

Open access article



## Tinjauan Literatur Sistematis

### PEMANFAATAN TEKNOLOGI CRISPR-CAS9 UNTUK PENGOBATAN PENYAKIT HUNTINGTON'S

A Systematic Literature Review

Utilization of CRISPR-CAS9 Technology for Treating Huntington's Disease

#### Penulis / Author (s)

Meliana Sari<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universitas Singaperbangsa Karawang, Karawang, Indonesia

Ahsanal Kasasiah<sup>1</sup>

Koresponden : Ahsanal Kasasiah<sup>1</sup>

e-mail korespondensi: [ahsanal.kasasiah@fkes.unsika.ac.id](mailto:ahsanal.kasasiah@fkes.unsika.ac.id)

Submitted: 25-07-2024

Accepted: 11-09-2024

DOI: <https://doi.org/10.32382/mf.v20i2.704>

#### ARTICLE INFO

#### ABSTRACT / ABSTRAK

##### Keywords:

CRISPR-Cas9;  
Huntington's Disease;  
Neurodegenerative;  
Genetic therapy;  
Gene editing;

##### Kata Kunci

CRISPR-Cas9;  
Huntington's Disease;  
Neurodegeneratif;  
Terapi genetik;  
Pengeditan gen;

Huntington's Disease (HD) is a neurodegenerative disorder caused by a CAG triple expansion (>36) in the first exon of the HTT gene encoding the huntingtin protein. Advances in gene editing technologies, such as CRISPR-Cas9, provide new hope for correcting the genetic mutations underlying HD. This review article aims to review the potential and effectiveness of CRISPR-Cas9 technology as a therapeutic tool for HD. The writing method used was Systematic Literature Review, with literature searches conducted using three databases: PubMed, ScienceDirect, and SpringerLink. This study reviewed several studies that used in vivo and in vitro models to evaluate the impact of HTT gene editing on mutant huntingtin protein expression and HD symptoms. Results showed that CRISPR-Cas9 can effectively reduce mutant huntingtin protein expression, reduce neuronal toxicity, and improve motor symptoms in mouse models of HD. Although these results are promising, further studies are needed to optimize the safety and effectiveness of using CRISPR-Cas9 in genetic therapy for HD.

Huntington's Disease (HD) adalah kelainan neurodegeneratif yang disebabkan oleh ekspansi tripel CAG (>36) pada ekson pertama gen HTT yang mengkode protein huntingtin. Kemajuan teknologi pengeditan gen, seperti CRISPR-Cas9, memberikan harapan baru untuk mengoreksi mutasi genetik yang mendasari HD. Review artikel ini bertujuan untuk meninjau potensi dan efektivitas teknologi CRISPR-Cas9 sebagai alat terapi untuk HD. Metode penulisan yang digunakan adalah Systematic Literature Review, dengan pencarian studi literatur dilakukan menggunakan tiga basis data: PubMed, ScienceDirect, dan SpringerLink. Penelitian ini mengkaji beberapa studi yang menggunakan model in vivo dan in vitro untuk mengevaluasi dampak pengeditan gen HTT terhadap ekspresi protein huntingtin mutan dan gejala HD. Hasil menunjukkan bahwa CRISPR-Cas9 dapat secara efektif mengurangi ekspresi protein huntingtin

---

mutan, mengurangi toksisitas neuronal, dan memperbaiki gejala motorik pada model tikus HD. Meskipun hasil ini menjanjikan, penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengoptimalkan keamanan dan efektivitas penggunaan CRISPR-Cas9 dalam terapi genetik untuk HD.

---

## PENDAHULUAN

Penyakit neurodegeneratif adalah suatu jenis penyakit di mana sel-sel sistem saraf pusat berhenti bekerja atau mati dan biasanya memburuk dari waktu ke waktu dan tidak ada obatnya. Penyakit-penyakit ini disebabkan oleh hilangnya neuron secara bertahap dan tidak dapat diubah, yang memengaruhi berbagai wilayah di otak dan sumsum tulang belakang, yang pada akhirnya berdampak pada keterampilan motorik, kognisi, dan fungsi penting lainnya (Kumar, Singh, & Ekavali, 2015). Salah satu jenis penyakit neurodegeneratif yaitu Huntington's Disease (HD). HD adalah kelainan neurodegeneratif yang disebabkan oleh ekspansi tripel CAG (>36) pada ekson pertama gen HTT yang mengkode protein huntingtin (Malankhanova *et al.*, 2020). HD biasanya muncul pada usia pertengahan dan gejalanya terjadi pada tiga domain: motorik, kognitif, dan psikiatri (Nopoulus, 2016). HD bersifat progresif dan ditandai dengan gerakan yang tidak normal (*chorea*), serta gangguan emosional, termasuk depresi dan kelainan tidur (Kolli *et al.*, 2017).

Huntington's Disease (HD) adalah penyakit neurodegeneratif yang mempengaruhi banyak individu di seluruh dunia. Prevalensi global HD berdasarkan tinjauan sistematis dan meta-analisis dari berbagai studi diperkirakan sekitar 4,88 per 100.000 orang (Rawlins *et al.*, 2016). Namun, prevalensi ini bervariasi berdasarkan lokasi geografis. Di Asia, prevalensi HD jauh lebih rendah dibandingkan populasi Barat, yaitu hanya berkisar 0,43 – 1,04 per 100.000 orang (Papanna *et al.*, 2024). Sementara itu, data akurat mengenai prevalensi HD di Indonesia masih belum tersedia. Meskipun demikian, penelitian mengenai pemanfaatan teknologi CRISPR-Cas9 untuk terapi HD sangat penting. Alasan utamanya yaitu karena HD adalah penyakit genetik yang disebabkan oleh ekspansi berulang CAG dalam gen HTT, yang sangat berpotensi untuk dilakukan pengeditan gen oleh CRISPR-Cas9.

Kemajuan paling menjanjikan dari penelitian mengenai pengobatan HD yaitu terapi gen. Terapi gen merupakan terapi potensial untuk kelainan genetik dominan, penekanan gen mutan membuka peluang untuk pengobatan dengan dampak yang besar (Nopoulus, 2016). Terapi gen dapat bekerja dengan beberapa mekanisme:

mengganti gen penyebab penyakit dengan salinan gen yang sehat (FDA, 2018). Terapi gen adalah proses transfer materi genetik baru ke dalam sel-sel tubuh dengan tujuan memberikan keuntungan terapeutik. Metodenya melibatkan penyisipan gen fungsional ke dalam DNA, yang akan meningkatkan produksi protein yang kurang (Ginn *et al.*, 2018; Naldini, 2015).

Salah satu teknologi untuk pengeditan gen yaitu CRISPR. CRISPR (*dieja 'krisper'*), merupakan singkatan dari *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats* adalah metode pengeditan genom yang diadaptasi dari sistem kekebalan bakteri terhadap serangan virus bakteriofag (virus yang menyerang bakteri) (Hryhorowicz *et al.*, 2016). Teknologi ini pertama kali diidentifikasi dalam bakteri *Escherichia coli*, di mana sistem CRISPR berfungsi sebagai mekanisme pertahanan adaptif bakteri terhadap invasi phage (Wang *et al.*, 2016). CRISPR memungkinkan bakteri untuk "mengingat" virus yang telah menyerangnya, dan ketika virus serupa menyerang kembali, bakteri akan menghasilkan segmen RNA dari susunan CRISPR untuk menarget DNA virus tersebut. Bakteri kemudian menggunakan enzim untuk memotong DNA virus, yang akan menonaktifkannya (Rees & Liu, 2018). Pada sistem CRISPR, enzim ini disebut Cas (*CRISPR-associated*). Sistem CRISPR-Cas dapat diklasifikasikan ke dalam 2 kelas (Kelas 1 dan Kelas 2), 6 tipe (I hingga VI) dan beberapa sub tipe, dengan kompleks efektor protein multi-Cas pada sistem Kelas 1 (Tipe I, III, dan IV) dan protein efektor tunggal pada sistem Kelas 2 (Tipe II, V, dan VI) (Koonin & Makarova, 2019). Tipe II CRISPR-Cas9 adalah yang paling banyak digunakan karena desainnya yang sederhana, spesifisitasnya yang tinggi, dan risiko *off-target* yang rendah (Karimian *et al.*, 2019). Selain itu, penghargaan Nobel di bidang Kimia pada tahun 2020 yang diterima oleh CRISPR-Cas9 menegaskan kontribusinya yang signifikan dalam bidang bioteknologi. Dengan mempertimbangkan keunggulan dan pengakuan tersebut, CRISPR-Cas9 dipilih sebagai fokus utama dalam review ini dibandingkan dengan variasi enzim lainnya.

Kinerja sistem CRISPR-Cas9 didasarkan pada prinsip penggunaan situs pendek yang menasar daerah pada genom yaitu *single-*

*guide* RNAs (sgRNAs) (Doudna & Charpentier, 2014). Sebuah sgRNA mampu mengincar gen tertentu di dalam genom dengan spesifik karena dikonstruksi menggunakan prinsip *base-pairing* yang dicetuskan oleh Watson-Crick (Doudna & Charpentier, 2014). Dua komponen utama sistem ini memerlukan enzim Cas9, yaitu sebuah endonuklease (gunting molekular), dan sebuah RNA pemandu (*guide* RNA), yang biasanya berupa gRNA atau sgRNA (Doudna & Charpentier, 2014). CRISPR-Cas9 bekerja dengan menggunakan molekul RNA yang dirancang khusus untuk menargetkan sekuens DNA tertentu. Molekul RNA ini memandu enzim Cas9 untuk memotong DNA pada lokasi yang diinginkan (Hsu, Lander, & Zhang, 2014). Setelah pemotongan terjadi, sel mengaktifkan mekanisme perbaikan DNA alamiah, yang dapat dimanfaatkan oleh CRISPR-Cas9 untuk mengubah, memperbaiki, mengganti, mendelesi, ataupun menginsersi sekuens DNA tertentu (Cong *et al.*, 2013). Cara kerja CRISPR tersebut diumpamakan seperti sistem *find, cut, dan paste* sebuah komputer (Barrangou & Doudna, 2016). Penelitian telah menunjukkan bahwa terapi berbasis CRISPR-Cas9 dapat memperbaiki gejala HD pada model hewan (Yang *et al.*, 2017). Oleh karena itu, penelitian lebih lanjut mengenai pemanfaatan CRISPR-Cas9 dalam terapi HD diperlukan untuk membuka jalan menuju pengobatan yang efektif untuk penyakit ini.

Tujuan dari dilakukannya *systematic*

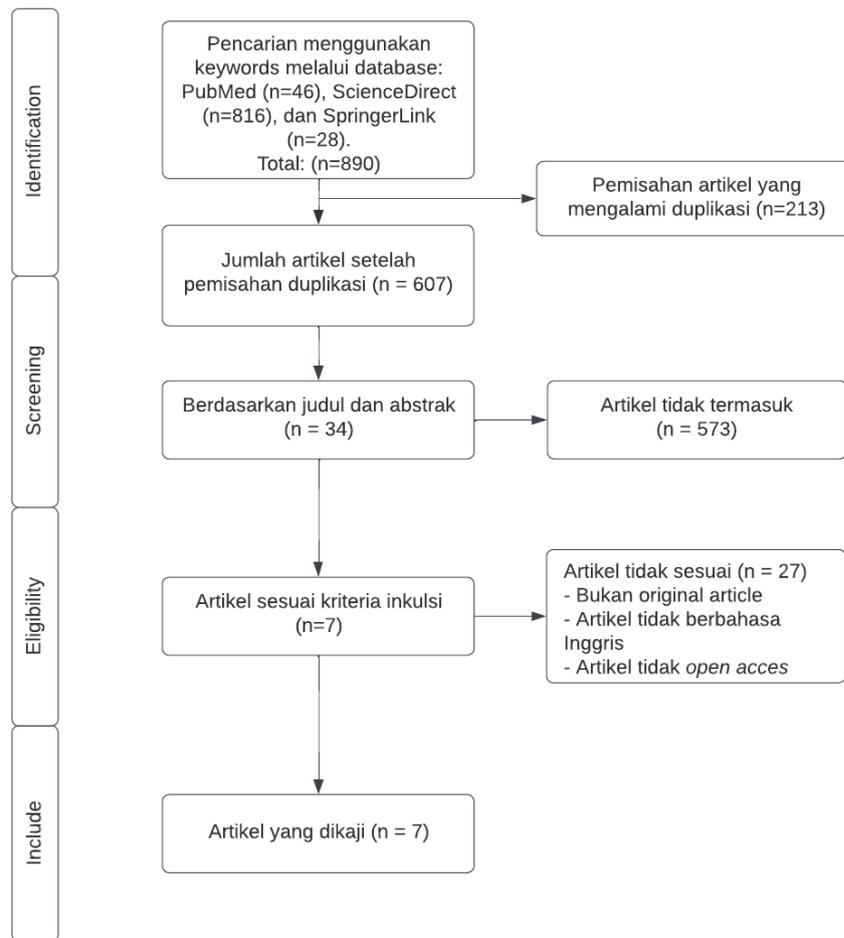
*literature review* ini adalah untuk meninjau potensi dan efektivitas teknologi CRISPR-Cas9 sebagai alat untuk terapi HD. Maka dari itu review artikel ini akan membahas mengenai mekanisme pengeditan gen penyebab HD oleh CRISPR-Cas9 dan efek intervensi yang dihasilkan sebagai parameter untuk menentukan keefektifan dari penggunaan CRISPR-Cas9.

## METODE

Dilakukan pencarian secara sistematis menggunakan tiga basis data yaitu PubMed, ScienceDirect, dan SpringerLink. Kata kunci yang digunakan adalah "CRISPR-Cas9 AND Huntington's Disease AND gene editing". Artikel yang termasuk harus berbahasa Inggris, mengandung informasi tentang CRISPR-Cas9 dan Huntington's Disease, tersedia dalam bentuk *full paper* atau teks, dan dapat diakses (*open access*). Penelitian yang dimasukkan dalam analisis adalah penelitian yang dilakukan setelah tahun 2014 dan harus sesuai dengan elemen *Participants, Intervention, Comparator, dan Outcome* (PICO) yang telah ditentukan (Tabel 1). Setelah melalui proses skrining inklusi, artikel diseleksi berdasarkan uji kelayakan, kemudian dilakukan penilaian terhadap artikel yang terpilih, dan selanjutnya dianalisis sesuai dengan data yang relevan. Artikel yang dieksklusikan adalah yang mengalami duplikasi atau tidak tersedia secara lengkap (Gambar 1).

Tabel 1. Kriteria Inklusi Berdasarkan Elemen PICO

PICO	Kriteria Inklusi
<i>Participant</i>	Model Huntington's Disease
<i>Intervention</i>	Penggunaan teknologi CRISPR-Cas9 untuk modifikasi gen
<i>Comparator</i>	Tidak ada faktor pembanding
<i>Outcome</i>	Terjadi penurunan ekspresi mHTT dan gejala Huntington's Disease



Gambar 1. Diagram PRISMA

## HASIL

Tabel 2. Gambaran Umum Studi Tentang Pemanfaatan CRISPR-Cas9 untuk HD pada Tujuh Literatur Terpilih

Penulis	Metode	Origin of Model	Target Modifikasi	Vektor	Lokasi pemotongan oleh CRISPR-Cas9	Efek Intervensi CRISPR-Cas9	Kesimpulan
Monteys <i>et al.</i> (2017)	In vivo dan in vitro	Human, BachHD Mouse	HTT	rAAV (recombinant Adeno-Associated Virus)	SNP-dependent PAMs yang berdekatan dengan ekson-1 HTT	Pengurangan ekspresi protein huntingtin mutan.	Penelitian menunjukkan bahwa pengeditan genom alel spesifik menggunakan teknologi CRISPR-Cas9 efektif dalam mengurangi ekspresi dari alel mutan HTT pada fibroblas manusia HD dan otak tikus.

Ekman <i>et al</i> (2019).	In vivo dan in vitro	R6/2 <i>Mouse</i>	HTT	AAV1 (Adeno-Associate d Virus serotype 1)	Ekson 1 dari gen HTT, tepatnya di upstream atau downstream dari ekspansi ulangan CAG	Penurunan ekspresi mHTT sekitar 50% dalam protein neuron dan perbaikan signifikan dalam rentang hidup serta defisit motorik tertentu.	Berdasarkan hasil temuan ini, terlihat bahwa CRISPR-Cas9 dapat efektif dalam mengedit genom dan memberikan manfaat terapeutik pada model tikus penyakit Huntington.
Oura <i>et al.</i> (2021).	In vivo dan in vitro	R6/2 <i>Mouse</i>	HTT	pX459 (plasmid yang mengandung Cas9, gRNA, dan gen resistensi puromisin )	Urutan CAG repeat (pemotongan pada beberapa bagian dari urutan nukleotida CAG)	Mengurangi gejala abnormal pada neuron yang didiferensiasi dan pada tikus khimerik yang dihasilkan dari sel-sel ES yang telah diperbaiki.	Penelitian ini menunjukkan bahwa CRISPR dengan varian nuklease SpCas9-NG dapat menjadi alat yang efektif untuk memperbaiki pengulangan CAG yang abnormal serta mutasi penyakit lain yang sulit diakses dengan SpCas9 biasa.
Shin <i>et al.</i> (2016).	In Vitro	<i>Human</i>	HTT	lentiCRISPRv2	Daerah promotor, situs transkripsi awal, dan mutasi ekspansi CAG pada alel HTT yang bermutasi	Mencegah pembentukan mRNA dan protein HTT mutan secara permanen	Strategi CRISPR-Cas9 yang dikembangkan menunjukkan potensi untuk menjadi metode yang efektif dalam mengobati HD dengan menginaktivasi secara permanen alel mutan yang menyebabkan penyakit tersebut.
Kolli <i>et al.</i> (2017).	In vitro	YAC128 <i>Mouse</i>	HTT	Lentivirus	uORF (upstream open reading frame) dan batas exon1-intron	Mengurangi produksi protein huntingtin mutan (mHTT).	Penelitian menunjukkan bahwa mengganggu uORF melalui CRISPR-Cas9 berdampak negatif terhadap translasi mHTT dan, dalam tingkat yang lebih rendah, mengganggu batas exon1-intron, yang mempengaruhi translasi mHTT.
Xu <i>et al.</i>	In vitro	<i>Human</i>	HTT	pX335	5' UTR dan	hiPSCs	Penelitian

(2017)			(Cas9 pada plasmid ini adalah versi Nickase (nCas9), yang hanya memotong satu untai DNA)	ekson 1 dari gen HTT	yang mengalami HD berhasil dikoreksi dan diferensiasi menjadi neuron forebrain yang aktif secara sinaptik	menunjukkan bahwa abnormalitas fenotipik pada sel neural yang berasal dari hiPSCs HD, seperti pembentukan roset neural yang terganggu, peningkatan kerentanan terhadap penarikan faktor pertumbuhan, dan defisit dalam respirasi mitokondria, dapat diperbaiki pada kontrol isogenik.	
Yang <i>et al.</i> (2017)	In vivo dan in vitro	HD140Q- <i>Knock-In Mice</i>	HTT	AAV (Adeno-Associate Virus)	Daerah DNA yang mengelilingi ulangan CAG pada ekson 1 dari gen manusia HTT	Mengurangi akumulasi agregat HTT dan mengurangi kerusakan saraf awal pada tikus model HD. Pengurangan ekspresi mHTT juga berhasil mengurangi defisit motorik pada tikus.	Penelitian menunjukkan bahwa pengeditan gen non-allele-specific dengan CRISPR-Cas9 dapat digunakan untuk menghilangkan toksisitas neuronal yang dimediasi oleh ekspansi poliglutamin secara efisien dan permanen pada otak orang dewasa.

## PEMBAHASAN

### Penggunaan Teknologi CRISPR-Cas9 dalam Mengatasi Huntington's Disease (HD)

Teknologi CRISPR-Cas9 telah membuka jalan baru dalam pengobatan genetik, termasuk untuk penyakit neurodegeneratif seperti Huntington's Disease (HD). HD disebabkan oleh ekspansi berulang CAG dalam gen Huntingtin (HTT), yang menghasilkan protein HTT yang cenderung salah lipat dan membentuk agregat (Jimenez-Sanchez *et al.*, 2017). Penelitian oleh Monteys *et al.* (2017) menunjukkan bahwa CRISPR-Cas9 dapat secara efektif menargetkan dan mengedit alel mutan HTT, yang mengarah pada pengurangan ekspresi protein huntingtin mutan (mHTT) baik in vitro maupun in vivo. Keefektifan teknologi ini tidak hanya terbatas pada pengeditan gen, tetapi juga pada penekanan ekspresi gen mutan. Hasil yang sama ditunjukkan pada penelitian yang dilakukan oleh Kolli *et al.* (2017), bahwa mengganggu upstream open reading frame (uORF) dan batas exon1-intron melalui CRISPR-Cas9 akan

berdampak negatif terhadap translasi mHTT, yang dapat mengurangi produksi protein mutan ini. Hal ini menunjukkan potensi terapi gen berbasis CRISPR-Cas9 untuk mengatasi akar penyebab genetik HD. Dengan menekan ekspresi protein mHTT, toksisitas yang dihasilkan oleh protein ini dapat berkurang dan berpotensi mengurangi gejala yang dialami penderita HD.

Studi lain oleh Shin *et al.* (2016) mengonfirmasi bahwa penggunaan CRISPR-Cas9 untuk menargetkan daerah promotor, situs transkripsi awal, dan mutasi ekspansi CAG pada alel HTT yang bermutasi dapat mencegah pembentukan mRNA dan protein HTT mutan secara permanen. Ini dapat menjadi strategi yang menjanjikan dalam pengobatan HD karena dapat memaksimalkan penggunaan CRISPR-Cas9 untuk menginaktivasi alel mutan secara permanen. Hasil-hasil ini menunjukkan bahwa CRISPR-Cas9 tidak hanya mampu mengedit gen, tetapi juga dapat mengatur ekspresi gen secara efektif dan memberikan keuntungan terapeutik yang signifikan bagi penderita HD

(Kolli *et al.*, 2017).

### **Mekanisme Pengeditan Gen HTT oleh CRISPR-Cas9**

Mekanisme pengeditan gen HTT oleh CRISPR-Cas9 melibatkan beberapa langkah. Pertama, sebuah RNA pemandu (gRNA) dirancang untuk melengkapi urutan DNA target dalam gen HTT. Kemudian, kompleks CRISPR-Cas9, yang terdiri dari protein Cas9 dan gRNA, diarahkan ke lokasi target di gen HTT. Protein Cas9 bertindak sebagai "gunting molekuler" yang memotong kedua untai DNA pada lokasi target. Setelah DNA dipotong, sel kemudian mencoba memperbaiki kerusakan tersebut. Selama proses perbaikan ini, dapat terjadi penghapusan atau mutasi yang mengubah urutan CAG (Doudna & Charpentier, 2014).

Dalam konteks HD, pengeditan gen CRISPR-Cas9 telah menunjukkan potensi terapeutik. Misalnya, dalam sebuah studi, neurosphere yang berasal dari tikus model HD R6/2 diedit menggunakan CRISPR-Cas9 untuk menginduksi penghapusan atau mutasi indel dari ekspansi CAG. Hasilnya, neurosphere yang diedit menunjukkan penurunan agregasi poliglutamin dibandingkan dengan neurosphere HD kontrol. Selain itu, ekspresi PGC-1 $\alpha$  dan BDNF, yang berkurang dalam progresi HD, meningkat dalam neurosphere yang diedit. Oleh karena itu, pengeditan gen CRISPR/Cas9 dapat menjadi pendekatan terapeutik yang menjanjikan untuk HD (Monteys *et al.*, 2017; Yang *et al.*, 2017).

### **Efek Intervensi CRISPR-Cas9 terhadap Fenotipe Penyakit**

Intervensi CRISPR-Cas9 pada HD telah menunjukkan hasil yang menjanjikan dalam memperbaiki fenotipe penyakit. Ekman *et al.*, (2019) melaporkan bahwa pengeditan gen menggunakan CRISPR-Cas9 pada model tikus HD dapat memperbaiki defisit motorik dan memperpanjang masa hidup tikus. Ini menunjukkan bahwa teknologi CRISPR-Cas9 dapat memiliki efek terapeutik yang nyata dalam mengatasi gejala HD, terutama dalam meningkatkan kualitas hidup dan fungsi motorik penderita.

Penelitian oleh Yang *et al.* (2017) menunjukkan bahwa pengeditan gen *non-allele-specific* dengan CRISPR-Cas9 dapat mengurangi akumulasi agregat HTT dan kerusakan saraf pada tikus model HD. Pengurangan akumulasi agregat HTT sangat penting karena agregat ini merupakan salah satu faktor utama penyebab HD. Dengan menurunkan jumlah agregat, CRISPR-Cas9 membantu mengurangi toksisitas

neuronal dan memperbaiki fungsi neurologis, yang pada gilirannya dapat mengurangi defisit motorik yang sering dialami oleh penderita HD.

Oura *et al.* (2021) secara khusus membahas mengenai efektivitas CRISPR-Cas9 dengan varian nuklease SpCas9-NG. Hasilnya, penggunaan SpCas9-NG dapat mengurangi gejala abnormal pada neuron yang didiferensiasi dan pada tikus khimerik yang dihasilkan dari sel-sel ES yang telah diperbaiki. Ini menegaskan bahwa teknologi CRISPR-Cas9, terutama dengan penggunaan varian yang lebih efisien seperti SpCas9-NG, dapat memperbaiki pengulangan CAG yang abnormal serta mutasi penyakit lain yang sulit diakses dengan SpCas9 biasa. Dengan demikian, CRISPR-Cas9 tidak hanya memberikan perbaikan genetik, tetapi juga memperbaiki gejala fenotipik yang berhubungan dengan HD. Dengan menargetkan dan mengedit mutasi spesifik dalam gen HTT, teknologi ini dapat mengurangi atau menghilangkan produksi protein huntingtin mutan, memperbaiki fungsi motorik, dan meningkatkan kualitas hidup pasien HD (Monteys *et al.*, 2017; Shin *et al.*, 2016; Yang *et al.*, 2017).

### **Keberhasilan Koreksi Gen dalam Induced Pluripotent Stem Cell (iPSC)**

Penggunaan *Induced Pluripotent Stem Cell* (iPSC) yang berasal dari pasien HD memberikan model yang relevan untuk mempelajari penyakit ini dan menguji terapi genetik seperti CRISPR-Cas9. Penelitian oleh Xu *et al.* (2017) menunjukkan bahwa CRISPR-Cas9 dapat memperbaiki abnormalitas fenotipik pada sel iPSC yang berasal dari pasien HD. Setelah dikoreksi, sel-sel ini dapat berdiferensiasi menjadi neuron forebrain yang aktif secara sinaptik, ini menunjukkan bahwa CRISPR-Cas9 dapat mengembalikan fungsi normal pada sel yang telah rusak akibat mutasi HD (Xu *et al.*, 2017).

Studi lebih lanjut oleh Park *et al.* (2022) menegaskan bahwa koreksi gen pada iPSC tidak hanya memperbaiki defisit genetik tetapi juga memulihkan fungsi seluler. Misalnya, abnormalitas dalam pembentukan roset neural, peningkatan kerentanan terhadap penarikan faktor pertumbuhan, dan defisit dalam respirasi mitokondria yang terlihat pada sel neural HD dapat diperbaiki pada kontrol isogenik setelah intervensi CRISPR-Cas9 (Park *et al.*, 2022). Ini menunjukkan potensi besar CRISPR-Cas9 dalam terapi regeneratif untuk HD.

Selain itu, penggunaan CRISPR-Cas9 pada iPSC memungkinkan pendekatan personalisasi dalam pengobatan HD. Karena iPSC dapat dibuat dari sel pasien individual,

koreksi genetik dapat disesuaikan dengan mutasi spesifik yang dimiliki oleh pasien tersebut (Park *et al.*, 2022; Xu *et al.*, 2017). Ini memberikan harapan bahwa terapi gen berbasis CRISPR-Cas9 dapat disesuaikan untuk memenuhi kebutuhan genetik individu, meningkatkan efektivitas pengobatan dan mengurangi risiko efek samping yang tidak diinginkan (Xu *et al.*, 2017).

### Tantangan dan Potensi Penelitian Masa Depan

Meskipun dengan berbagai hasil yang menguntungkan, ada beberapa tantangan yang perlu diatasi sebelum CRISPR-Cas9 dapat digunakan secara klinis untuk mengobati HD. Salah satu tantangan utama adalah efisiensi pengiriman CRISPR-Cas9 ke target sel dalam otak. Oleh karena itu, teknik pengiriman yang efisien sangat penting untuk memastikan keberhasilan CRISPR-Cas9 mencapai sel target. Metode pengiriman harus dieksplorasi untuk meningkatkan efisiensi dan spesifisitas pengiriman (Yin *et al.*, 2016).

Selain itu, masalah *off-target* juga menjadi perhatian penting. *Off-target effects* terjadi ketika Cas9 bertindak pada situs genom yang tidak ditargetkan, yang dapat menimbulkan efek yang merugikan (Guo *et al.*, 2023). Beberapa strategi inovatif telah dikembangkan untuk mengurangi *off-target effects* dari CRISPR-Cas9, termasuk penggunaan *prime editor*, peningkatan spesifisitas sgRNA, peningkatan varian Cas, dan protein anti-CRISPR (Mengstie *et al.*, 2024). Oleh karena itu, pengembangan teknologi CRISPR-Cas9 yang lebih presisi dan metode deteksi yang lebih baik sangat diperlukan untuk meminimalkan risiko ini (Tsai & Joung, 2016).

Aspek etika juga harus dipertimbangkan dalam pengembangan terapi gen berbasis CRISPR-Cas9. Pengeditan genetik pada sel manusia, terutama yang dapat diwariskan, menimbulkan pertanyaan etis tentang dampak jangka panjang dan potensi penyalahgunaan teknologi ini (Lanphier *et al.*, 2015). Masalah etik terkait teknik pengaplikasian menjadi sorotan paling utama karena berkaitan dengan keamanan dan efektivitas CRISPR-Cas9. Perlu digarisbawahi bahwa pendekatan CRISPR-Cas9 ini tidak seakurat yang diharapkan. Diperlukan lebih banyak pengetahuan sebelum teknik ini diterapkan pada manusia (Doudna & Charpentier, 2014).

### KESIMPULAN

Penggunaan teknologi CRISPR-Cas9 menunjukkan potensi besar dalam mengatasi Huntington's Disease (HD) dengan kemampuan

untuk mengedit gen secara spesifik dan efisien. Penelitian telah menunjukkan bahwa CRISPR-Cas9 dapat menargetkan dan mengedit alel mutan HTT, mengurangi ekspresi protein huntingtin mutan (mHTT), dan memperbaiki fenotipe penyakit pada model tikus dan sel iPSC dari pasien HD. Meskipun demikian, tantangan signifikan seperti efisiensi pengiriman dan masalah off-target harus diatasi sebelum teknologi ini dapat diimplementasikan secara klinis. Selain itu, pertimbangan etis terkait dengan pengeditan gen manusia juga perlu diperhatikan. Secara keseluruhan, CRISPR-Cas9 memiliki potensi besar sebagai terapi genetik yang personal dan efektif untuk HD, tetapi diperlukan lebih banyak penelitian untuk mengatasi tantangan dan memastikan keamanannya.

### SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk memastikan keamanan dan efektivitas jangka panjang dari penggunaan CRISPR-Cas9. Uji klinis dengan sampel yang lebih besar dan periode pengamatan yang lebih lama akan memberikan data yang lebih komprehensif mengenai dampak terapi ini.

### DAFTAR PUSTAKA

- Barrangou, R. and Doudna, J.A. 2016. Applications of CRISPR technologies in research and beyond, *Nature Biotechnology*, 34(9), pp. 933–941. Available at: <https://doi.org/10.1038/nbt.3659>.
- Cong, L. *et al.* 2013. Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems, *Science*, 339(6121), pp. 819–823. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.1231143>.
- Doudna, J.A. and Charpentier, E. 2014. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9, *Science*, 346. Available at: <http://science.sciencemag.org/>.
- Ekman, F.K. *et al.* 2019. CRISPR-Cas9-Mediated Genome Editing Increases Lifespan and Improves Motor Deficits in a Huntingtons Disease Mouse Model, *Molecular Therapy Nucleic Acids*, 17, pp. 829–839. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2019.07.009>.
- Food and Drug Administration (FDA). 2018. What is Gene Therapy? Available at: [www.fda.gov](http://www.fda.gov) (Accessed: June 2024)
- Ginn, S.L. *et al.* 2018. Gene therapy clinical trials

- worldwide to 2017: An update, *The journal of gene medicine*, 20(5), e3015. Blackwell Publishing Inc. Available at: <https://doi.org/10.1002/jgm.3015>.
- Guo, C. *et al.* 2023. Off-target effects in CRISPR/Cas9 gene editing, *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 11. Available at: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1143157>.
- Hryhorowicz, M. *et al.* 2016. CRISPR/Cas9 Immune System as a Tool for Genome Engineering, *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 65(3), pp. 233–240. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00005-016-0427-5>.
- Hsu, P.D., Lander, E.S. and Zhang, F. 2014. Development and applications of CRISPR-Cas9 for genome engineering, *Cell*, 157(6), pp. 1262–1278. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.05.010>.
- Jimenez-Sanchez, M. *et al.* 2017. Huntington's Disease: Mechanisms of Pathogenesis and Therapeutic Strategies, *Cold Spring Harbor Perspectives Medicine*, 7(7). Available at: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a024240>.
- Karimian, A. *et al.* 2019. CRISPR/Cas9 technology as a potent molecular tool for gene therapy, *Journal of Cellular Physiology*, 234(8), pp. 12267–12277. Available at: <https://doi.org/10.1002/jcp.27972>.
- Kolli, N. *et al.* 2017. CRISPR-Cas9 mediated gene-silencing of the mutant huntingtin gene in an in vitro model of huntington's disease, *International Journal of Molecular Sciences*, 18(4). Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms18040754>.
- Koonin, E. V. and Makarova, K.S. 2019. Origins and evolution of CRISPR-Cas systems, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 374. Available at: <https://doi.org/10.1098/rstb.2018.0087>.
- Kumar, A., Singh, A. and Ekavali 2015. A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: An update, *Pharmacological Reports*, 67(2), pp. 195–203. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2014.09.004>.
- Lanphier, E. *et al.* 2015. Don't edit the human germ line, *Nature*, 519, pp. 410–411. Available at: <https://doi.org/10.1038/519410a>.
- Malankhanova, T. *et al.* 2020. A human induced pluripotent stem cell-derived isogenic model of Huntington's disease based on neuronal cells has several relevant phenotypic abnormalities, *Journal of Personalized Medicine*, 10(4), pp. 1–26. Available at: <https://doi.org/10.3390/jpm10040215>.
- Mengstie, M.A. *et al.* 2024. Recent Advancements in Reducing the Off-Target Effect of CRISPR-Cas9 Genome Editing, *Biologics: Targets and Therapy*, 18, pp. 21–28. Available at: <https://doi.org/10.2147/BTT.S429411>.
- Monteys, A.M. *et al.* 2017. CRISPR/Cas9 Editing of the Mutant Huntingtin Allele In Vitro and In Vivo, *Molecular Therapy*, 25(1), pp. 12–23. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2016.11.010>.
- Naldini, L. 2015. Gene therapy returns to centre stage, *Nature*, 526, pp. 351–360. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature15818>.
- Nopoulus, P.C. 2016. Huntington disease a single-gene degenerative disorder of the striatum, *Dialogues in clinical neuroscience*, 18(1), pp. 91–98.
- Oura, S. *et al.* 2021 Precise CAG repeat contraction in a Huntington's Disease mouse model is enabled by gene editing with SpCas9-NG, *Communications Biology*, 4(1). Available at: <https://doi.org/10.1038/s42003-021-02304-w>.
- Papanna, B., Lazzari, C. and Rabottini, M. 2024 Huntington's disease prevalence in Asia: a systematic review and meta-analysis. *Rivista di psichiatria*, 59(1), pp. 4–12. Available at: <https://doi.org/10.1708/4205.41943>.
- Park, H.J. *et al.* 2022. SUPT4H1-edited stem cell therapy rescues neuronal dysfunction in a mouse model for Huntington's disease, *NPJ Regenerative Medicine*, 7(1). Available at: <https://doi.org/10.1038/s41536-021-00198-0>.
- Rawlins, M.D. *et al.* 2016. The prevalence of huntington's disease, *Neuroepidemiology*, 46(2), pp. 144–153. Available at: <https://doi.org/10.1159/000443738>.
- Rees, H.A. and Liu, D.R. 2018. Base editing: precision chemistry on the genome and

- transcriptome of living cells, *Nature Reviews Genetics*, 19(12), pp. 770–788. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41576-018-0059-1>.
- Shin, J.W. *et al.* 2016. Permanent inactivation of Huntington’s disease mutation by personalized allele-specific CRISPR/Cas9, *Human Molecular Genetics*, 25(20), pp. 4566–4576. Available at: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddw286>.
- Tsai, S.Q. and Joung, J.K. 2016. Defining and improving the genome-wide specificities of CRISPR-Cas9 nucleases, *Nature Reviews Genetics*, 17(5), pp. 300–312. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.28>.
- Wang, H., La Russa, M. and Qi, L.S. 2016. CRISPR/Cas9 in Genome Editing and beyond, *Annual Review of Biochemistry*, 85, pp. 227–264. Available at: [https://doi.org/10.1146/annurev-](https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060815-014607)
- biochem-060815-014607*.
- Xu, X. *et al.* 2017. Reversal of Phenotypic Abnormalities by CRISPR/Cas9-Mediated Gene Correction in Huntington Disease Patient-Derived Induced Pluripotent Stem Cells, *Stem Cell Reports*, 8(3), pp. 619–633. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2017.01.022>.
- Yang, S. *et al.* 2017. CRISPR/Cas9-mediated gene editing ameliorates neurotoxicity in mouse model of Huntington’s disease, *Journal of Clinical Investigation*, 127(7), pp. 2719–2724. Available at: <https://doi.org/10.1172/JCI92087>.
- Yin, H. *et al.* 2016. Therapeutic genome editing by combined viral and non-viral delivery of CRISPR system components in vivo, *Nature Biotechnology*, 34(3), pp. 328–333. Available at: <https://doi.org/10.1038/nbt.3471>.



*Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution, and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The images or other third-party material in this article are included in the article’s Creative Commons license unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article’s Creative Commons license and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.*