



Research Article



Rekayasa Genetika Metode *CRISPR Cas9* dengan menggunakan Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella* untuk Pengobatan Kanker

Genetic Engineering using the CRISPR-Cas9 Method using Escherichia coli and Salmonella Bacteria for the Treatment of Cancer

Krisdarwindah Mardiana, Margaret Theresia Hutagaol, Enjel Natanael Purba, Paldevina Br Maha, Wahyu Irawati*

Program Studi Pendidikan Biologi, Universitas Pelita Harapan, Tangerang, Indonesia

e-mail penulis korespondensi: wahyu.irawati@uph.edu

Informasi Artikel	ABSTRACT
Submit: 30-07-2023 Diterima: 10-06-2024 Dipublikasikan: 15-07-2024	Cancer is a disease suffered by many people in Indonesia, so more modern technology is needed to treat cancer. The aim of this research is a genetic engineering system using the CRISPR-Cas9 method, through genetic engineering using <i>Escherichia coli</i> and <i>Salmonella</i> bacteria to treat cancer. This type of research is a literature review from research journals regarding genetic engineering to treat cancer using the CRISPR-Cas9 method. <i>Escherichia coli</i> bacteria and <i>Salmonella</i> bacteria are able to target cancer cells or hypoxic tumors.
	Key words: <i>Escherichia coli</i> bacteria, CRISPR-Cas9, DNA, cancer, genetic engineering
Penerbit	ABSTRAK
Program Studi Pendidikan Biologi Universitas Pelita Harapan, Tangerang-Indonesia	Penyakit kanker merupakan penyakit yang diderita oleh banyak orang di Indonesia sehingga dibutuhkan teknologi yang lebih modern untuk mengobati penyakit kanker. Tujuan penelitian ini adalah sistem rekayasa genetika menggunakan metode <i>CRISPR-Cas9</i> , melalui rekayasa genetika melalui bakteri <i>Escherichia coli</i> dan salmonella untuk mengobati penyakit kanker. Jenis penelitian ini adalah kajian literatur dari jurnal hasil penelitian mengenai rekayasa genetika untuk mengobati penyakit kanker menggunakan metode <i>CRISPR-Cas9</i> . Bakteri <i>Escherichia coli</i> dan bakteri <i>Salmonella</i> mampu menargetkan sel kanker atau tumor hipoksia.
	Kata kunci: <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> sp., CRISPR-Cas9, DNA, rekayasa genetika



This BioActive : Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi is licensed under a CC BY-NC-SA [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

PENDAHULUAN

Hingga saat ini penyakit kanker merupakan penyakit yang di derita oleh banyak orang di Indonesia (Adyani, 2024). Kanker adalah penyakit genetik yang berasal dari penyimpangan genetik atau epigenetik kumulatif (Epsilawati et al., 2018). Beberapa masyarakat Indonesia menderita penyakit . kanker tertentu, seperti kanker darah seperti leukemia dan limfoma, kanker paru-paru, kanker hati, kanker prostat, kanker



pankreas, kanker payudara, kanker kulit seperti melanoma, kanker rahim, kanker indung telur, kanker endometrium, kanker vagina, kanker kista ovarium, kanker mioma dan masih banyak jenis kanker lainnya (Rahayu & Nurhidayati, 2017). Pengobatan kanker yang sering dilakukan adalah terapi gen. Terapi gen sel merupakan transfer gen fungsional ke dalam sel tubuh pasien sehingga malfungsi pada organ dapat diperbaiki (Widyastuti, 2017). Keunggulan terapi gen adalah mampu menekan banyak jenis penyakit yang ditimbulkan dari kelainan materi genetik. Teknologi yang berkembang dalam terapi gen memberikan hasil yang baik sehingga terapi gen diaplikasikan sebagai sarana pengobatan penyakit kanker (Ginn et al., 2013).

Seiring perkembangan jaman dan kemajuan teknologi ditemukan teknologi terapi gen terbaru yaitu *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats associated with Cas9 protein CRISPR/Cas9* atau *CRISPR/Cas9*. CRISPR adalah alat yang sangat fleksibel untuk memanipulasi genom karena enzim Cas mengikat DNA target secara independen dari kemampuan mereka untuk memotong DNA target (Putri, n.d.). Metode ini memanfaatkan prosedur yang sistematis dan natural yang terjadi pada bakteri. Bakteri memproduksi protein enzim dari dirinya sendiri sehingga teknologi terapi gen *CRISPR/Cas9* membutuhkan biaya yang lebih hemat daripada terapi gen lainnya (Uddin et al., 2020). Bakteri memiliki kemampuan melindungi dirinya sendiri dari berbagai macam agresi dari virus. Tahap awal yang dilakukan bakteri adalah memotong DNA virus yang menyerang bakteri (Damara, 2017).

Teknologi *CRISPR/Cas9* merupakan rekayasa genetika dengan memanfaatkan mutasi titik dan penggantian kodon pada *Escherichia coli*. Plasmid *CRISPR/Cas9* mengekspres protein fluoresen hijau yang mengkode gen virulensi *pp38* sedangkan *Salmonella* sebagai pembawa plasmid untuk terapi in vivo melawan kanker yang disebabkan oleh virus (Senevirathne et al., 2021). Sebuah laporan terbaru menggambarkan penggunaan sistem *CRISPR-Cas9* untuk mewujudkan berbagai modifikasi genom yang tepat *pada Escherichia coli* (. Modifikasi genom dilakukan dengan menggabungkan kode genetik gRNA dan DNA donor ke dalam satu vektor sehingga dapat mencapai efisiensi pengeditan yang tinggi dan mengganggu tiga gen target secara bersamaan. Ko-transformasi DNA donor untai ganda dengan gRNA yang mengekspresikan plasmid menghasilkan efisiensi yang relatif rendah (Ratan et al., 2018). Hal tersebut mendukung proses intervensi dalam metode *CRISPR/Cas9*. *CRISPR/Cas9* mengintervensi gen yang menimbulkan terbentuknya sel-sel kanker. Kemampuan tersebut mendukung cara kerja yang lebih efektif dan efisien, yaitu langsung tertuju dan fokus pada gen yang menyebabkan berkembangnya sel-sel kanker dalam tubuh . Penelitian ini akan mengkaji tentang rekayasa genetika *CRISPR Cas9* menggunakan *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp. untuk pengobatan kanker hati, pankreas, dan payudara (Wei et al., 2022).

METODE PENELITIAN

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah kajian literatur yang membahas tiga fokus kajian, yaitu: 1) *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp. sebagai agen rekayasa genetika, 2) rekayasa genetika menggunakan metode *CRISPR-Cas9* , serta 3) peranan *CRISPR-Cas9* untuk mengobati penyakit kanker. Penelitian ini dilakukan dengan cara menganalisis hasil-hasil penelitian yang telah dipublikasi secara nasional maupun internasional yang berkaitan dengan penyakit kanker, jenis pengobatan, dan metode *CRISPR-Cas9* untuk pengobatan penyakit kanker (Dailami et al., 2022).

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

***Escherichia coli* dan *Salmonella sp.* sebagai agen rekayasa genetika**

Escherichia coli adalah bakteri yang berbentuk seperti batang pendek dengan ukuran diameter 0,7 µm dan panjang 2 µm, lebar 0,4 – 0,7 µm, bakteri ini termasuk dalam bakteri gram negatif yang bersifat anaerob fakultatif (Marista et al., n.d.). Sel *Escherichia coli* dikelilingi oleh membran sel dan terdapat sitoplasma yang mengandung nucleoprotein. Dinding selnya berlapis kapsul yang menutupi membran sel bakteri tersebut (Hadijah, 2021). *Escherichia coli* memiliki bentuk bulat dengan ukuran 0,5 x 1 - 3 µ, biasanya hidup berpasang-pasangan. Bakteri ini bergerak menggunakan flagella peritrik, tidak membentuk kapsul dan spora, dan termasuk bakteri Gram negatif. *Escherichia coli* merupakan parasit dalam saluran pencernaan makanan manusia dan dapat menyebabkan penyakit enteritis, peritonitis, serta sistitis (Melliawati, 2015)

Struktur DNA *Escherichia coli* berbentuk heliks ganda yang terdiri dari dua untai polinukleotida, terdiri dari rangkaian nukleotida adenin (A), sitosin (C), guanin (G) dan timin (T). Kode diatur dalam susunan yang dikenal sebagai urutan basa DNA serta membentuk heliks ganda. Kode DNA *Escherichia coli* terdiri dari sekitar 4,6 juta pasangan basa dan mengandung lebih dari 4.000 gen yang mengkodekan berbagai protein, RNA, dan molekul lain yang dibutuhkan sel untuk bertahan hidup dan bereproduksi. Struktur kode DNA *Escherichia coli* memiliki kesamaan dengan kode DNA organisme lain, tetapi ada perbedaan urutan basa tertentu yang dapat menyebabkan perbedaan sifat dan karakteristik antar organisme (Blattner et al., 1997).

Salmonella sp. memiliki struktur yang terdiri dari nukleus, dinding sel, dan sitoplasma. *Salmonella sp.* memiliki keunikan, yaitu mampu bertahan hidup di lingkungan aerobik dan anaerobik sehingga bakteri ini mampu mengkolonisasi atau menargetkan sel kanker atau tumor hipoksia (Santoso, 2018). Hipoksia adalah suatu keadaan dimana jaringan tubuh kekurangan kadar oksigen (Wahyudi et al., 2022).

Salmonella sp. termasuk bakteri Gram negatif, tidak ada spora, bergerak dengan flagel ektoplasma, memiliki sifat intraseluler dan opsional anaerobik¹⁵. Ukuran bervariasi dari 0,7 hingga 1,5X 2-5 pm, mempunyai somatik antigen (O), serta antigen flagelata (H) dan kapsul antigenik (Vi) (Ristiansyah et al., 2018). *Salmonella sp.* termasuk bakteri patogen yang dapat menimbulkan berbagai penyakit seperti demam tifoid, diare, sakit perut, nyeri dan kram di perut (Cita, 2011). Struktur DNA *Salmonella sp.* berbentuk heliks ganda, terdiri dari urutan nukleotida dari adenin (A), sitosin (C), guanin (G) dan timin (T). Kode DNA *Salmonella sp.* terdiri dari sekitar 4,9 juta pasangan basa dan mengandung antara 5.000 dan 6.000 gen yang mengkode berbagai protein, RNA, dan molekul lain (Deatherage & Barrick, 2014)

Escherichia coli dan *Salmonella sp.* merupakan bakteri patogen yang cenderung menimbulkan penyakit, tetapi dapat dimanfaatkan untuk menyembuhkan berbagai penyakit kanker dengan menggunakan teknik rekayasa genetika. Untuk mendukung fungsinya dalam pengobatan kanker, dibutuhkan gen editing untuk menciptakan produk yang dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh atau melawan sel kanker. Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella sp.* telah digunakan dalam pengobatan kanker sebagai mediator yang mampu memasukkan produk tersebut ke dalam sel kanker (Yang et al., 2021).

Contoh pemanfaatan *Escherichia coli* dan *Salmonella sp.* dalam pengobatan kanker adalah menyisipkan gen pembuat protein yang mampu memicu sistem kekebalan tubuh untuk melawan sel kanker. Struktur DNA bakteri akan dimodifikasi untuk menambah atau mengganti gen yang mampu menghasilkan produk tersebut. DNA *Escherichia coli* dan *Salmonella sp.* juga dapat dimodifikasi untuk menghasilkan senyawa yang mampu membunuh sel kanker secara langsung. Struktur DNA bakteri dalam Rekayasa CRISPR/Cas akan dimodifikasi untuk menambah atau mengganti gen yang dapat

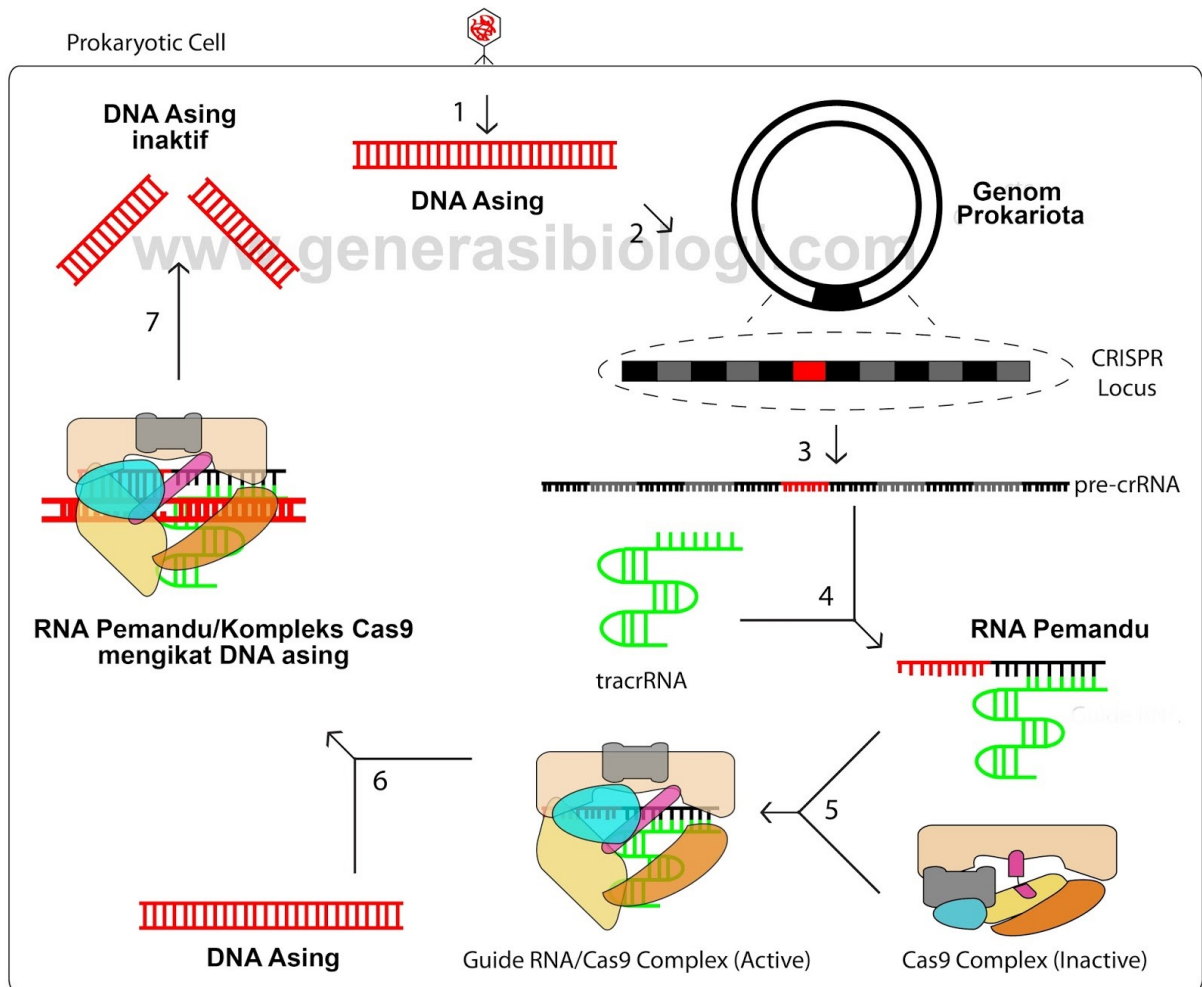
menghasilkan senyawa tersebut. Berdasarkan hal tersebut, maka struktur DNA pada *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp. dapat direkayasa dan dimodifikasi untuk mendukung fungsinya dalam terapi kanker dan imunoterapi (Fatahi et al., 2021)

Rekayasa genetika menggunakan metode CRISPR-Cas9

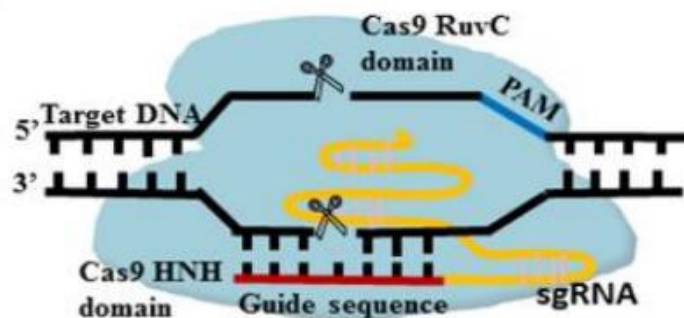
CRISPR-Cas9 merupakan teknologi rekayasa genetika yang menggunakan sistem kekebalan bakteri yang terdiri dari single guide RNA (sgRNA) dengan kombinasi sintetik non-coding RNA, khususnya CRISPR RNA (crRNA) untuk memandu modifikasi sekuen DNA target dan promotor crRNA (Wu et al., 2013). TracrRNA berfungsi sebagai perancah dan berikatan dengan protein yang berasosiasi dengan CRISPR (Cas). CRISPR (Cas) merupakan enzim endonuklease yang dihasilkan oleh gen "cas operon" (Wirayasa, 2022) CRISPR/Cas9 adalah mekanisme kompleks yang biasanya bekerja dengan memotong DNA target. CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) merupakan bagian dari DNA bakteri yang berfungsi sebagai sistem pertahanan terhadap virus atau fag, sedangkan Cas9 (CRISPR-associated protein 9) adalah enzim yang memotong DNA untuk memperbaiki atau mengubah urutan asam nukleat (Angeline, 2020).

CRISPR-Cas9 dapat digunakan untuk memotong dan memodifikasi sekuens DNA spesifik pada sel manusia atau organisme lain dengan memodifikasi urutan DNA tertentu, teknologi tersebut dapat digunakan untuk melawan penyakit genetik, mengembangkan tanaman yang tahan terhadap hama dan penyakit, serta menghasilkan enzim atau bahan kimia yang diinginkan. Penggunaan CRISPR-Cas9 bersifat kontroversial karena efek potensialnya masih belum sepenuhnya dipahami. Oleh karena itu, penggunaan teknologi ini harus dilakukan dengan hati-hati dan memperhatikan aspek etika dan keamanan (Sander & Joung, 2014).

Sistem CRISPR-Cas9 merupakan sistem kekebalan prokariotik yang memberikan resistensi terhadap genetik asing (Ilhamsyah et al., 2018). Mekanisme CRISPR-Cas9 merupakan sistem kekebalan prokariotik yang memberikan resistensi terhadap genetik asing kompleks yang secara umum bekerja dengan memotong DNA target. Mekanisme CRISPR-Cas9 terjadi ketika DNA asing masuk ke dalam sel sehingga fragmen DNA asing tersebut direkam sebagai memori materi genetik dan disimpan ke dalam spacer. Ketika virus masuk, gen CRISPR akan melanjutkan transkripsi dengan menghasilkan CRISPR DNA (crRNA) sedangkan gen Cas9 akan menghasilkan protein Cas9. Selanjutnya tracrRNA akan bergabung dengan crRNA. Gabungan kedua RNA tersebut disebut dengan guide RNA (gRNA). Guide RNA sering dikenal sebagai RNA pemandu. RNA pemandu ini akan bergabung dengan Cas9 kemudian Cas9 akan mengikat DNA asing dan memotongnya menjadi DNA inaktif (Siswanto & Kartiko, 2017). Mekanisme kerja CRISPR-Cas9 pada bakteri dapat dilihat pada Gambar 1.



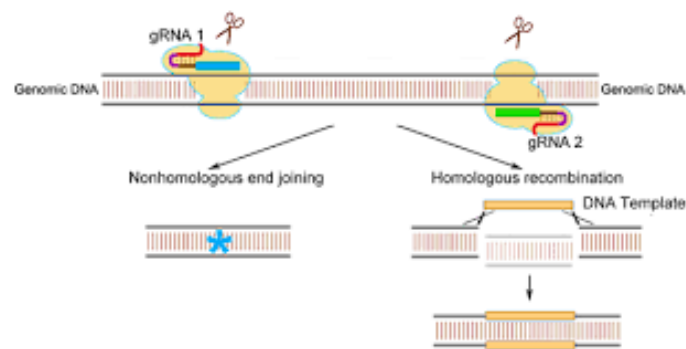
Gambar 1. Mekanisme kerja CRISPR-Cas9 pada bakteri. Sumber : www.generasibiologi.com



Gambar 2. Pemotongan sisi spesifik DNA oleh nuclease 9 (Minkenberg, 2017)

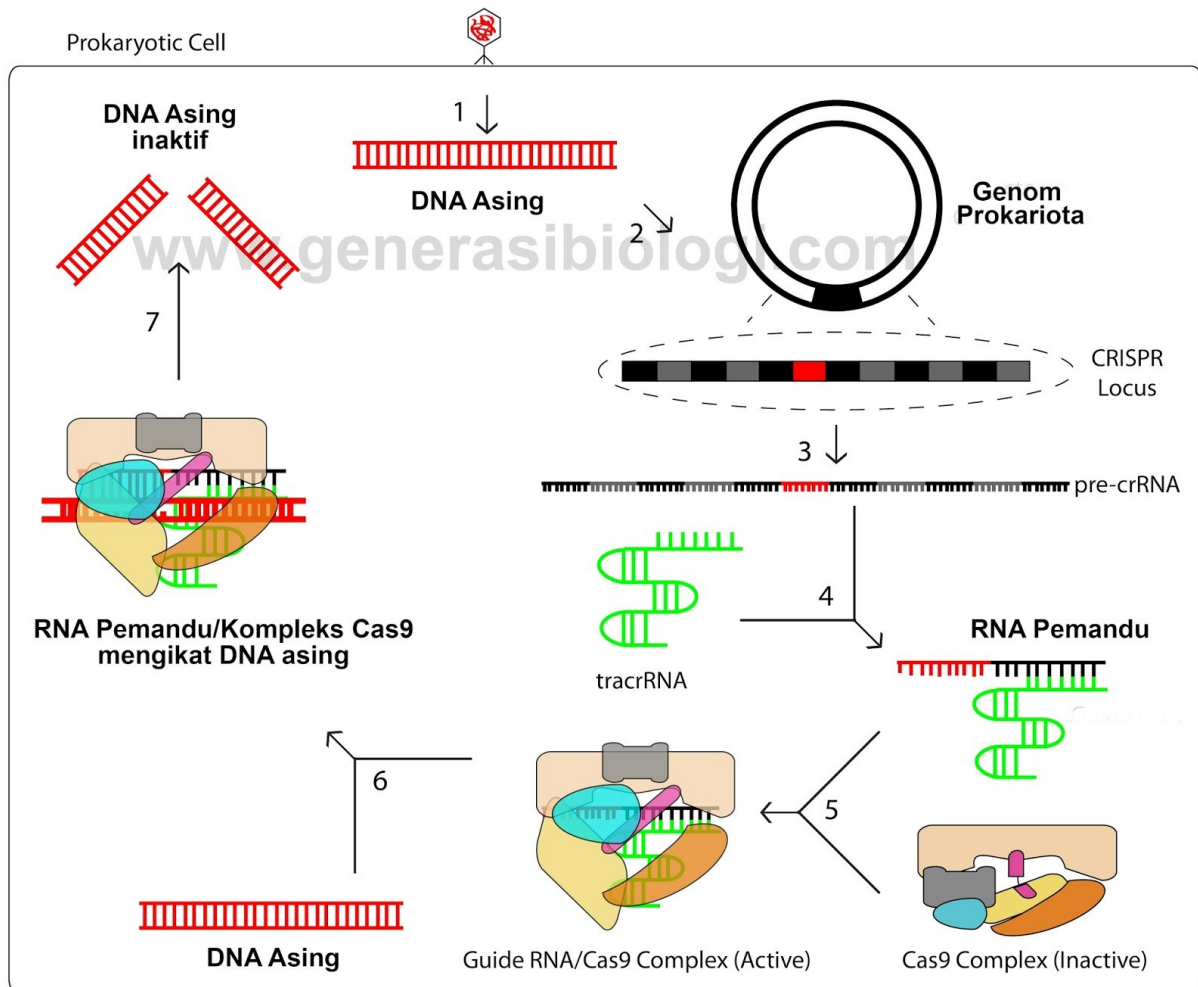
Pemotongan CRISPR gen merupakan teknik rekayasa genetika molekuler dimana genom organisme hidup dapat dimodifikasi (Cahyo et al., 2021). Mekanisme pemotongan CRISPR digambarkan seperti gunting genetika. linti Cas9 membuka kedua untai rangkaian targer DNA untuk memasukkan modifikasi. Gambar 2 menunjukkan inti komponen CRISPR-Cas9 adalah nuklease Ca9 yang berisi dua katalitis aktif yaitu RuvC dan HNH dan turunan dari CRISPR RNA (crRNA) serta trans-aktivitas CRISPR RNA (tracrRNA) yaitu single guide RNA (sgRNA) (Ilhamsyah et al., 2018). Mekanisme proteksi bakteri

memiliki 3 tahap utama yaitu adaptasi, transkripsi dan interferensi (Barrangou, 2013). Adaptasi melibatkan DNA penyerang dari virus atau plasmid yang dibelah menjadi fragmen kecil lalu dimasukkan ke dalam lokus CRISPR. Lokus CRISPR kemudian ditranskripsi dan diproses untuk menghasilkan RNA kecil (crRNA). CrRNA akan memandu endonuklease efektor untuk menargetkan virus berdasarkan basa saling melengkapi. Tahap transkripsi, lokus CRISPR yang meliputi spacer kemudian ditranskripsikan menjadi RNA-RNA CRISPR kecil (crRNA dan tracrRNA) yang memiliki panjang sekitar 40 basa serta digabungkan dengan tracrRNA untuk mengaktifasi nukleus cas9 (Karvelis et al., 2013). Gen cas9 terdapat di dekat kaset CRISPR yang dapat mengekspresikan protein dan memiliki aktivitas helikase dan nukleus (Jinkerson & Jonikas, 2015). Tahap terakhir interferensi yang meliputi terbentuknya kompleks antara tracrRNA-crRNA-Cas9 pada ujung 3' dari struktur dupleks tracrRNA-crRNA serta berikatan dengan cas9 (Jinkerson & Jonikas, 2015). Kompleks ini akan memotong sekuens DNA utas ganda homolog (protospacer) pada DNA asing. Syarat untuk proses pemotongan yaitu adanya motif konservatif yang berdekatan dengan protospacer yang berada di ujung downstream DNA target, yang biasanya mempunyai sekuens 5'-NGG-3' atau 5'-NAG-3' (Minkenberg, 2017)



Gambar 3. Pengeditan DNA melalui jalur NHEJ non-homologous end joining dan HR homologous recombination (Prajoko, 2022)

Pengeditan genom dengan sistem CRISPR/cas9 dapat dilakukan dengan cara yang berbeda tergantung jalur reparasi dan ketersediaan dari cetakan untuk reparasi (Li et al., 2016). Sistem CRISPR-cas9 mampu membentuk potongan utas ganda pada target DNA yang kemudian akan direparasi oleh mekanisme reparasi alami dari sel itu sendiri. Ada dua jalur reparasi yaitu non-homologous end joining (NHEJ) dan homologous recombination (HR). Jalur NHEJ mampu menyebabkan mutasi karena pada dasarnya jalur ini sangat mudah mengalami kesalahan yang menyebabkan insersi atau delasi acak (Prajoko, 2022). Selain itu jika DSB menghasilkan ujung overhang, maka NHEJ dapat membantu mengintroduksi target DNA utas ganda dengan ujung komplementer (Prajoko, 2022). Apabila target mempunyai daerah homologi dengan sekuens di sekitar DSB, maka DNA yang rusak akan direparasi dengan HR dan mekanisme ini mampu dimanfaatkan untuk memperoleh modifikasi atau penyisipan gen yang persisi (Santoso, 2018). Pengeditan DNA melalui jalur NHEJ non-homologous end joining dan HR homologous recombination (Gambar 3).



Gambar 4. Prinsip kerja dari CRISPR-Cas untuk pengeditan gen. Sumber: www.generasibiologi.com

Gambar 4 menunjukkan prinsip kerja pengeditan CRISPR-cas9. Tahap pertama, sgRNA terdiri dari sekuen crRNA spesifik yang menasar sehingga DNA target dan tracrRNA berinteraksi dengan Cas9 protein. Tahap kedua, terbentuklah ikatan kompleks antara sgRNA dengan protein Cas9 yang mengandung aktivitas DNA endonuklease. Ikatan kompleks tersebut akan menyebabkan dsDNA target putus. Terputusnya dsDNA akan diperbaiki oleh jalur perbaikan DNA non-homologus dan NHEJ. Proses inilah yang menyebabkan insertasi atau penghapusan dari nukleotida yang mampu menyebabkan rusaknya fungsi gen (Cahyo et al., 2021)

Peranan CRISPR-Cas9 untuk mengobati penyakit kanker

CRISPR-Cas9 memiliki peranan penting di bidang kesehatan yang mampu menyembuhkan penyakit melalui rekayasa genetika. Salah satu penyakit yang dapat diatasi dengan metode *CRISPR-Cas9* adalah kanker. Proses penyembuhannya terjadi apabila *CRISPR-Cas9* dapat melakukan rekayasa pada beberapa gen dengan menghapus gen yang menyebabkan terjadinya suatu penyakit ataupun mengubah susunan gen yang mampu menghasilkan suatu karakteristik gen yang dapat melawan penyakit tersebut (Angeline, 2020). Enzim *cas9* akan mengkode protein secara spesifik untuk menyerang bakteri target dengan memasukkan plasmid yang berisi *CRISPR* enzim *cas9* pada *Escherichia coli* yang secara spesifik akan menyerang *Salmonella* sp. Plasmid akan berpindah dari *Escherichia coli* ke *Salmonella* sp. sehingga sistem *CRISPR* akan aktif dan menghancurkan materi genetik patogen. *CRISPR* hanya membunuh bakteri patogen secara spesifik sehingga tidak akan mengganggu keseimbangan mikrobiota di dalam usus.

Kelebihan *Escherichia coli* yaitu memiliki struktur yang sederhana dan mudah untuk direkayasa sehingga menjadi alasan bakteri ini digunakan dalam penerapan metode *CRISPR-Cas9*. *Escherichia coli* dapat bertahan hidup dalam jangka waktu yang cukup lama. Bakteri *Escherichia coli* memiliki potensi untuk berkembangbiak di lingkungan ekstraintestinal. Bakteri *Escherichia coli* dapat tumbuh dengan cepat dan optimal karena bakteri ini mampu bereplikasi dalam waktu kurang lebih 20 menit (A'yun et al., 2022)

Escherichia coli telah banyak dikembangkan sebagai bakteri yang menghasilkan enzim dalam jumlah yang sangat banyak (Anggraini et al., n.d.). Penggunaan *Escherichia coli* dalam rekayasa genetika *CRISPR-Cas9* adalah sebagai vektor untuk menyisipkan suatu gen tertentu yang diinginkan untuk dikembangkan. *Salmonella* sp. memiliki efisiensi yang tinggi sebagai strain bakteri anti tumor dalam model empiris kanker yang sudah diteliti hingga sekarang. Hasil rekayasa genetika *Salmonella* sp. dapat dikombinasikan secara efektif dengan kemoterapi atau radioterapi. Kanker adalah penyakit yang disebabkan oleh mutasi pada gen yang terlibat dalam pengendalian fungsi, pertumbuhan, dan pembelahan sel. Itulah sebabnya modulasi epigenetik dan pengeditan genom penting untuk pemodelan kanker dan kemanjuran terapi. *CRISPR-Cas9* menargetkan lokus genom tertentu dengan sgRNA. RNA lebih mudah disintesis dan dimasukkan ke dalam sel dibandingkan domain protein sehingga *CRISPR-Cas9* dapat memfasilitasi modifikasi genom yang ditargetkan. Spesies bakteri *Salmonella* sp sangat efisien dalam menginvasi sel fagositik dan sel nonfagositik. *Salmonella* sp menjadi vektor pengiriman plasmid yang efisien.

Kemajuan teknologi rekayasa genetika dalam memanipulasi genom bakteri menjadi pilihan yang menguntungkan daripada menggunakan mikroorganisme lain (Sihotang et al., 2022). Metode *CRISPR-Cas9* menggunakan *Escherichia coli* juga memiliki kelebihan yaitu kemampuannya dalam menyunting beberapa gen yang dapat menyebabkan suatu penyakit. Metode ini sudah banyak digunakan di bidang kesehatan yaitu dalam penyembuhan penyakit seperti penyakit keturunan, contohnya penyakit kanker dan penyakit neurodegeneratif (Irianti & Pramono, 2022). Metode *CRISPR-Cas9* juga memberikan kemudahan bagi para ilmuwan dan peneliti dalam usaha menginvestigasi fungsi dari suatu gen, merancang simulasi pengobatan tentang suatu penyakit, dan mengembangkan sifat genetik yang kuat melawan penyakit melalui mutasi gen. Melalui metode *CRISPR-Cas9*, bakteri yang kebal terhadap antibiotik juga dapat diatasi. Metode *CRISPR-Cas9* yang diterapkan, memungkinkan terjadinya integrasi langsung gen target ke dalam inang kromosom dalam strain yang diinginkan (Beumer et al., 2013). Kelebihan metode *CRISPR-Cas9* juga dapat dilihat dari pengaplikasiannya yang relatif murah dan

sederhana. Metode *CRISPR-Cas9* dalam operasi DNA menjadi jauh lebih akurat, efisien, dan sangat menguntungkan dalam ekspresi dan ekstraksi heterolog dari kluster gen, khususnya bakteri dengan ukuran lebih dari 50kb. Transposisi dan rekombinasi homolog tersedia untuk diintegrasikan pada fragmen DNA eksogen ke dalam genom dari bakteri (Davy et al., 2017).

SIMPULAN

Escherichia coli dan *Salmonella* mampu direkayasa gennya untuk menghasilkan karakter baru yang lebih tahan terhadap penyakit dan dapat melawan penyakit kanker. Bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Salmonella* mampu menargetkan sel kanker atau tumor hipoksia. Rekayasa genetika menggunakan metode *CRISPR Cas9* memungkinkan terjadinya integrasi langsung gen target ke dalam inang kromosom dalam strain yang diinginkan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih diberikan kepada semua penulis yang hasil penelitiannya menjadi sumber penulisan dalam artikel ini.

REFERENSI

- Adyani, A. (2024). Hubungan Pengetahuan Mengenai Kanker Payudara Dalam Mengelola Kecemasan Dan Pengobatan Komplementer. *Sinar: Jurnal Kebidanan*, 6(1), 25–30. <https://doi.org/10.30651/sinar.v6i1.22174>
- Angeline, W. K. (2020). CRISPR-Inovasi Biologi Molekuler dan Medis yang Kontroversial. *Cermin Dunia Kedokteran*, 47(3), 218–221. <https://media.neliti.com/media/publications/397444-crispr-inovasi-biologi-molekuler-dan-med-c1ab1b71.pdf>
- Anggraini, D., Uswathun Hasanah, S., Savira, M., Andriani, F., Irawan, D., & Ruza Prima, R. (n.d.). Prevalensi dan Pola Sensitivitas Enterobacteriaceae Penghasil ESBL di RSUD Arifin Achmad Pekanbaru Prevalence and Susceptibility Profile of ESBL-Producing Enterobacteriaceae in Arifin Achmad General Hospital Pekanbaru. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*: 30(1), 47–52. <https://doi.org/10.21776/ub.jkb.2018.030.01.9>
- A'yun, Q., Asmarany, A., Fitriyah, D., Awaluddin, A., Rini, I. A., Mahyarudin, M., Argaheni, N. B., Sinaga, J., Suryanti, E., & Kristianto, Y. (2022). *Mikrobiologi Dasar*. Yayasan Kita Menulis.
- Barrangou, R. (2013). CRISPR-Cas systems and RNA-guided interference. *Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA*, 4(3), 267–278. <https://doi.org/10.1002/wrna.1159>
- Beumer, K. J., Trautman, J. K., Mukherjee, K., & Carroll, D. (2013). Donor DNA utilization during gene targeting with zinc-finger nucleases. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 3(4), 657–664. <https://doi.org/10.1534/g3.112.005439>
- Blattner, F. R., Plunkett III, G., Bloch, C. A., Perna, N. T., Burland, V., Riley, M., Collado-Vides, J., Glasner, J. D., Rode, C. K., & Mayhew, G. F. (1997). The complete genome sequence of *Escherichia coli* K-12. *Science*, 277(5331), 1453–1462. <https://doi.org/10.1126/science.277.5331.1453>

- Cahyo, L. D., Vita, H. D., Prasetia, I., Habibulloh, M. A., Qomariyah, D. N., & Utami, W. (2021). Pemanfaatan Teknologi CRISPR-CAS9 dalam Mengembangkan Ikan Lele (*Clarias sp.*) Transgenik. *NECTAR: Jurnal Pendidikan Biologi*, 2(1), 24–32. <https://doi.org/10.31002/nectar.v2i1.1471>
- Cita, Y. P. (2011). Bakteri *Salmonella typhi* dan demam tifoid. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Andalas*, 6(1), 42–46. <https://doi.org/10.24893/jkma.v6i1.87>
- Dailami, M., Aliviyanti, D., Wiratno, E. N., & Djamaludin, H. (2022). *Biologi Molekuler Perikanan dan Kelautan*. Universitas Brawijaya Press.
- Damara, F. A. (2017). CRISPR/Cas9 dengan Dual-sgRNAs Bertarget Gen E6 dan E7 Virus HPV 16 Sebagai Inovasi Terapi Gen Upaya Menurunkan Angka Kanker Serviks Global. *Moraref*, 3(2) 98–103. <https://moraref.kemenag.go.id/documents/article/98021043410601358>
- Davy, A. M., Kildegaard, H. F., & Andersen, M. R. (2017). Cell factory engineering. *Cell Systems*, 4(3), 262–275. <https://doi.org/10.1016/j.cels.2017.02.010>
- Deatherage, D. E., & Barrick, J. E. (2014). Identification of mutations in laboratory-evolved microbes from next-generation sequencing data using breseq. *Engineering and Analyzing Multicellular Systems: Methods and Protocols*, 165–188. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0554-6_12
- Epsilawati, L., Firman, R., Pramani, F., Ambarlita, Y., & Riisky, I. (2018). Keratocyst odontogenic tumor sebagai diagnosis banding unicystic ameloblastoma. *Makassar Dental Journal*, 7(3), 115-120. <https://doi.org/10.35856/mdj.v7i3.240>
- Fatahi, Y., Sanjabi, M., Rakhshani, A., Motasadizadeh, H., Darbasizadeh, B., Bahadorikhalili, S., & Farhadnejad, H. (2021). Levofloxacin-halloysite nanohybrid-loaded fibers based on poly (ethylene oxide) and sodium alginate: Fabrication, characterization, and antibacterial property. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 64, 102598. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102598>
- Ginn, S. L., Alexander, I. E., Edelstein, M. L., Abedi, M. R., & Wixon, J. (2013). Gene therapy clinical trials worldwide to 2012—an update. *The Journal of Gene Medicine*, 15(2), 65–77. <https://doi.org/10.1002/jgm.2698>
- Ilhamsyah, R. S., Nugrahani, A. D., & Kurniawan, F. (2018). Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats-Associated Protein Cas9 (CRISPR/Cas9) Terenkapsulasi Nanopartikel Berbasis Hibridisasi Polimer Lipid (LPNs) sebagai Modalitas Mutakhir Terapi pada Huntington's Disease. *JIMKI: Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Indonesia*, 6(2), 87–99. <https://bapin-ismki.e-journal.id/jimki/article/view/164/102>
- Irianti, T. T., & Pramono, S. (2022). *Penuaan Dan Pencegahannya: Proses Faali Biokimiawi dan Molekuler*. UGM Press.
- Jinkerson, R. E., & Jonikas, M. C. (2015). Molecular techniques to interrogate and edit the *Chlamydomonas* nuclear genome. *The Plant Journal*, 82(3), 393–412. <https://doi.org/10.1111/tpj.12801>
- Karvelis, T., Gasiunas, G., Miksys, A., Barrangou, R., Horvath, P., & Siksnys, V. (2013). crRNA and tracrRNA guide Cas9-mediated DNA interference in *Streptococcus thermophilus*. *RNA Biology*, 10(5), 841–851. <https://doi.org/10.4161/rna.24203>

- Li, M., Zhao, L., Page-McCaw, P. S., & Chen, W. (2016). Zebrafish genome engineering using the CRISPR-Cas9 system. *Trends in Genetics*, 32(12), 815–827. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2016.10.005>
- Marista, E., Khotimah, S., & Linda, R. (n.d.). *Protobiont 2013 Vol 2 (2): 93-101 Bakteri Pelarut Fosfat Hasil Isolasi dari Tiga Jenis Tanah Rizosfer Tanaman Pisang Nipah (Musa paradisiaca var. nipah) di Kota Singkawang. Jurnal PROTOBIONT: Jurnal Elektronik Biologi*, 2(2), 93-101. <http://dx.doi.org/10.26418/protobiont.v2i2.2749>
- Martinez-Lage, M., Puig-Serra, P., Menendez, P., Torres-Ruiz, R., & Rodriguez-Perales, S. (2018). CRISPR/Cas9 for cancer therapy: hopes and challenges. *Biomedicines*, 6(4), 105. <https://doi.org/10.3390/biomedicines6040105>
- Melliawati, R. (2015). Escherichia coli dalam kehidupan manusia. *BioTrends*, 4(1), 10–14.
- Minkenberg, B. (2017). *Multiplex Targeted Mutation and Analysis of Rice Map Kinase Genes With CRISPR/CAS9*. The Pennsylvania State University.
- Prajoko, Y. W. (2022). *Dasar-Dasar Immunologi Tumor*. Airlangga University Press.
- Putri, R. R. (n.d.). *Penerapan Sistem Aktivasi Crispr (CRISPRa) Pada Gen-Gen Ikan Zebra (Danio rerio) Application Of Crispr Activation (CRISPRa) System To Zebrafish (Danio rerio) GENES*. <https://doi.org/10.30997/jms.v5i2.2358>
- Rahayu, D. A., & Nurhidayati, T. (2017). Penilaian terhadap Stresor & Sumber Koping Penderita Kanker yang Menjalani Kemoterapi. *PROSIDING SEMINAR NASIONAL & INTERNASIONAL*, 1(1). <https://jurnal.unimus.ac.id/index.php/psn12012010/article/view/2279/2260>
- Ratan, Z. A., Son, Y.-J., Haidere, M. F., Uddin, B. M. M., Yusuf, M. A., Zaman, S. Bin, Kim, J.-H., Banu, L. A., & Cho, J. Y. (2018). CRISPR-Cas9: a promising genetic engineering approach in cancer research. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*, 10, 1758834018755089. <https://doi.org/10.1177/1758834018755089>
- Ristiansyah, D. U., Yenita, Y., Melviana, M., & Annisa, A. (2018). Uji efektivitas antibiotik ekstrak daun cengkeh (syzygium aromaticum) terhadap pertumbuhan bakteri salmonella typhi secara in vitro. *Jurnal Ibnu Sina Biomedika*, 2(1), 41–47. <https://doi.org/10.30596/isb.v2i1.1901>
- Sander, J. D., & Joung, J. K. (2014). CRISPR-Cas systems for editing, regulating and targeting genomes. *Nature Biotechnology*, 32(4), 347–355. <https://doi.org/10.1038/nbt.2842>
- Santoso, T. J. (2018). Teknologi Genom Editing Crispr/Cas9 Untuk Perbaikan Tanaman Padi. *Balai Besar Penelitian Dan Pengembangan Bioteknologi Dan Sumber Daya Genetik Pertanian*, 365-392. <https://repository.pertanian.go.id/server/api/core/bitstreams/86186b08-0688-4283-81c7-df1a4f288838/content>
- Senevirathne, A., Hewawaduge, C., & Lee, J. H. (2021). Immunization of chicken with flagellin adjuvanted Salmonella enteritidis bacterial ghosts confers complete protection against chicken salmonellosis. *Poultry Science*, 100(7), 101205. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101205>

- Sihotang, S., Prasetyo, D., Noer, Z., Setiyabudi, L., Sari, D. N., Munaeni, W., Putri, D. F. A., Fatma, Y. S., Mujtahidah, T., & Sulthoniyah, S. T. M. (2022). *Pengantar Bioteknologi*. Tohar Media.
- Siswanto, F. M., & Kartiko, B. H. (2017). Aplikasi Teknologi Crispr/Cas9 Dalam Anti-Aging Medicine. *Jurnal Media Sains*, 1(2). <https://jurnal.undhirabali.ac.id/index.php/jms/article/view/261>
- Uddin, F., Rudin, C. M., & Sen, T. (2020). CRISPR gene therapy: applications, limitations, and implications for the future. *Frontiers in Oncology*, 10, 1387. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.01387>
- Wahyudi, A. H., Widasari, E. R., & Fitriyah, H. (2022). Rancang Bangun Sistem Deteksi Hipoksia berdasarkan Detak Jantung dan Saturasi Oksigen menggunakan Low Power Mode dengan Metode Naïve Bayes. *Jurnal Pengembangan Teknologi Informasi Dan Ilmu Komputer E-ISSN*, 2548, 964X. <https://j-ptiik.ub.ac.id/index.php/j-ptiik/article/view/11915/5287>
- Wei, X., Du, M., Chen, Z., & Yuan, Z. (2022). Recent Advances in Bacteria-Based Cancer Treatment. In *Cancers* (Vol. 14, Issue 19). MDPI. <https://doi.org/10.3390/cancers14194945>
- Widyastuti, D. A. (2017). Terapi Gen: Dari Bioteknologi Untuk Kesehatan. *Al-Kauniah: Jurnal Biologi*, 10(1), 59–72. <https://doi.org/10.15408/kauniah.v10i1.4864>
- Wirayasa, A. (2022). CRISPR/CAS9 untuk Modifikasi Gen E7 pada HPV-6 dan HPV-11 sebagai Tatalaksana Kuratif Condyloma Acuminata. *Jurnal Health Sains*, 3(5), 738–747. <https://doi.org/10.46799/jhs.v3i5.495>
- Wu, J., Sun, L., Chen, X., Du, F., Shi, H., Chen, C., & Chen, Z. J. (2013). Cyclic GMP-AMP is an endogenous second messenger in innate immune signaling by cytosolic DNA. *Science*, 339(6121), 826–830. <https://doi.org/10.1126/science.1229963>
- Yang, Y., Wang, T., Zhang, S., Jia, S., Chen, H., Duan, Y., Wang, S., Chen, G., & Tian, W. (2021). Vitamin C alleviates the senescence of periodontal ligament stem cells through inhibition of Notch3 during long-term culture. *Journal of Cellular Physiology*, 236(2), 1237–1251. <https://doi.org/10.1002/jcp.29930>