, terutama teknologi sekuensing DNA. Bioteknologi memungkinkan kita beralih dari sekadar mengidentifikasi mikroba satu per satu (melalui kultur) menjadi menganalisis seluruh komunitas secara kolektif.

Hubungan utamanya terletak pada pemanfaatan informasi genetik. Dengan teknik seperti *metagenomics* (sekuensing seluruh DNA dalam sampel), bioteknologi memungkinkan kita untuk:

1. Mengidentifikasi: Mengetahui "siapa saja" yang ada dalam komunitas, termasuk mikroba yang tidak dapat dikultur di laboratorium (*cultivation-independent*).

2. Menganalisis Potensi Fungsional: Memahami "apa yang bisa mereka lakukan" dengan menganalisis total gen (metagenom) yang ada.
3. Manipulasi: Membuka jalan untuk memanipulasi komunitas mikroba (misalnya melalui probiotik, prebiotik, atau transplantasi mikrobiota) untuk tujuan kesehatan atau aplikasi industri (misalnya, bioremediasi) (Berg et al., 2020).

Revolusi *multi-omics* (metatranskriptomik, metaproteomik, metabolomik) adalah puncak dari aplikasi bioteknologi ini, yang memungkinkan kita melihat tidak hanya potensi genetik tetapi juga aktivitas aktual (ekspresi gen, protein, dan metabolit) dari mikrobiome di habitat aslinya (Knight et al., 2018; Stegen et al., 2018).

B. Sejarah dan Perkembangan Studi Mikrobiome

Studi mikrobiome modern berakar kuat pada sejarah mikrobiologi. Meskipun peradaban kuno telah memanfaatkan mikroba secara empiris selama ribuan tahun, misalnya untuk fermentasi makanan sejak 6.000 SM, pengamatan ilmiah baru dimulai pada abad ke-17. Sekitar tahun 1676, Antonie van Leeuwenhoek, menggunakan mikroskop lensa tunggal rancangannya sendiri, menjadi orang pertama yang mengamati dan mendeskripsikan bakteri, yang ia sebut "animalcules" (hewan kecil), dari sampel plak gigi dan air; ia bahkan mengamati biofilm, yang merupakan indikasi awal kehidupan mikroba dalam komunitas yang kompleks (Sidebottom, 2023).

Perkembangan signifikan berlanjut di abad ke-19, ketika Louis Pasteur (1860-an) mengembangkan media kultur pertama untuk menumbuhkan mikroorganisme dan memperkenalkan istilah "aérobis" (membutuhkan oksigen) serta "anaérobis" (hidup tanpa oksigen) setelah menemukan *Clostridium septicum*. Tak lama kemudian, pada akhir abad ke-19, Robert Koch memberikan kontribusi penting dengan menjelaskan asal usul penyakit sebagai konsekuensi infeksi mikroba, yang dikenal sebagai Konsep Patogenitas. Meskipun ini adalah tonggak sejarah, hal tersebut juga menyebabkan pergeseran paradigma,

di mana fokus penelitian dan publik bergeser pada peran mikroorganisme sebagai agen penyebab penyakit yang harus dihilangkan (Sidebottom, 2023).

Namun, pada saat yang sama, Martinus W. Beijerinck dan Sergei N. Winogradski memelopori bidang ekologi mikroba. Pekerjaan mereka memicu pergeseran paradigma lain dengan menunjukkan bahwa mikroorganisme ada di mana-mana di lingkungan alam, seringkali bermanfaat, dan esensial bagi siklus nutrisi. Melengkapi pandangan ini, pada tahun 1880-an, Theodor Escherich mengisolasi *Escherichia coli* dari flora usus anak-anak sehat, yang menunjukkan keberadaan mikroba normal dalam tubuh manusia (Berg et al., 2020).

Selama hampir satu abad, mikrobiologi didominasi oleh metode berbasis kultur (isolasi kultur murni). Namun, disadari bahwa sebagian besar mikroba di alam tidak dapat ditumbuhkan di laboratorium. Terobosan besar datang dari biologi molekuler:

1. Era Pra-NGS (1970-an - 1990-an):

- a. Penemuan DNA, PCR, dan teknik kloning memungkinkan studi berbasis DNA/RNA yang tidak bergantung pada kultur (*cultivation-independent*).
- b. 1977: Carl Woese dan George E. Fox memperkenalkan penggunaan gen 16S rRNA sebagai penanda filogenetik. Gen ini ada di semua bakteri dan archaea, sehingga memungkinkan para ilmuwan mengidentifikasi dan mengklasifikasikan mikroba hanya dari sekuens DNA mereka.
- c. 1990-an: Istilah "metagenomics" dicetuskan oleh Jo Handelsman untuk menggambarkan studi kolektif genom yang diambil langsung dari sampel lingkungan.
- d. 1995: Genom bakteri pertama (*Haemophilus influenzae*) berhasil disekuensing.

2. Revolusi NGS (Awal abad ke-21 - sekarang):

- a. Munculnya teknologi *Next Generation Sequencing* (NGS) – atau sekuensing *throughput* tinggi – menyebabkan ledakan dalam studi mikrobiome. Biaya sekuensing turun

drastis, memungkinkan analisis ribuan sampel secara mendalam.

- b. Teknik *shotgun sequencing* (seperti yang ditunjukkan oleh Tyson et al. pada 2004) memungkinkan para ilmuwan untuk merekonstruksi genom dari komunitas campuran tanpa perlu mengisolasi setiap spesies.
- c. NGS tidak hanya merevolusi *metagenomics* (apa yang bisa mereka lakukan) tetapi juga melahirkan bidang *multi-omics* lainnya:
 - 1) Metatranskriptomik: Menganalisis ekspresi gen (RNA) dalam komunitas.
 - 2) Metaproteomik: Menganalisis protein yang diekspresikan.
 - 3) Metabolomik: Menganalisis produk metabolit.
- d. Teknologi ini memberikan gambaran yang sangat rinci tentang *aktivitas* dan *fungsi* mikrobiome secara *real-time* di habitat aslinya (Berg et al., 2020).

Revolusi teknologi ini memfasilitasi proyek penelitian kolaboratif berskala besar untuk memetakan mikrobiome di seluruh dunia.

- a. *Human Microbiome Project* (HMP): Diluncurkan secara resmi pada tahun 2007 oleh National Institutes of Health (NIH) AS. Proyek ini merupakan "proyek genom manusia kedua" (seperti yang diadvokasi oleh Relman dan Falkow). Tujuannya adalah untuk mengkaraktirasi komunitas mikroba yang ditemukan di beberapa lokasi tubuh manusia (usus, mulut, kulit, vagina, hidung) dan menganalisis peran mereka dalam kesehatan dan penyakit. HMP sangat penting dalam menetapkan garis dasar (baseline) mikrobiome manusia yang sehat (Sidebottom, 2023).
- b. *Earth Microbiome Project* (EMP): Proyek kolaboratif global yang bertujuan untuk mengkaraktirasi keanekaragaman mikroba di seluruh planet. EMP mengumpulkan dan menganalisis sampel dari berbagai ekosistem di seluruh dunia (tanah, air laut, sedimen,

udara, dan habitat terkait hewan/tumbuhan) untuk membangun database global ekologi mikroba (Berg et al., 2020).

Dampak bioteknologi, terutama NGS dan multi-omics, terhadap ekologi mikroba sangat mendalam:

1. **Pergeseran dari Sel Tunggal ke Komunitas:** Bioteknologi mengubah fokus dari studi mikroba sebagai sel tunggal (kultur murni era Koch) menjadi studi komunitas yang kompleks di mana interaksi dan komunikasi antar spesies sangat penting.
2. **Mengungkap "Materi Gelap Mikroba":** Sebagian besar mikroba (diperkirakan >99%) tidak dapat dikultur. Pendekatan berbasis sekuensing (bebas kultur) telah membuka "kotak hitam" ini, mengungkap keanekaragaman mikroba yang luar biasa di hampir setiap lingkungan di Bumi.
3. **Fokus pada Fungsi, Bukan Hanya Taksonomi:** Metagenomik dan multi-omics memungkinkan peneliti untuk beralih dari sekadar bertanya "Siapa di sana?" (taksonomi) menjadi "Apa yang mereka lakukan?" (potensi fungsional) dan "Apa yang mereka lakukan sekarang?" (aktivitas aktual).
4. **Kebangkitan Culturomics:** Paradoksnya, data genomik dan metagenomik yang melimpah telah menghidupkan kembali pentingnya teknik kultur. Culturomics, atau penggunaan teknik kultur throughput tinggi, kini digunakan untuk menargetkan dan mengisolasi mikroba "yang sebelumnya tidak dapat dikultur" berdasarkan wawasan yang diperoleh dari data sekuensing, melengkapi studi multi-omics.

C. Teknik dan Pendekatan Bioteknologi dalam Studi Mikrobiome

Untuk mengungkap kompleksitas komunitas mikroba, studi mikrobiome modern sangat bergantung pada berbagai teknik bioteknologi canggih. Pendekatan ini diperlukan karena metode mikrobiologi tradisional berbasis kultur tidak mampu

menangkap sebagian besar keanekaragaman mikroba yang ada di suatu lingkungan. Oleh karena itu, para peneliti telah beralih ke strategi *culture-independent* (bebas kultur) yang secara kolektif dikenal sebagai pendekatan "multi-omics". Teknik-teknik ini memungkinkan kita untuk menganalisis berbagai aspek mikrobiome secara holistik—mulai dari mengidentifikasi *siapa* yang ada, menganalisis *potensi genetik* apa yang mereka miliki, hingga memahami *aktivitas fungsional* yang sedang mereka lakukan. Bagian ini akan menguraikan beberapa pendekatan bioteknologi inti, seperti metagenomik, metatranskriptomik, metaproteomik, dan metabolomik, yang menjadi pilar dalam penelitian mikrobiome saat ini.

1. Metagenomik

Metagenomik adalah pendekatan bioteknologi kunci yang menganalisis total DNA (materi genetik) yang diekstraksi langsung dari komunitas mikroba campuran dalam suatu sampel lingkungan tanpa memerlukan proses kultur. Sebuah kemajuan transformatif dalam bidang ini adalah Metagenomik Berbasis Genom (Genome-Resolved Metagenomics). Teknik ini melampaui sekuensing 16S rRNA tradisional dengan memberikan wawasan yang lebih dalam, memungkinkan peneliti untuk merakit dan menganalisis genom individu (dikenal sebagai Metagenome-Assembled Genomes atau MAGs) langsung dari data metagenomik campuran.

Pendekatan ini sangat penting karena memungkinkan penemuan genom baru dari mikroorganisme (bakteri, virus, fungi) yang sebelumnya tidak terdeteksi, serta memfasilitasi studi variasi genetik di dalam spesies (seperti *single nucleotide variants* atau SNVs) dan pelacakan evolusi mikrobiome. Pada akhirnya, MAGs memungkinkan dilakukannya pemodelan metabolisme skala genom pada spesies yang belum dapat dikultur, yang sangat krusial untuk memahami potensi fungsional sebenarnya dari mikrobiome (Kim et al., 2024).

2. Metatranskriptomik

Metatranskriptomik berfokus pada analisis profil transkripsional (ekspresi gen) dalam sampel mikrobiome, sehingga memberikan wawasan penting mengenai aktivitas komunitas mikroba. Pendekatan ini melengkapi metode berbasis DNA (seperti metagenomik) yang tidak dapat menunjukkan viabilitas sel atau gen mana yang sedang diekspresikan. Metode utamanya adalah shotgun metatranscriptomics melalui RNA-Seq. Proses ini melibatkan ekstraksi RNA total, yang harus dilakukan dengan hati-hati karena RNA mudah terdegradasi. Langkah selanjutnya adalah pemurnian mRNA (biasanya dengan menghilangkan rRNA), sintesis cDNA, dan kemudian sekuensing. Analisis bioinformatika dapat dilakukan dengan mencocokkan data reads ke genom referensi atau melalui perakitan *de novo* untuk menentukan kelimpahan transkrip, yang kemudian digunakan untuk memprofilkan taksonomi dan fungsi aktif komunitas (Arikan and Muth, 2023).

3. Metaproteomik

Metaproteomik adalah studi tentang keseluruhan konten protein dalam sampel mikrobiome, yang secara langsung menyelidiki fungsionalitas komunitas tersebut. Pendekatan yang paling banyak digunakan adalah shotgun metaproteomics. Proses ini umumnya melibatkan ekstraksi protein total dari sampel, yang kemudian didigesti (biasanya menggunakan tripsin) untuk dipecah menjadi peptida. Peptida ini dipisahkan menggunakan kromatografi (misalnya, LC) dan dianalisis menggunakan mass spectrometry (MS/MS). Spektrum massa yang dihasilkan kemudian dibandingkan dengan database protein teoretis (seringkali berasal dari data metagenomik terkait) untuk mengidentifikasi dan mengukur kelimpahan protein (Arikan and Muth, 2023).

4. Metabolomik

Metabolomik berfokus pada molekul kecil (metabolit, umumnya <2000 Da) yang merupakan substrat dan produk akhir dari aktivitas enzimatik. Pendekatan ini memberikan "potret" (snapshot) kondisi fisiologis ekosistem mikroba, yang secara efektif menjembatani komposisi genetik (genotipe) dengan fenotipe yang teramati. Teknik deteksi utama adalah Nuclear Magnetic Resonance (NMR) dan Mass Spectrometry (MS) yang digabungkan dengan teknik pemisahan seperti kromatografi (LC-MS atau GC-MS). NMR unggul dalam kuantifikasi langsung namun sensitivitasnya rendah, sementara MS jauh lebih sensitif (mampu mendeteksi ribuan metabolit) meskipun kuantifikasinya lebih menantang. Analisis ini membantu mengidentifikasi metabolit yang berperan sebagai biomarker atau molekul sinyal dalam interaksi mikroba-inang (Arikan and Muth, 2023).

D. Mikrobiome dalam Kesehatan dan Kedokteran

Saluran pencernaan manusia (GIT) menampung komunitas mikroba padat yang dikenal sebagai mikrobiome usus. Komunitas ini sangat masif, dengan jumlah sel bakteri yang 10 kali lipat melebihi sel tubuh manusia dan jumlah gen yang 100 kali lipat melebihi genom manusia. Mikrobiome ini telah terbukti memainkan peran integral dalam metabolisme, nutrisi, fisiologi, dan fungsi kekebalan tubuh inang (Bull and Plummer, 2014).

Mikrobiota usus yang sehat didominasi oleh bakteri anaerob, terutama dari dua filum utama yaitu Bacteroidetes dan Firmicutes (Xu and Gordon, 2003). Komposisi ini mulai terbentuk sejak lahir, dipengaruhi oleh metode persalinan (normal atau caesar) dan pola makan awal (ASI atau formula) (Jiménez et al., 2008). Meskipun komposisi spesies mikroba bisa sangat bervariasi antar individu, fungsi keseluruhan komunitas cenderung stabil. Hal ini disebabkan oleh adanya redundansi fungsional, di mana spesies bakteri yang berbeda dapat

menjalankan fungsi metabolik vital yang sama, memastikan sistem tetap seimbang (Sekirov et al., 2010).

Fungsi utama mikrobiome dalam kesehatan meliputi:

1. **Metabolisme:** Mencerna karbohidrat kompleks (serat) yang tidak dapat dicerna oleh manusia, menghasilkan *short-chain fatty acids* (SCFA) sebagai sumber energi, memproduksi vitamin (seperti vitamin K dan B), dan sintesis asam amino.
2. **Perlindungan Inang:** Mencegah kolonisasi patogen melalui "efek penghalang" atau *competitive exclusion*, di mana mikroba komensal bersaing memperebutkan nutrisi dan tempat menempel pada dinding usus, serta menghasilkan zat antimikroba (bakteriosin).
3. **Pengembangan Imun:** Mikrobiome sangat penting untuk "melatih" sistem kekebalan mukosa usus. Interaksi yang terus-menerus ini mengajarkan sistem imun untuk merespons secara proporsional terhadap antigen, yang jika gagal dapat memicu alergi.
4. **Sumbu Usus-Otak (Gut-Brain Axis):** Terdapat sistem komunikasi dua arah yang kompleks (melalui sinyal saraf, hormonal, dan imunologi) antara usus dan otak. Mikrobiota dapat memengaruhi respons stres, dan sebaliknya, stres dapat mengubah komposisi mikrobiota (Bull and Plummer, 2014).

Ketidakseimbangan dalam komposisi atau fungsi normal mikrobiota usus, yang dikenal sebagai disbiosis, telah dikaitkan erat dengan berbagai kondisi penyakit. Ini tidak hanya mencakup gangguan pencernaan seperti *inflammatory bowel disease* (IBD) dan *irritable bowel syndrome* (IBS), tetapi juga penyakit metabolik sistemik.

Pada penyakit metabolik seperti obesitas dan diabetes tipe 2, hubungan dengan mikrobiome bersifat kompleks. Meskipun studi awal pada hewan pengerat menunjukkan pergeseran rasio Firmicutes/Bacteroidetes pada obesitas, temuan ini tidak selalu konsisten pada manusia (Sekirov et al., 2010).

Untuk diabetes tipe 2, penelitian cenderung menunjuk pada disbiosis fungsional. Ini berarti masalahnya mungkin bukan disebabkan oleh satu spesies patogen tertentu, melainkan karena hilangnya fungsi-fungsi menguntungkan, seperti penurunan bakteri penghasil butirrat (salah satu SCFA). Disbiosis ini diyakini berkontribusi pada resistensi insulin dan inflamasi tingkat rendah, yang menjadi ciri khas penyakit metabolik (Sekirov et al., 2010).

Terapi berbasis mikrobioma bertujuan memulihkan keseimbangan populasi mikroba sehat dalam tubuh inang serta menormalkan jaringan metabolik yang dikendalikannya. Secara umum, pendekatan ini mencakup lima kategori utama: prebiotik, transplantasi mikrobiota feses (FMT), probiotik, terapi bioterapeutik hidup, dan postbiotik.

1. Prebiotik

Prebiotik merupakan komponen pangan non-hidup yang tidak dapat dicerna oleh tubuh, namun menstimulasi pertumbuhan mikroba menguntungkan di usus. Sebagian besar prebiotik berbasis karbohidrat seperti inulin, oligofruktosa, dan galaktooligosakarida, meski senyawa lain seperti asam lemak tak jenuh ganda dan polifenol juga memiliki efek serupa.

Prebiotik ideal tahan terhadap asam lambung dan enzim pencernaan, serta dapat difermentasi oleh mikroba usus menjadi asam organik yang menurunkan pH lumen dan menghambat pertumbuhan patogen. Namun, efektivitas prebiotik bergantung pada keberadaan mikroba bermanfaat dalam usus, sehingga dalam kondisi disbiosis seringkali diperlukan terapi yang lebih langsung seperti FMT (Alam et al., 2023).

2. Transplantasi Mikrobiota Feses (FMT)

FMT, atau bakterioterapi, dilakukan dengan mentransfer feses dari donor sehat ke pasien guna memulihkan keragaman mikroba usus dan metabolitnya (*metabolome*). Metode ini pertama kali diterapkan untuk mengobati infeksi *Clostridium difficile* dengan tingkat

keberhasilan sekitar 89% dalam uji klinis terkontrol. Perbaikan klinis terjadi melalui engraftment mikroba donor, peningkatan asam lemak rantai pendek (SCFA), dan pemulihan keseimbangan asam empedu. Selain untuk infeksi, FMT juga diteliti pada penyakit seperti IBD, gangguan metabolik, neuropsikiatri, dan imunoterapi kanker, meskipun hasilnya masih bervariasi. Kini dikembangkan versi lebih aman berupa “defined FMT”, yaitu campuran mikroba terpilih dari donor sehat untuk mengurangi risiko dan meningkatkan kontrol klinis (Alam et al., 2023).

3. Probiotik

Probiotik adalah mikroorganisme hidup (umumnya *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, dan *Saccharomyces*) yang memberi manfaat kesehatan bila dikonsumsi dalam jumlah cukup.

Probiotik bekerja dengan menghasilkan peptida antimikroba, memperkuat lapisan mukosa, serta menstimulasi imunitas mukosa. Meskipun studi hewan menunjukkan efek antiinflamasi, hasil klinis pada pasien IBD masih inkonsisten. Kombinasi beberapa strain kadang memberi manfaat pada ulcerative colitis, namun tidak efektif untuk Crohn’s disease.

Probiotik *Saccharomyces boulardii* terbukti menurunkan kekambuhan *C. difficile* bila diberikan bersamaan dengan antibiotik dosis tinggi, namun keterbatasan kolonisasi jangka panjang di usus sering menghambat efektivitasnya (Alam et al., 2023).

4. Terapi Bioterapeutik Hidup (*Live Biotherapeutics*)

Berbeda dari probiotik konvensional, terapi ini menggunakan satu atau beberapa spesies bakteri terpilih yang mampu berkolonisasi dan dirancang untuk manfaat klinis tertentu.

Contohnya, konsorsium spora *Firmicutes* (produk SER-109 dari Seres Therapeutics) terbukti efektif mencegah kekambuhan *C. difficile* pada uji fase 3, sedangkan kombinasi

8 bakteri (VE303, Vedanta Biosciences) menunjukkan hasil menjanjikan pada uji fase 2. Pendekatan ini dianggap sebagai bentuk “generasi berikutnya” dari terapi mikrobioma yang lebih aman dan terstandar dibanding FMT konvensional (Alam et al., 2023).

5. Postbiotik

Postbiotik mencakup molekul aktif atau metabolit yang dihasilkan mikroba, seperti SCFA (*Short Chain Fatty Acids*) dan asam empedu sekunder, yang memiliki efek antiinflamasi dan imunomodulator. Meskipun hasil pada model hewan menunjukkan perbaikan kolitis, uji klinis manusia masih bervariasi. Keunggulan postbiotik ialah kemampuannya untuk dimodifikasi secara kimia sehingga efek samping dapat diminimalkan dan target terapi lebih spesifik. Pendekatan ini menjanjikan sebagai strategi untuk memanfaatkan manfaat mikrobioma tanpa harus memindahkan mikroorganismenya secara langsung (Alam et al., 2023).

E. Mikrobiome dalam Pertanian dan Lingkungan

Mikrobioma tanah dalam konteks pertanian berkelanjutan berfungsi sebagai komponen vital dalam siklus biogeokimia, terutama dalam proses dekomposisi bahan organik dan daur ulang unsur hara penting seperti nitrogen, fosfor, dan karbon. Aktivitas mikroba tertentu, misalnya *Rhizobium*, *Azospirillum*, dan *Azotobacter*, mampu melakukan fiksasi nitrogen dari udara menjadi bentuk yang dapat diserap oleh tanaman, sehingga mengurangi kebutuhan pupuk kimia sintetis. Selain itu, mikroorganisme seperti *Trichoderma* dan *Pseudomonas fluorescens* berperan sebagai agen biokontrol yang melindungi tanaman dari patogen penyebab penyakit akar (Suman et al., 2022).

Di sisi lain, mikrobioma lingkungan juga berperan dalam menjaga kualitas ekosistem melalui proses bioremediasi, yaitu pemanfaatan mikroba untuk menguraikan atau menetralkan polutan di tanah maupun air. Beberapa spesies mikroba mampu

mendegradasi pestisida, hidrokarbon, atau logam berat sehingga dapat mengurangi dampak pencemaran terhadap lingkungan. Pendekatan ini menjadi alternatif ramah lingkungan dibandingkan metode fisik atau kimia yang sering kali mahal dan tidak berkelanjutan (Suman et al., 2022).

Revolusi hijau pada abad ke-20 berhasil meningkatkan hasil pertanian, tetapi juga menimbulkan dampak lingkungan serius seperti degradasi tanah, polusi, dan hilangnya keanekaragaman hayati. Untuk mengatasi tantangan tersebut, bioteknologi mikroba menjadi pendekatan berkelanjutan yang mampu meningkatkan produktivitas sekaligus menjaga keseimbangan ekosistem pertanian (Gu et al., 2016).

Bioteknologi mikroba berperan melalui pemanfaatan biofertilizer, biopestisida, bioherbisida, dan bioinsektisida, yang membantu mengurangi ketergantungan terhadap bahan kimia sintetis. Mikroba tanah, terutama yang hidup di wilayah rhizosfer, berperan penting dalam fiksasi nitrogen, peningkatan ketersediaan unsur hara (P, S, Zn, Fe), pengendalian patogen, serta peningkatan toleransi tanaman terhadap stres biotik dan abiotik (Noble and Ruaysoongnern, 2010).

Kemajuan bioteknologi molekuler memungkinkan peningkatan ketahanan tanaman melalui transfer gen dan rekayasa mikroba untuk bioremediasi serta pengendalian biologis. Tanaman hasil rekayasa genetika seperti kedelai, jagung, dan tomat kini memiliki ketahanan terhadap hama, penyakit, dan herbisida sekaligus memperpanjang umur simpan produk (Suman et al., 2022).

Perkembangan teknologi sekuensing modern, seperti Next-Generation Sequencing (NGS) dan metagenomik, memungkinkan identifikasi dan analisis mikrobioma tanah secara cepat dan akurat tanpa perlu kultur konvensional. Informasi ini mendukung manipulasi mikrobioma untuk meningkatkan serapan nutrisi, ketahanan tanaman, dan produktivitas lahan secara berkelanjutan (Noble and Ruaysoongnern, 2010).

Dengan demikian, bioteknologi mikroba berperan strategis dalam mewujudkan sistem pertanian yang produktif, ramah lingkungan, dan berorientasi pada keberlanjutan sumber daya alam.

F. Integrasi Mikrobiome dan Bioteknologi Modern

Integrasi antara studi mikrobiome dan bioteknologi modern merupakan evolusi dari hubungan yang telah terjalin selama ribuan tahun. Secara historis, manusia memanfaatkan mikroorganisme untuk bioteknologi dasar, seperti produksi roti dan bir. Di era modern, bioteknologi mikroba menjadi krusial dalam produksi senyawa bioaktif alami yang vital, seperti antibiotik dan agen antikanker. Lebih penting lagi, bioteknologi mikroba menjadi tulang punggung dari revolusi rekayasa genetika, dengan menyediakan perangkat enzimatik esensial (seperti *Taq DNA polymerase* yang termostabil dari *Thermus aquaticus* untuk PCR, dan enzim restriksi) serta materi genetik ekstrakromosomal (plasmid) yang diperlukan untuk kloning (Santos-Beneit, 2024).

Hubungan antara bioteknologi mikroba dan rekayasa genetika bersifat simbiosis mutualisme atau saling memperkuat. Di satu sisi, bioteknologi mikroba menyediakan alat fundamental; penemuan sistem penyuntingan gen CRISPR-Cas dari bakteri adalah contoh paling revolusioner. Di sisi lain, rekayasa genetika memungkinkan modifikasi presisi pada mikroorganisme untuk meningkatkan kemampuan bioteknologi mereka, seperti mengoptimalkan efisiensi produksi antibiotik (Santos-Beneit, 2024).

Langkah monumental dalam integrasi ini adalah kemajuan teknologi sekuensing. Dimulai dengan *Human Genome Project* (HGP), pengembangan platform *Next-Generation Sequencing* (NGS) yang cepat dan murah telah memungkinkan para ilmuwan untuk beralih dari menganalisis genom satu organisme menjadi menganalisis seluruh komunitas genetik. Ini melahirkan pemahaman mendalam tentang mikrobiota (kumpulan mikroba) dan mikrobiome (kumpulan genom

kolektif mereka). Kemampuan untuk memetakan informasi genetik dari ribuan mikroorganisme yang menghuni tubuh kita menjadi krusial untuk memahami perbedaan antara kondisi sehat dan sakit (Santos-Beneit, 2024).

Integrasi bioteknologi dan pemahaman mikrobiome kini diarahkan untuk mengatasi tantangan medis terbesar, terutama resistensi antimikroba ("superbugs") dan keterbatasan pengobatan kanker. Beberapa strategi utama yang lahir dari integrasi ini meliputi:

- 1. Biologi Sintetis dan Rekayasa Metabolisme:** Daripada hanya mengandalkan mutasi acak (metode klasik), para ilmuwan kini menggunakan rekayasa genetika presisi untuk merombak total program penemuan antibiotik. Dalam biologi sintetis, peneliti dapat mengatur ulang gen-gen *polyketide synthase* (PKS) modular untuk menciptakan produk alami "unnatural" (tidak ada di alam) dengan sifat yang lebih baik. Banyak obat penting (antibiotik, immunosupresan, antikolesterol) berasal dari jalur poliketida ini.
- 2. Penambangan Genom (*Genome Mining*) dan Metagenomik:** Teknik "multi-omics" (genomik, transkriptomik) memungkinkan peneliti untuk mengaktifkan jalur biosintetik "bisu" (*silent*) di dalam mikroba yang sebelumnya tidak teridentifikasi. Lebih lanjut, metagenomik—studi genom langsung dari sampel lingkungan tanpa kultur—memberikan akses ke perpustakaan genetik masif dari komunitas yang belum dapat dikultur. Dengan bantuan alat bioinformatika seperti antiSMASH dan *machine learning*, para ilmuwan dapat "menambang" data metagenome ini untuk menemukan klaster gen baru yang menghasilkan antibiotik atau senyawa bioaktif baru.
- 3. Peralatan Bioteknologi Baru:**
 - a. CRISPR-Cas:** Sistem yang berasal dari bakteri ini telah menjadi alat rekayasa genetika paling kuat. Sistem CRISPR-Cas9 (dari *Streptococcus pyogenes*) dapat digunakan untuk memotong DNA (knock-out), sementara varian lain seperti dCas dapat mengatur

ekspresi gen, dan Cas13 dapat menargetkan RNA (knock-down). Sistem yang lebih baru seperti CAST (*CRISPR-associated transposase*) bahkan memungkinkan insersi DNA presisi (knock-in), membuka jalan bagi terapi gen yang canggih.

- b. **Sistem Bebas Sel (*Cell-free Systems*):** Ini adalah platform bioteknologi yang memungkinkan sintesis protein dan studi reaksi biologis di dalam tabung reaksi, mempercepat penemuan obat tanpa dibatasi oleh kebutuhan sel hidup.
- 4. **Terapi Alternatif untuk Resistensi:** Untuk mengatasi bentuk resistensi bakteri yang sulit (seperti endospora, biofilm, dan bakteri bentuk-L yang kebal antibiotik), bioteknologi memanfaatkan musuh alami bakteri. Terapi bakteriofage (fage) – virus yang secara spesifik menginfeksi dan membunuh bakteri – kini dikembangkan sebagai terapi presisi yang dapat disesuaikan untuk menyerang strain patogen tertentu.
- 5. **Biomaterial Medis:** Bioteknologi mikroba dimanfaatkan untuk memproduksi bioplastik yang biokompatibel dan dapat terurai secara hayati, seperti *polyhydroxyalkanoates* (PHAs). Material ini sangat menjanjikan untuk aplikasi medis, termasuk sebagai perancah (*scaffold*) untuk rekayasa jaringan dan sebagai sistem penghantaran obat (*drug delivery*) yang dapat melepaskan obat secara terkontrol di dalam tubuh (Santos-Beneit, 2024).

DAFTAR PUSTAKA

- Alam, M.Z., Maslanka, J.R., Abt, M.C., 2023. Immunological consequences of microbiome-based therapeutics. *Front. Immunol.* 13. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1046472>
- Arikan, M., Muth, T., 2023. Integrated multi-omics analyses of microbial communities: a review of the current state and future directions. <https://doi.org/10.1039/D3MO00089C>
- Berg, G., Rybakova, D., Fischer, D., Cernava, T., Vergès, M.-C.C., Charles, T., Chen, X., Cocolin, L., Eversole, K., Corral, G.H., Kazou, M., Kinkel, L., Lange, L., Lima, N., Loy, A., Macklin, J.A., Maguin, E., Mauchline, T., McClure, R., Mitter, B., Ryan, M., Sarand, I., Smidt, H., Schelkle, B., Roume, H., Kiran, G.S., Selvin, J., Souza, R.S.C. de, van Overbeek, L., Singh, B.K., Wagner, M., Walsh, A., Sessitsch, A., Schlöter, M., 2020. Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome* 8, 103. <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00875-0>
- Bull, M.J., Plummer, N.T., 2014. Part 1: The Human Gut Microbiome in Health and Disease. *Integr. Med. Clin. J.* 13, 17–22.
- de Gunzburg, J., Ghoulane, A., Ducher, A., Le Chatelier, E., Duval, X., Ruppé, E., Armand-Lefevre, L., Sablier-Gallis, F., Burdet, C., Alavoine, L., Chachaty, E., Augustin, V., Varastet, M., Levenez, F., Kennedy, S., Pons, N., Mentré, F., Andremont, A., 2018. Protection of the Human Gut Microbiome From Antibiotics. *J. Infect. Dis.* 217, 628–636. <https://doi.org/10.1093/infdis/jix604>
- Gu, Y., Wei, Z., Wang, Xueqi, Friman, V.-P., Huang, J., Wang, Xiaofang, Mei, X., Xu, Y., Shen, Q., Jousset, A., 2016. Pathogen invasion indirectly changes the composition of soil microbiome via shifts in root exudation profile. *Biol. Fertil. Soils* 52, 997–1005. <https://doi.org/10.1007/s00374-016-1136-2>

- Jiménez, E., Marín, M.L., Martín, R., Odriozola, J.M., Olivares, M., Xaus, J., Fernández, L., Rodríguez, J.M., 2008. Is meconium from healthy newborns actually sterile? *Res. Microbiol.* 159, 187–193. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2007.12.007>
- Kim, N., Ma, J., Kim, W., Kim, J., Belenky, P., Lee, I., 2024. Genome-resolved metagenomics: a game changer for microbiome medicine. *Exp. Mol. Med.* 56, 1501–1512. <https://doi.org/10.1038/s12276-024-01262-7>
- Knight, R., Vrbanac, A., Taylor, B.C., Aksenov, A., Callewaert, C., Debelius, J., Gonzalez, A., Kosciulek, T., McCall, L.-I., McDonald, D., Melnik, A.V., Morton, J.T., Navas, J., Quinn, R.A., Sanders, J.G., Swafford, A.D., Thompson, L.R., Tripathi, A., Xu, Z.Z., Zaneveld, J.R., Zhu, Q., Caporaso, J.G., Dorrestein, P.C., 2018. Best practices for analysing microbiomes. *Nat. Rev. Microbiol.* 16, 410–422. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0029-9>
- Lederberg, J., Mccray, A., 2001. `Ome Sweet `Omics--A genealogical treasury of words. *The Scientist* 15.
- Marchesi, J.R., Ravel, J., 2015. The vocabulary of microbiome research: a proposal. *Microbiome* 3, 31. <https://doi.org/10.1186/s40168-015-0094-5>
- Noble, A.D., Ruaysoongnern, S., 2010. The Nature of Sustainable Agriculture, in: *Soil Microbiology and Sustainable Crop Production*. Springer, Dordrecht, pp. 1–25. https://doi.org/10.1007/978-90-481-9479-7_1
- Orozco-Mosqueda, M.D.C., Rocha-Granados, M.D.C., Glick, B.R., Santoyo, G., 2018. Microbiome engineering to improve biocontrol and plant growth-promoting mechanisms. *Microbiol. Res.* 208, 25–31. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.01.005>
- Santos-Beneit, F., 2024. What is the role of microbial biotechnology and genetic engineering in medicine? *MicrobiologyOpen* 13, e1406. <https://doi.org/10.1002/mbo3.1406>

- Sekirov, I., Russell, S.L., Antunes, L.C.M., Finlay, B.B., 2010. Gut microbiota in health and disease. *Physiol. Rev.* 90, 859–904. <https://doi.org/10.1152/physrev.00045.2009>
- Sender, R., Fuchs, S., Milo, R., 2016. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLOS Biol.* 14, e1002533. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002533>
- Sidebottom, A.M., 2023. A Brief History of Microbial Study and Techniques for Exploring the Gastrointestinal Microbiome. *Clin. Colon Rectal Surg.* 36, 98–104. <https://doi.org/10.1055/s-0042-1760678>
- Stegen, J.C., Bottos, E.M., Jansson, J.K., 2018. A unified conceptual framework for prediction and control of microbiomes. *Curr. Opin. Microbiol., Microbiota* 44, 20–27. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2018.06.002>
- Suman, J., Rakshit, A., Ogireddy, S.D., Singh, S., Gupta, C., Chandrakala, J., 2022. Microbiome as a Key Player in Sustainable Agriculture and Human Health. *Front. Soil Sci.* 2. <https://doi.org/10.3389/fsoil.2022.821589>
- Xu, J., Gordon, J.I., 2003. Honor thy symbionts. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100, 10452–10459. <https://doi.org/10.1073/pnas.1734063100>

TENTANG PENULIS



Ramlah, S.Si., M.Sc. Dosen Program Studi Pendidikan Biologi Universitas Sulawesi Barat. Penulis Lahir di Polewali Mandar, Provinsi Sulawesi Barat, Indonesia pada tanggal 20 Oktober 1994. Penulis menyelesaikan Pendidikan S-1 pada Program Studi Sarjana Biologi UIN Alauddin Makassar tahun 2012-2016 dengan Judul Skripsi “Keragaman Genetik Plasma Nutfah Jagung Lokal Tana Toraja Berbasis Marka SSR (*Simple Sequence Repeats*)”. Penulis kemudian melanjutkan Pendidikan S-2 pada Program Studi Magister Biologi Universitas Gadjah Mada tahun 2017-2019 dengan Judul Tesis “Variasi Genetik dan Hubungan Kekerabatan Plasma Nutfah Jewawut (*Setaria italica* (L.) P. Beauv.) di Indonesia Berdasarkan Karakter Morfologis dan Molekuler”. Saat ini penulis bekerja sebagai Dosen Aktif pada Program Studi S-1 Pendidikan Biologi Universitas Sulawesi Barat. Penulis Aktif melaksanakan kegiatan Tri Dharma Perguruan Tinggi di bidang Pendidikan dan Pengajaran, Penelitian, Pengabdian Kepada Masyarakat, dan Penunjang baik di Tingkat Lokal, Nasional, dan Internasional. Penulis aktif mempublikasikan hasil kegiatan penelitian dan pengabdian kepada masyarakat di Media Massa, Jurnal Nasional, Nasional Terakreditasi, dan Internasional Bereputasi. Pada tahun 2023, 2024, dan 2025 penulis berhasil mendapatkan Hibah Penelitian dan Pengabdian Dosen dari Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi. Pada tahun 2025, peneliti juga berhasil mendapatkan dukungan Program Dana Indonesiana Kategori Penciptaan Karya Kreatif Inovatif dari Kementerian Kebudayaan Indonesia. Email: ramlah@unsulbar.ac.id.



apt. Fadillah Maryam Bau Agiel, S.Farm., M.Si. lahir pada tanggal 03 April 1990 di Ambon. Lulusan S1 Farmasi di Universitas Muslim Indonesia pada tahun 2011 dan menempuh S2 dan Profesi Apoteker di Universitas Hasanuddin pada tahun 2012 dan 2013. Saat ini sebagai dosen tetap bidang Biologi Farmasi Pada Universitas Almarisah Madani Makassar, Fakultas Ilmu Kesehatan, Program Studi Farmasi sampai sekarang



Rima Agnes Widya Astuti, S.Tr.AK., M.Kes. lahir di Pangkalan Bun, Kalimantan Tengah pada tanggal 11 September 1995. Pada tahun 2017 lulus Diploma IV Analis Kesehatan dari Poltekkes Banjarmasin. Melanjutkan magister pada Program Studi Sains Laboratorium Medis atau Ilmu Laboratorium Klinis di Universitas Muhammadiyah Semarang dan lulus pada tahun 2023. Saat ini aktif menjadi dosen pada Program Studi Diploma III Analis Kesehatan di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Borneo Cendekia Medika, Pangkalan Bun dari tahun 2023. Penulis juga telah pengalaman menulis buku yang telah diterbitkan yaitu buku “Gut Microbiota Revolusi Kesehatan dari dalam Tubuh”, “Bakteriologi 1 Teknologi Laboratorium Medis”, “Mikrobiologi dan Virologi Dasar” dan “Bioteknologi Mikroba”.
Email : rimaagnes60@gmail.com



apt. Yuli Haryani, Ph.D lahir di Bangkinang, pada 12 Juli 1982. Ia adalah dosen tetap di Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau. Ia meraih gelar doktor di bidang Food Biotechnology dengan fokus pada rekayasa genetika mikroba dari Universiti Putra Malaysia, setelah sebelumnya menyelesaikan studi magister dalam bidang Genetic Engineering and Molecular Biology di institusi yang sama. Latar

belakang akademiknya di bidang mikrobiologi farmasi dan apoteker diperoleh dari Universitas Andalas. Bidang penelitian yang digeluti berfokus pada Biokimia dan Biologi Molekuler Mikroba, khususnya bakteri asam laktat (BAL) dan mikroba endofit untuk produksi senyawa bioaktif seperti antimikroba, enzim, dan metabolit sekunder. Email : yuli.haryani@lecturer.unri.ac.id



Hasrida, S.Farm., M.Kes. lahir di Lauwa, pada 17 Juli 1986. Penulis tercatat sebagai lulusan Universitas Indonesia Timur, Makassar tahun 2009. Tahun 2011 melanjutkan pendidikan Magister Kesehatan Masyarakat Konsetrasi Manajemen Rumah Sakit di Universitas Indonesia Timur dan berhasil menyelesaikan Program Magister Kesehatan pada tahun 2015. Wanita yang kerap disapa Ridha ini adalah anak dari pasangan Burhan (ayah) dan Limpo (ibu). Penulis adalah seorang Dosen pada Fakultas Farmasi Universitas Indonesia Timur dan juga aktif sebagai Praktisi Tenaga Teknis Kefarmasian di salah satu Rumah Sakit Swasta di Makassar (2009 – Sekarang).

Email: hasridafarmasi@gmail.com



apt. Besse Hardianti, M.Pharm.Sc., Ph.D, lahir di Kab Wajo, pada 21 Februari 1978. Ia tercatat sebagai lulusan S1 dan Apoteker di Universitas Hasanuddin kemudian melanjutkan Pendidikan S2 di Universitas Toyama, Institute Natural Medicine bidang Pathogenic Biochemistry, dengan Beasiswa dari Pemerintah Indonesia yaitu BLN(Beasiswa Luar Negeri) selanjutnya. Berhasil merampungkan S3 melalui program by research dengan Beasiswa yang diberikan oleh (Japan Society of the Promoting of Science) JSPS program ROMPAKU di bidang Biologi Cancer dan Imunologi. Wanita yang kerap disapa Besse ini adalah bukanlah orang baru di dunia akademik. Besse bergabung sebagai salah seorang Dosen di Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar(STIFA) sejak 2009 dan pada

saat menulis buku ini Besse Menjabat sebagai salah seorang Wakil Rektor Bidang Research, Inovasi dan Kolaborasi Universitas Almarisah Madani Makassar, yang telah berubah status dari STIFA Makassar.

Email; bessehardianti@univeral.ac.id



Dr. dr. Mutiara Indah Sari, M.Kes, adalah staf pengajar di Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara sejak tahun 2001. Saat ini dr. Mutiara juga menjabat wakil ketua Perhimpunan Biokimia dan Biologi Molekuler Indonesia (PBBMI) Cabang Medan sejak tahun 2022.

Email : mutiara@usu.ac.id



Dr. apt. Khairuddin, S.Si., M.Si. lahir di Maros pada tanggal 10 Januari 1988. Ia dikenal sebagai alumni dari Universitas Hasanuddin (UNHAS), tempat ia menyelesaikan seluruh jenjang pendidikan tingginya (S1, Apoteker, dan S2). Pada tahun 2025, ia berhasil menyelesaikan studi doktoral (S3) di Fakultas Farmasi, Universitas

Hasanuddin, yang melengkapi gelarnya menjadi Dr. apt. Khairuddin, S.Si., M.Si. Saat ini, ia aktif mengabdikan diri di dunia pendidikan sebagai Dosen dengan fokus bidang keahlian Biologi Farmasi khususnya Farmasi Bahan Alam di Universitas Almarisah Madani (Univeral) Makassar. Selain mengajar, ia juga produktif dalam bidang penelitian, ditandai dengan telah diterbitkannya beberapa artikel penelitian di berbagai Jurnal Nasional dan Internasional yang diakui.



apt. Latifa Amalia, M.Pharm.Sci lahir di Klaten, pada 2 Oktober 1997. Latifa merupakan anak kedua dari dua bersaudara dan tercatat sebagai lulusan Universitas Gadjah Mada. Latifa memiliki ketertarikan dalam bidang mikrobiologi bahan alam. Disela-sela kesibukannya, ia menyempatkan untuk membaca novel fiksi atau menonton netflix sebagai bentuk hiburan.
Email : latifaamalia@almaata.ac.id