

PEMANFAATAN CRISPR-Cas9 PADA ANTIBODI MONOKLONAL UNTUK TERAPI HIV

Ryan Putra Adhytama S¹ & Yusminah Hala^{2*}

^{1&2}Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Negeri Makassar, Jalan Mallengkeri Raya, Makassar, Sulawesi Selatan
90224, Indonesia

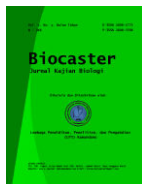
*Email: yushala12@gmail.com

Submit: 22-11-2025; Revised: 29-11-2025; Accepted: 02-12-2025; Published: 02-01-2026

ABSTRAK: Infeksi HIV tetap menjadi tantangan kesehatan global dengan tingginya angka infeksi baru dan rendahnya tingkat supresi virus, terutama di negara berpenghasilan menengah. Terapi antiretroviral (ART) telah menurunkan morbiditas dan mortalitas secara signifikan, namun tidak mampu mengeliminasi reservoir laten, sehingga terapi seumur hidup tetap diperlukan. Dalam dekade terakhir, antibodi monoklonal, khususnya *broadly Neutralizing Antibodies* (bNAbs), serta teknologi penyuntingan gen CRISPR-Cas9 muncul sebagai pendekatan terapeutik inovatif dengan potensi remisi jangka panjang. bNAbs mampu menetralkan spektrum luas strain HIV dan mengaktifkan mekanisme efektor imun, termasuk *Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity* (ADCC) dan fagositosis, namun keterbatasan biaya, resistensi virus, dan durasi efek membatasi penggunaannya sebagai pengganti ART. Secara paralel, CRISPR-Cas9 telah menunjukkan kemampuan menarget provirus HIV dalam genom sel inang dan memungkinkan rekayasa sel imun untuk menghasilkan antibodi terapeutik secara stabil. Studi pra-klinik menunjukkan bahwa rekayasa sel B dengan CRISPR-Cas9 dapat mempertahankan memori imun, melakukan *isotype switching*, dan *somatic hypermutation*, sehingga menciptakan "*programmed immunity*". Pendekatan kombinasi bNAbs dan CRISPR-Cas9 dinilai menjanjikan, karena mampu menetralkan virus sirkulasi sekaligus menghapus provirus laten, serta meningkatkan potensi *functional cure*. Meskipun demikian, risiko biologis seperti *off-target effects*, imunogenisitas Cas9, keterbatasan sistem pengantaran, serta munculnya *escape mutants* tetap menjadi tantangan. Tinjauan ini menunjukkan bahwa integrasi antibodi monoklonal dengan CRISPR-Cas9 membuka paradigma baru terapi HIV dengan potensi meningkatkan efikasi, durasi proteksi, dan menurunkan ketergantungan pada ART. Penelitian lanjutan, termasuk uji klinis fase lanjut diperlukan untuk memastikan keamanan, efektivitas, dan kelayakan aplikasinya pada populasi manusia.

Kata Kunci: Antibodi Monoklonal, CRISPR-Cas9, HIV, Imunoterapi, Pengeditan Gen, Terapi.

ABSTRACT: HIV infection remains a global health challenge with high rates of new infections and low levels of viral suppression, especially in middle-income countries. Antiretroviral therapy (ART) has significantly reduced morbidity and mortality, but has not been able to eliminate latent reservoirs so lifelong therapy remains necessary. In the last decade, monoclonal antibodies, particularly broadly neutralizing antibodies (bNAbs), as well as CRISPR-Cas9 gene-editing technology have emerged as innovative therapeutic approaches with long-term remission potential. bNAbs is able to neutralize a broad spectrum of HIV strains and activate immune effector mechanisms, including antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC) and phagocytosis, but cost limitations, viral resistance, and duration of effects limit its use as a substitute for ART. In parallel, CRISPR-Cas9 has demonstrated the ability to target HIV proviruses in the host cell genome and enable the engineering of immune cells to stably produce therapeutic antibodies. Pre-clinical studies show that B-cell engineering with CRISPR-Cas9 can maintain immune memory, perform isotype switching, and somatic hypermutation, thus creating "programmed immunity". The combination approach of bNAbs and CRISPR-Cas9 is considered promising because it is able to neutralize circulating viruses while removing latent proviruses, increasing the potential for functional cure. However, biological risks such as off-target effects, Cas9 immunogenicity, limitations of the delivery system, and the emergence of escape mutants remain challenges. This review shows that the integration of monoclonal antibodies with CRISPR-Cas9 opens up a new paradigm of HIV therapy, with the potential to improve efficacy, duration of protection, and decrease reliance on ART. Further



research, including advanced phase clinical trials, is needed to ensure its safety, effectiveness, and feasibility of application in human populations.

Keywords: Monoclonal Antibodies, CRISPR-Cas9, HIV, Immunotherapy, Gene Editing, Therapy.

How to Cite: Adhytama S, R. P., & Hala, Y. (2026). Pemanfaatan CRISPR-Cas9 pada Antibodi Monoklonal untuk Terapi HIV. *Biocaster : Jurnal Kajian Biologi*, 6(1), 84-103. <https://doi.org/10.36312/biocaster.v6i1.843>



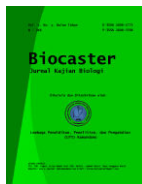
Biocaster : Jurnal Kajian Biologi is Licensed Under a CC BY-SA [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).

PENDAHULUAN

Epidemi AIDS telah menjadi masalah kesehatan masyarakat global selama lebih dari 40 tahun dan mengakibatkan sekitar 40 juta kematian. AIDS disebabkan oleh retrovirus HIV-1 yang ditularkan melalui cairan dan sekresi tubuh. Setelah terjadi infeksi, virus menyerang sel inang dengan menempel pada reseptor CD4 dan selanjutnya berikatan dengan salah satu dari dua koreseptor kemokin utama, yaitu CCR5 atau CXCR4. Proses ini menyebabkan kerusakan dan penghancuran sel inang yang paling sering berupa limfosit T selama proses replikasi virus. Apabila tidak ditangani, infeksi HIV dapat berkembang menjadi kondisi defisiensi imun yang berujung pada kematian dalam kurun waktu sekitar 2-10 tahun.

Penemuan serta penerapan diagnostik cepat dan terapi antiretroviral yang efektif secara global telah menghasilkan penurunan angka mortalitas dan morbiditas yang signifikan, sekaligus meningkatkan jumlah individu yang memerlukan terapi supresi virus seumur hidup. Supresi virus terbukti mampu menghilangkan penularan HIV melalui hubungan seksual dan secara substansial memperbaiki luaran kesehatan. Meskipun infeksi HIV masih menghadapi stigma sosial, kondisi ini kini dipandang sebagai penyakit kronis yang dapat dikelola. Pengendalian epidemi secara menyeluruh memerlukan ketersediaan, keterjangkauan, serta aksesibilitas layanan pencegahan dan pengobatan bagi seluruh lapisan masyarakat. Perhatian harus difokuskan pada kesejahteraan jangka panjang, penatalaksanaan multimorbiditas, serta peningkatan kualitas hidup orang dengan HIV (Bekker *et al.*, 2023).

World Health Organization (WHO) melaporkan bahwa pada akhir tahun 2024 terdapat sekitar 40,8 juta (37,0-45,6 juta) orang yang hidup dengan HIV secara global, dengan estimasi 1,3 juta infeksi baru setiap tahunnya. Pada tahun yang sama, sebanyak 630.000 (490.000-820.000) kematian di seluruh dunia disebabkan oleh kondisi terkait HIV. Sementara itu, menurut UNAIDS (2025), epidemi HIV di Indonesia sebagian besar terkonsentrasi pada populasi kunci, yaitu laki-laki yang berhubungan seks dengan laki-laki (LSL), pekerja seks komersial, pengguna narkoba suntik, dan *transgender*, kecuali di wilayah Tanah Papua yang menunjukkan pola epidemi menyebar luas. Tercatat hampir 80.000 LSL berada di ibu kota Indonesia, dan diperkirakan terdapat sekitar 570.000 orang yang hidup dengan HIV di Indonesia. Salah satu tantangan terbesar yang dihadapi adalah kesenjangan dalam akses pengobatan, mengingat hanya 31% orang dengan



HIV/AIDS (ODHA) yang mengakses terapi, dan hanya 14% yang mencapai supresi virus.

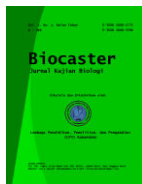
Tingginya angka kasus HIV tersebut menjadi perhatian serius bagi pemerintah dan komunitas medis untuk memperkuat kerja sama dalam menekan, mengendalikan, dan menanggulangi penyebaran HIV di masyarakat. Salah satu upaya terapi yang paling umum dilakukan adalah pemberian terapi antiretroviral (*Antiretroviral Therapy*/ART). Terapi ini telah terbukti secara signifikan menurunkan morbiditas dan mortalitas terkait HIV. Namun demikian, kepatuhan terhadap ART seumur hidup tetap menjadi hal krusial, karena ART hanya menekan replikasi virus tanpa mengeliminasi reservoir laten. Reservoir tersebut, terutama pada sel T CD4⁺ memori dalam keadaan istirahat, memungkinkan virus untuk kembali muncul dengan cepat setelah penghentian pengobatan (Mahomed *et al.*, 2021).

Meskipun pengembangan obat antiretroviral kerja panjang menunjukkan hasil yang menjanjikan, masih terdapat sejumlah tantangan klinis, termasuk pengelolaan efek samping, interaksi antarobat, kehamilan, serta konsentrasi obat jangka panjang yang berpotensi memicu perkembangan resistensi obat (Regueiro-Ren *et al.*, 2022). Dalam konteks ini, antibodi penetralisir luas (*broadly Neutralizing Antibodies*/bNAbs) muncul sebagai strategi inovatif untuk meningkatkan efektivitas terapi HIV dan berpotensi mencapai remisi virus yang berkelanjutan. Berbeda dengan ART, bNAbs menargetkan beberapa situs pada protein amplop HIV, sehingga mampu menetralkan virus yang bersirkulasi sekaligus mengaktifkan sistem imun untuk membersihkan sel yang terinfeksi (Gulick & Flexner, 2019).

Antibodi monoklonal manusia yang mampu menetralkan berbagai isolat HIV menunjukkan potensi besar dalam pencegahan infeksi HIV. Antibodi monoklonal penetralisir luas anti-gp120, seperti 2G12 dan b12, serta antibodi anti-gp41, seperti 4E10 dan 2F5 mampu memblokir beragam varian HIV, karena menargetkan *epitop Env* yang terkonservasi dan memiliki fungsi penting bagi virus (Liu *et al.*, 2020).

Antara tahun 1995 hingga 2014, antibodi monoklonal (*monoclonal Antibodies*/mAb) dan bNAbs generasi awal mulai diuji pada manusia, dengan fokus utama pada tiga antibodi, yaitu 2G12, 2F5, dan 4E10. Uji klinis tersebut menunjukkan bahwa mAb relatif aman dan dapat ditoleransi dengan baik pada orang yang hidup dengan HIV dan menjalani ART. Namun, meskipun memiliki profil keamanan yang baik, terapi kombinasi mAb belum mampu mencegah peningkatan *viral load* setelah penghentian pengobatan. Hampir seluruh peserta uji mengalami mutasi lolos virus yang menunjukkan rendahnya hambatan terhadap resistensi antibodi tersebut (Thavarajah *et al.*, 2024). Temuan ini menegaskan perlunya pengembangan antibodi dengan potensi yang lebih tinggi, serta pendekatan terapi kombinasi yang lebih efektif. Pada dekade 2010-an, kemajuan teknologi memungkinkan pengembangan generasi baru bNAbs dengan potensi dan cakupan netralisasi yang lebih luas terhadap berbagai strain HIV-1 (Mahomed *et al.*, 2021).

Dalam praktik klinis dan penelitian saat ini, antibodi monoklonal terhadap HIV secara umum diklasifikasikan menjadi dua kelompok utama, yaitu: 1) antibodi



yang menargetkan epitop gp120/gp41 pada amplop HIV (bNAbs) untuk menetralkan virus bebas serta memediasi eliminasi sel yang terinfeksi; dan 2) antibodi yang menargetkan reseptor atau jalur masuk virus, seperti ibalizumab yang merupakan inhibitor pasca-perlekatan anti-CD4 untuk menghambat masuknya virus ke dalam sel. Selain kemampuan netralisasi terhadap berbagai varian HIV, bNAbs juga dapat mengaktivasi mekanisme efektor imun, seperti *Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity* (ADCC) dan fagositosis yang berkontribusi pada eliminasi sel terinfeksi (Paneerselvam *et al.*, 2023).

Dalam satu dekade terakhir, antibodi monoklonal, khususnya bNAbs serta teknologi CRISPR-Cas9 muncul sebagai dua pendekatan kunci menuju pengembangan terapi HIV yang lebih efektif dan berpotensi bersifat kuratif. Oleh karena itu, *Systematic Literature Review* (SLR) ini berfokus pada titik temu antara teknologi CRISPR-Cas9 dan penggunaan antibodi monoklonal/bNAbs dalam konteks terapi HIV.

METODE

Penelitian ini menggunakan metode *systematic narrative literature review* untuk menganalisis perkembangan produksi antibodi monoklonal, rekayasa sel B berbasis CRISPR-Cas9, serta aplikasi terapeutik antibodi penetralisir luas (*broadly Neutralizing Antibodies*/bNAbs) pada infeksi HIV. Pencarian literatur dilakukan melalui basis data *PubMed*, *Scopus*, *Web of Science*, dan *Google Scholar* dengan menggunakan kata kunci “*monoclonal antibody production*”, “*broadly neutralizing antibody HIV*”, “*CRISPR-Cas9 B cell engineering*”, “*hybridoma*”, dan “*antibody effector function*”. Literatur yang dipublikasikan dalam rentang tahun 2015-2025 diprioritaskan untuk menjamin relevansi dan kemutakhiran data, sementara artikel klasik tetap disertakan apabila mendukung landasan teori.

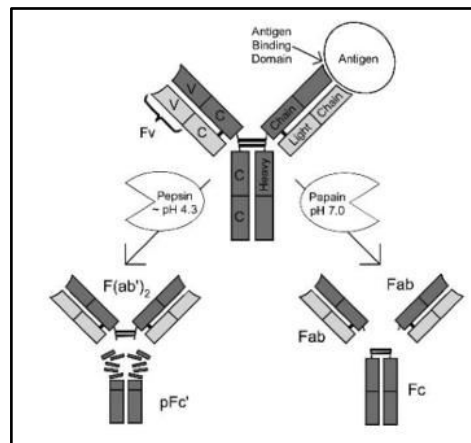
Proses seleksi literatur dilakukan melalui dua tahap, yaitu: 1) penapisan judul dan abstrak untuk menilai kesesuaian dengan topik penelitian; dan 2) telaah teks lengkap (*full-text review*) untuk mengevaluasi metodologi, hasil penelitian, serta kontribusinya terhadap pemahaman produksi antibodi atau terapi HIV. Kriteria inklusi meliputi penelitian eksperimental, artikel ulasan ilmiah, dan laporan uji klinis yang relevan. Artikel yang bersifat opini atau tidak berbasis ilmiah dikecualikan dari analisis. Data dari literatur terpilih dicatat secara sistematis dalam tabel yang mencakup jenis antibodi, metode produksi, mekanisme efektor, hasil praklinis atau klinis, serta keterbatasan penelitian.

Analisis data dilakukan secara tematik dengan pengelompokan berdasarkan: 1) struktur dan mekanisme molekuler antibodi; 2) strategi produksi melalui teknologi hibridoma dan rekayasa sel B; 3) peran CRISPR-Cas9 dalam optimasi antibodi; serta 4) efikasi dan tantangan penggunaan bNAbs dalam terapi HIV. Hasil kajian literatur disintesis secara naratif dan disajikan secara visual dalam bentuk tabel dan diagram untuk memberikan gambaran komprehensif mengenai jalur produksi antibodi, efektivitas bNAbs, serta potensi rekayasa sel B dalam pengembangan terapi HIV. Kualitas dan potensi bias setiap artikel dievaluasi secara kritis dengan mempertimbangkan desain penelitian, ukuran sampel, serta konsistensi hasil antar studi. Pendekatan ini memberikan dasar ilmiah yang kuat untuk mengidentifikasi celah penelitian.

HASIL DAN PEMBAHASAN

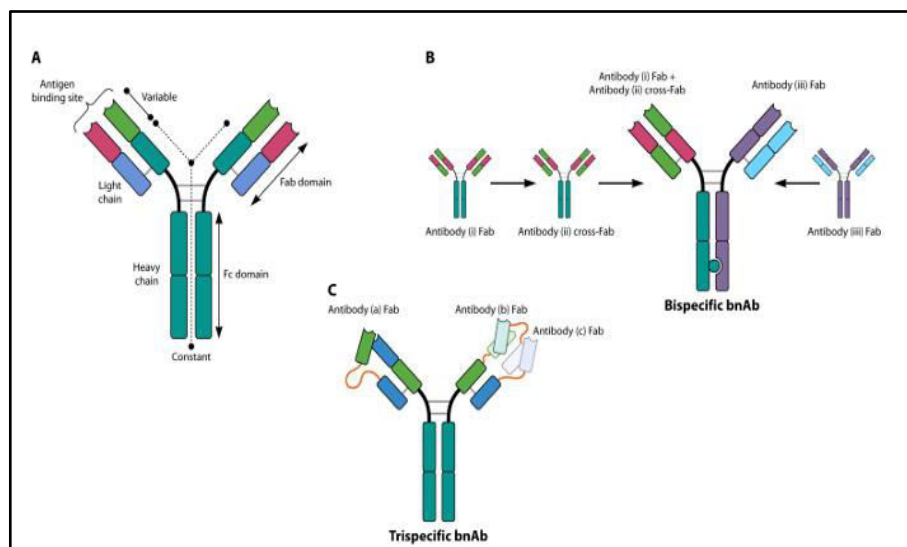
Mekanisme Kultur *Antibody Monoclonal*

Molekul struktural dasar antibodi terdiri dari struktur berbentuk “Y” yang terdiri dari dua bagian yang identik, yaitu berat dan ringan rantai. Setiap rantai ini mengandung beberapa konstanta (C) dan satu daerah variabel (V) yang dihubungkan oleh ikatan disulfida. Domain pengikat antigen berada di ujung lengan, dan domain efekturnya berada di ekor. Untuk sebagian besar antibodi, domain ini dapat dipisahkan satu sama lain melalui pencernaan proteolitik.



Gambar 1. Molekul Struktural Dasar Antibodi.

Pada pH fisiologis, papain mampu memecah semua isotipe tanpa memandang spesies menjadi Fab (monovalen untuk pengikatan antigen) dan Fc (domain efektor) terfragmentasi dengan membelah rantai berat di atas ikatan disulfida yang menyatukannya. Namun, *pep-sin* memotong molekul di bawah ikatan ini, sehingga menghasilkan F(ab)2 (bivalen untuk pengikatan antigen) dan berbagai fragmen Fc wilayah yang terbesar disebut pFc (Kinman & Pompano, 2019).

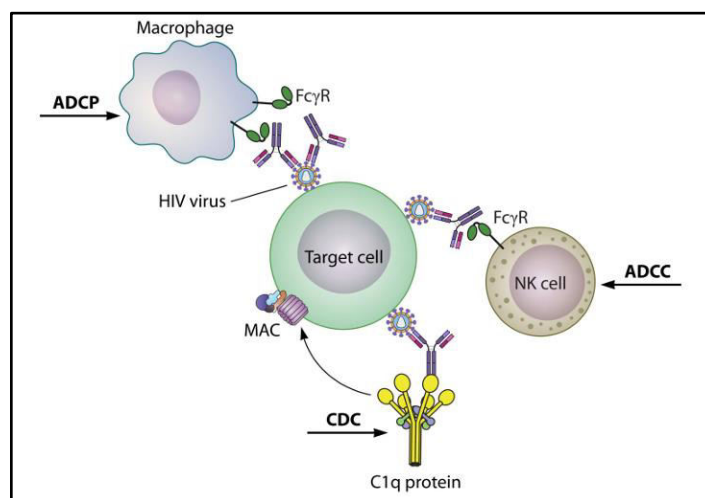


Gambar 2. Struktur Antibodi.

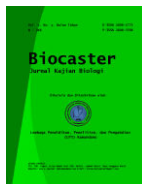
Menurut Mahomed *et al.* (2021), struktur antibodi bNAbs pada dasarnya mengikuti struktur imunoglobulin klasik yang terdiri atas dua rantai berat dan dua rantai ringan yang tersusun membentuk struktur menyerupai huruf “Y”. Daerah pengikatan antigen atau fragmen antigen-binding (Fab) yang terletak pada kedua lengan struktur “Y”, mengandung domain variabel dari rantai berat dan rantai ringan yang menentukan spesifisitas pengikatan antigen. Sementara itu, daerah fragmen kristalisasi (Fc) membentuk batang struktur “Y” dan berperan dalam aktivasi fungsi efektor melalui interaksi dengan reseptor Fc pada sel-sel imun.

Antibodi bispesifik merupakan molekul hasil rekayasa yang dirancang untuk mengikat dua epitop atau antigen yang berbeda secara simultan. Berbagai format antibodi bispesifik telah dikembangkan, namun secara umum desainnya menampilkan dua lengan Fab yang berbeda yang terhubung pada satu wilayah Fc. Dalam konteks bNAb, Fab dari salah satu antibodi direkayasa secara lintas-Fab sebelum digabungkan dengan bNAb lainnya. Setiap lengan Fab dirancang untuk mengenali antigen yang berbeda, sehingga memungkinkan antibodi bispesifik menjembatani dua target molekuler secara bersamaan.

Keunikan bNAb terhadap HIV, dibandingkan dengan antibodi konvensional, terutama terletak pada karakteristik lokus pengikatan antigennya. Lokus ini mengalami hipermutasi somatik yang ekstensif, sehingga memungkinkan bNAb mengikat dan menetralkan beragam varian HIV-1. Selain itu, bNAb HIV sering menunjukkan loop CDRH3 yang memanjang, yaitu wilayah penentu komplemen (*complementarity-determining region*) pada rantai berat. Struktur ini memungkinkan antibodi menembus perisai glikana padat pada selubung HIV-1 dan mengakses daerah yang terkonservasi. Salah satu target penting tersebut adalah *Membrane-Proximal External Region* (MPER) yang sangat terkonservasi di berbagai sub tipe genetik HIV dan berperan krusial dalam proses netralisasi. Sebagian kecil bNAb juga menunjukkan sifat polireaktivitas, yaitu kemampuan untuk berikatan dengan berbagai antigen secara multifaset. Karakteristik ini dapat meningkatkan kapasitas pengenalan terhadap beragam galur HIV-1. Namun demikian, polireaktivitas yang berlebihan berpotensi memicu respons autoimun yang dapat menyebabkan penargetan struktur seluler inang secara tidak sengaja.



Gambar 3. Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity (ADCC).



Fungsi Efektor

Sitotoksitas seluler yang bergantung pada antibodi (*Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity*, ADCC), fagositosis yang bergantung pada antibodi (*Antibody-Dependent Phagocytosis*, ADP), dan sitotoksitas yang bergantung pada komplemen (*complement-dependent cytotoxicity*, CDC) merupakan tiga mekanisme utama yang berbeda namun saling berkaitan dalam meningkatkan kemampuan sistem imun untuk mengenali dan mengeliminasi sel patogen atau sel yang mengalami perubahan abnormal.

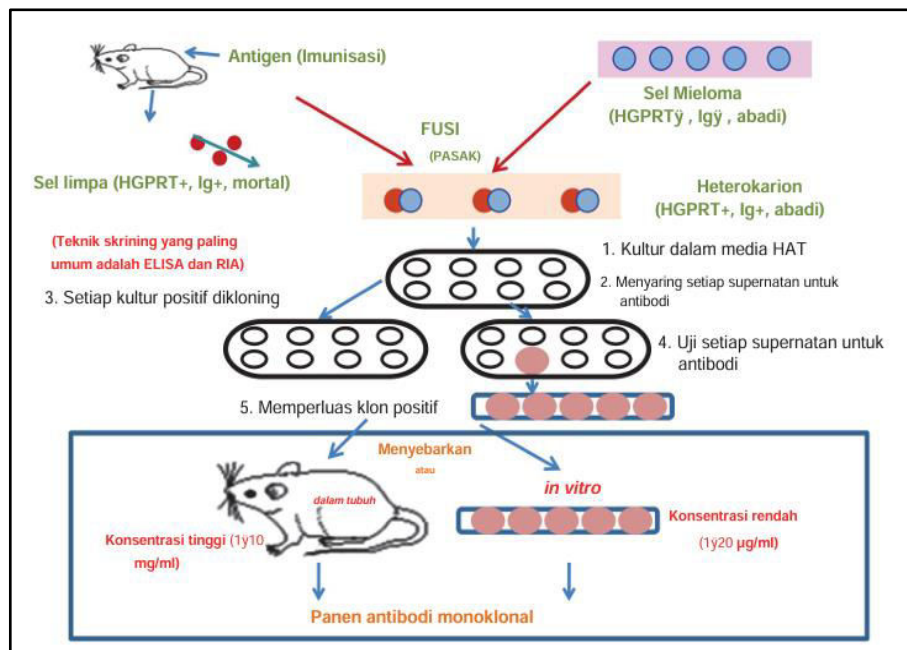
ADCC terutama dimediasi oleh interaksi antara bagian fragmen kristalisasi (Fc) antibodi dan reseptor Fc yang diekspresikan pada permukaan sel efektor, seperti sel pembunuh alami (*Natural Killer*, NK), makrofag, dan sel efektor imun lainnya. Setelah antibodi berikatan dengan antigen target pada permukaan sel patogen, reseptor Fc pada sel NK berinteraksi dengan daerah Fc antibodi tersebut, sehingga memicu kaskade pensinyalan intraseluler. Proses ini berujung pada pelepasan granula sitotoksik yang mengandung perforin dan granzim yang kemudian menginduksi apoptosis pada sel target dan menyebabkan eliminasi sel tersebut.

ADP bekerja melalui mekanisme yang juga melibatkan reseptor Fc, namun sel efektor utamanya adalah fagosit, termasuk makrofag, monosit, dan granulosit. Dalam mekanisme ini, pengikatan antibodi pada antigen permukaan sel target memfasilitasi pengenalan oleh reseptor Fc pada fagosit, sehingga memicu proses fagositosis. Sel target yang teropsonisasi kemudian diinternalisasi dan mengalami degradasi di dalam kompartemen lisosom fagosit. Berbeda dengan ADCC yang melibatkan pelepasan molekul sitotoksik secara ekstraseluler, ADP mengeliminasi sel target melalui proses internalisasi dan degradasi intraseluler. Sebaliknya, CDC tidak bergantung pada aktivitas sel efektor, melainkan memanfaatkan sistem protein serum yang dikenal sebagai sistem komplemen. Setelah antibodi berikatan dengan antigen target pada permukaan sel, kaskade aktivasi komplemen dimulai dan berpuncak pada pembentukan *Membrane Attack Complex* (MAC). Kompleks ini membentuk pori pada membran sel target, sehingga mengganggu integritas membran dan menyebabkan lisis sel.

ADCC dan ADP merupakan mekanisme efektor seluler yang bergantung pada interaksi antara antibodi dan reseptor Fc, sedangkan CDC merepresentasikan mekanisme non-seluler yang memanfaatkan sistem komplemen. Ketiga jalur ini menyediakan strategi yang saling melengkapi bagi sistem imun dalam menetralkan dan mengeliminasi sel patogen atau sel yang menunjukkan perilaku abnormal, sehingga berperan penting dalam pemeliharaan homeostasis fisiologis.

Selain peran alamnya dalam respons imun, ketiga mekanisme ini juga memiliki implikasi klinis yang sangat penting, khususnya dalam pengembangan terapi berbasis antibodi monoklonal. Efektivitas antibodi terapeutik, seperti yang digunakan pada pengobatan kanker, penyakit autoimun, dan infeksi kronis, sering kali ditentukan oleh kemampuannya menginduksi ADCC, ADP, dan/atau CDC. Rekayasa struktur daerah Fc antibodi dapat dilakukan untuk meningkatkan afinitas terhadap reseptor Fc tertentu atau komponen komplemen, sehingga memperkuat respons efektor yang diinginkan. Pemahaman mendalam mengenai mekanisme ADCC, ADP, dan CDC menjadi landasan strategis dalam desain imunoterapi.

Garis Besar Produksi *Antibody Monoclonal* (mAb)

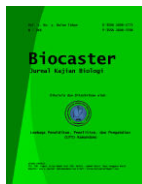


Gambar 4. Produksi *Antibody Monoclonal* (mAb).

Tujuan utama produksi *antibody monoclonal* (mAb) adalah menghasilkan populasi antibodi yang homogen dan spesifik terhadap imunogen yang telah ditentukan sebelumnya (Gambar 1). Strategi dasar produksi mAb meliputi beberapa tahapan utama, yaitu: 1) pemurnian dan karakterisasi antigen target dalam jumlah yang memadai; 2) imunisasi mencit menggunakan antigen yang telah dimurnikan; 3) kultur sel mieloma yang tidak mampu mensintesis enzim *Hipoksantin-Guanina Fosforiltransferase* (HGPRT) yang diperlukan dalam jalur penyelamatan sintesis asam nukleat; 4) pengambilan sel limpa dari mencit terimunisasi dan fusi sel tersebut dengan sel mieloma; dan 5) seleksi sel hasil fusi melalui penumbuhan dalam medium Hipoksantin Aminopterin Timidin (HAT).

Pada tahap seleksi, aminopterin menghambat jalur sintesis *de novo* nukleotida, sehingga sel hanya dapat bertahan hidup apabila memiliki jalur penyelamatan asam nukleat yang fungsional. Sel mieloma yang tidak berfusi tidak dapat bertahan hidup karena tidak memiliki enzim HGPRT, sedangkan sel limpa yang tidak berfusi memiliki masa hidup yang terbatas. Oleh karena itu, hanya sel hibrida (hibridoma) hasil fusi antara sel limpa dan sel mieloma yang mampu tumbuh secara selektif dalam medium HAT, karena mewarisi kemampuan proliferasi dari sel mieloma dan jalur penyelamatan nukleotida dari sel limpa. Selanjutnya, 6) klon hibridoma dihasilkan dari satu sel inang tunggal; 7) antibodi yang disekresikan oleh masing-masing klon diuji kemampuan pengikatan antigennya menggunakan uji imunosorben terkait enzim (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*, ELISA); dan 8) klon dengan spesifisitas dan afinitas terbaik dipilih untuk penggunaan selanjutnya.

Dalam proses imunisasi, antigen protein harus tersedia dalam jumlah yang cukup, umumnya beberapa miligram. Namun, pada antigen multimolekuler yang



kompleks, pemurnian dalam jumlah besar sering kali menjadi tantangan. Dalam kondisi tersebut, bergantung pada kemampuan skrining dan seleksi, mAb yang dihasilkan dapat digunakan untuk memurnikan antigen target dari campuran antigen. Mencit umumnya diimunisasi selama 6-10 minggu sebelum proses fusi guna memastikan terbentuknya respons imun yang optimal. Jadwal imunisasi dapat bervariasi, bergantung pada sifat dan tingkat kemurnian antigen yang digunakan. Penggunaan antigen murni dianjurkan karena mempermudah proses skrining hibridoma, meskipun campuran antigenik kompleks juga dapat digunakan.

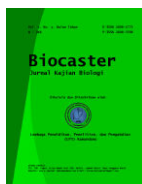
Pengambilan serum pra-imun dilakukan sebelum imunisasi sebagai kontrol dasar dalam skrining antibodi. Sampel darah mencit diperoleh dengan memotong ujung ekor sepanjang $\pm 1-2$ mm untuk mengumpulkan sekitar 100-200 μL darah, yang kemudian diproses menjadi serum dan dapat dikriopreservasi. Protokol imunisasi umumnya melibatkan injeksi intraperitoneal pada 2-4 ekor mencit dewasa (misalnya galur BALB/c) menggunakan 20-100 μg antigen murni dalam volume total 200 μL , berupa emulsi antigen dan adjuvan dengan perbandingan 1:1 dalam larutan salin. Emulsi yang stabil sangat penting untuk menghasilkan respons imun yang optimal. Injeksi penguat diberikan setiap 14-30 hari, sebanyak dua hingga tiga kali, hingga diperoleh titer antibodi yang memadai.

Sebanyak 10-14 hari setelah injeksi terakhir, serum darah kembali dikumpulkan dan kadar antibodi dievaluasi menggunakan berbagai metode imunologi, seperti ELISA, imunofluoresensi, sitometri aliran, dan *imunoblotting*. Titer antibodi serum pasca-imun dibandingkan dengan serum pra-imun dari hewan yang sama. Mencit dengan titer antibodi tertinggi dipilih untuk proses fusi. Satu hingga empat hari sebelum fusi, mencit terpilih diberikan injeksi intravena melalui vena ekor untuk meningkatkan jumlah sel B penghasil antibodi di limpa yang kemudian dipanen untuk fusi.

Pada tahap kultur mieloma, sel mieloma induk harus mampu tumbuh secara stabil dan tidak mensekresi imunoglobulin endogen. Sel mieloma yang digunakan dipilih dari lini yang telah kehilangan kemampuan sintesis nukleotida melalui jalur penyelamatan. Untuk tujuan ini, sel mieloma dikultur dalam medium yang mengandung 8-azaguanin, sehingga kehilangan aktivitas HGPRT. Sel mieloma dikultur setidaknya selama satu minggu sebelum fusi untuk memastikan adaptasi terhadap kondisi HGPRT-negatif. Sel ditanam dengan kepadatan sekitar 5×10^4 sel/mL dan dipelihara setiap dua hari. Sel yang berada pada fase logaritmik awal hingga pertengahan dipilih untuk proses fusi.

Setelah fusi, aminopterin dalam medium HAT menghambat jalur sintesis *de novo*, sehingga sel mieloma parental yang tidak memiliki jalur penyelamatan nukleotida tidak dapat mensintesis DNA maupun RNA dan mengalami kematian. Sebaliknya, sel hibridoma memiliki jalur penyelamatan yang fungsional, sehingga mampu bertahan hidup dan berkembang dalam medium HAT yang mengandung hipoksantin dan timidin sebagai substrat jalur tersebut.

Sel mieloma parental yang digunakan harus sesuai dengan galur mencit yang diimunisasi (misalnya BALB/c), tidak mensekresi rantai imunoglobulin sendiri, bebas dari kontaminasi mikoplasma, serta memiliki kemampuan fusi yang tinggi dan stabilitas sekresi antibodi. Lini sel mieloma SP2/0 dan X63Ag8.653 merupakan contoh sel mieloma yang umum digunakan karena memenuhi kriteria



tersebut. Proses fusi sel dapat diinduksi menggunakan agen fisik maupun kimia. Metode fisik meliputi elektrofusi, sedangkan agen kimia yang umum digunakan antara lain polietilen glikol (PEG) dan ion kalsium. PEG memungkinkan fusi sejumlah besar sel dalam waktu singkat, sedangkan elektrofusi dilakukan dengan memberikan pulsa listrik terkontrol pada media fusi. Parameter penting dalam elektrofusi meliputi resistansi spesifik, tekanan osmotik, kekuatan medan listrik, dan komposisi ionik media fusi. Dalam beberapa protokol, sel juga memerlukan perlakuan proteolitik pendahuluan untuk meningkatkan efisiensi fusi.

Langkah-langkah pembuatan antibodi monoklonal untuk HIV, antara lain: 1) imunisasi, hewan (umumnya tikus) diimunisasi dengan antigen HIV, seperti bagian dari protein virus untuk merangsang sistem kekebalan tubuhnya menghasilkan sel B yang memproduksi antibodi; 2) fusi sel (teknologi hibridoma), sel-sel B yang menghasilkan antibodi spesifik terhadap HIV diambil dari limpa tikus yang telah diimunisasi. Sel B ini kemudian difusikan dengan sel mieloma (sel kanker sumsum tulang yang immortal) untuk membentuk hibridoma; 3) seleksi dan kloning, campuran sel hasil fusi disaring dan diseleksi untuk mengidentifikasi hibridoma yang menghasilkan antibodi yang diinginkan terhadap HIV. Hibridoma yang terpilih kemudian dikloning untuk memastikan kemurnian dan produksi antibodi secara berkelanjutan; 4) karakterisasi, hibridoma yang telah dikloning dikarakterisasi untuk memastikan spesifisitas (kemampuan mengenali antigen HIV) dan afinitas (kekuatan ikatan) antibodi yang diproduksi; dan 5) produksi skala besar, setelah kandidat hibridoma yang sesuai diidentifikasi dan divalidasi, proses ditingkatkan skalanya untuk memproduksi antibodi monoklonal HIV (mAb) dalam jumlah besar untuk penelitian atau penggunaan klinis.

Bukti Klinis

1) Pencegahan

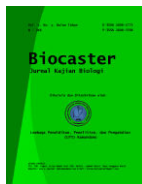
Penelitian yang dilakukan oleh Reeves *et al.* (2023) pada uji AMP (VRC01) menunjukkan bahwa pemberian tunggal bNAb dapat menurunkan risiko infeksi untuk strain-strain virus yang sensitif, tetapi efektivitas menurun terhadap strain yang resisten. Hasil ini menegaskan potensi pencegahan berbasis antibodi namun juga batasan cakupan strain.

2) Terapi pada Orang yang Sudah Terinfeksi

Studi fase awal sampai menengah menunjukkan bNAbs dapat menurunkan *viral load* sementara dan memperpanjang interval waktu sampai *viral rebound* bila ART dihentikan, terutama bila digunakan kombinasi dua atau lebih bNAbs, atau digabungkan dengan strategi lain. Namun, efek supresi bersifat sementara pada banyak studi monoterapi (Mohamed *et al.*, 2021). Untuk kasus HIV *multi-drug resistant*, ibalizumab (antibodi yang menarget CD4) sudah digunakan secara klinis sebagai terapi khusus dan menunjukkan manfaat pada pasien dengan resistensi terhadap banyak kelas ART. Ini adalah contoh antibodi yang sudah mendapat persetujuan/implementasi klinis terbatas (Zhu *et al.*, 2024).

Keunggulan Potensial Dibandingkan Antiretroviral

Berikut keunggulan potensial antibodi monoklonal dibandingkan terapi antiretroviral (ART) menurut Miner *et al.* (2021) adalah sebagai berikut: 1) potensi untuk pemberian interval panjang (*parenteral, half-life extended antibodies*), sehingga dapat mengurangi beban rutin dibanding obat oral harian; 2) memiliki



mekanisme imunologis tambahan (mis, pembentukan kompleks antigen-antibodi, ADCC) yang dapat membantu mengurangi reservoir terinfeksi (meskipun bukti konsisten untuk pengosongan reservoir masih belum ada); dan 3) bisa menjadi pilihan untuk pasien dengan resistensi obat antiretroviral.

Keterbatasan dan Tantangan Utama

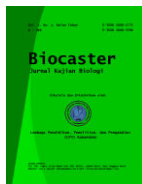
Berikut keterbatasan dan tantangan utama antibodi monoklonal dibandingkan terapi antiretroviral (ART) menurut beberapa sumber adalah sebagai berikut: 1) durasi efek: meskipun ada perpanjangan waktu sampai viral memantul, pada banyak studi efek supresi tidak permanen, sehingga belum bisa menggantikan ART untuk kebanyakan pasien; 2) biaya & akses/logistik: produksi biologik, kebutuhan infus/injeksi, *cold chain*, dan biaya membuatnya sulit diakses luas, terutama di negara berpenghasilan rendah. Produksi antibodi biologik mahal, dan logistik (penyimpanan dingin, infus/injeksi, pengiriman reguler) memerlukan infrastruktur klinik yang kuat. Di banyak negara berpenghasilan menengah/rendah, ini menjadi batasan besar; 3) data jangka panjang: masih terbatas untuk efek samping jangka panjang, imunogenisitas, dan *outcome* klinis jangka panjang. Pemberian mAb berisiko menimbulkan reaksi imun seperti anafilaksis akut, serum *sickness*, dan pembentukan antibodi. Selain itu, terdapat banyak efek samping mAb yang berkaitan dengan target spesifiknya, termasuk infeksi dan kanker, penyakit autoimun, dan efek samping spesifik organ seperti kardi toksisitas; dan 4) efektivitas antibodi sangat tergantung strain virus (berapa sensitif varian-varian tersebut terhadap antibodi). Jika strain kurang sensitif/*escaping*, antibodi bisa gagal melindungi atau gagal mempertahankan supresi (Mahomed *et al.*, 2021).

CRISPR-Cas9

Penemuan sistem CRISPR-Cas sebagai mekanisme pertahanan adaptif bakteri dan arkea telah membuka era baru dalam penyuntingan genom. Sistem ini awalnya berfungsi sebagai sistem imun terhadap virus dan plasmid dengan menyimpan “memori” infeksi dalam bentuk sekuens DNA pendek. Saat patogen yang sama menyerang kembali, RNA pandu dari *locus* CRISPR akan memandu protein *Cas* untuk mengenali dan memotong DNA asing (Ahumada-Ayala *et al.*, 2023). Dari penemuan tersebut, CRISPR-Cas9 dikembangkan sebagai alat penyuntingan gen yang presisi, menggunakan sgRNA untuk memotong DNA target. Teknologi ini memungkinkan koreksi mutasi penyebab penyakit, mematikan gen yang merugikan, atau memodifikasi sel imun secara *ex vivo* sebelum dikembalikan ke pasien untuk meningkatkan respons terhadap sel kanker, infeksi virus, atau menurunkan risiko penolakan transplantasi. CRISPR-Cas9 terus dikembangkan dengan berbagai varian Cas9 untuk mengatasi perubahan genom yang kompleks. Namun, tantangan utama saat ini adalah pengiriman sistem CRISPR secara efektif ke sel target *in vivo*, sehingga fokus penelitian ke depan adalah mengembangkan vektor nonvirus yang aman dan mampu mengenali sel sakit untuk penyuntingan gen yang tertarget (Jeddoub *et al.*, 2023).

CRISPR-Cas9 dan Rekayasa Antibodi Monoklonal

Produksi antibodi menggunakan sistem rekombinan sementara (*transient recombinant expression systems*) umumnya membutuhkan sumber daya manusia yang besar dan menghadapi kendala reproduktibilitas, terutama akibat variasi efisiensi transfeksi serta kebutuhan akan informasi rinci mengenai urutan domain

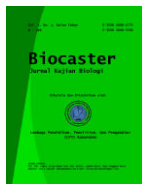


variabel antibodi. Meskipun pendekatan ini telah menjadi praktik rutin di perusahaan bioteknologi dan laboratorium khusus yang dilengkapi dengan fasilitas biofabrikasi, sebagian besar laboratorium akademik belum memiliki infrastruktur yang memadai. Bagi banyak laboratorium, teknologi hibridoma masih merupakan metode yang paling ekonomis dan relatif hemat tenaga kerja untuk memproduksi antibodi monoklonal (mAb). Karena hewan yang diimunisasi sebagai sumber galur sel awal, mengalami beberapa siklus imunisasi dan rekombinasi pergantian kelas (*class-switch recombination*), keragaman isotype yang dihasilkan relatif terbatas dan didominasi oleh sub tipe Immunoglobulin G (IgG). Meskipun perbedaan isotype tidak selalu menjadi faktor penentu, bukti terkini menunjukkan bahwa isotype dapat berperan krusial dalam menentukan efikasi terapeutik (Benhemma-Le Gall *et al.*, 2023).

Perkembangan teknologi CRISPR telah membuka peluang baru dalam rekayasa lini sel *Chinese Hamster Ovary* (CHO) untuk meningkatkan produktivitas protein dan mutu produk. Tinjauan oleh Glinsek *et al.* (2023) merangkum kemajuan terkini dalam penerapan CRISPR untuk rekayasa sel CHO dengan fokus pada modulasi pola glikosilasi, peningkatan produktivitas, mitigasi agen adventif, eliminasi protein sel inang yang bermasalah, pengembangan sistem seleksi bebas antibiotik, integrasi transgen spesifik lokasi, serta aktivasi dan represi gen yang dimediasi CRISPR. Sejalan dengan hal tersebut, Alkan *et al.* (2023) menunjukkan bahwa penggunaan CRISPR-Cas9 berpotensi menurunkan biaya produksi mAb melalui peningkatan produktivitas dan stabilitas lini sel. Selain itu, profil kualitas produk yang lebih konsisten mempermudah pemenuhan persyaratan regulatori dan meningkatkan keamanan pasien.

Studi terbaru oleh Ueda *et al.* (2024) menunjukkan bahwa penyuntingan gen berbasis CRISPR pada sel B dapat mengubah ekspresi imunoglobulin atau memodelkan proses maturasi afinitas secara *in vitro*, sehingga membuka peluang pengembangan konsep *programmed immunity* atau vaksinasi pasif berbasis sel B rekayasa. Pendekatan ini berpotensi menghasilkan strategi terapeutik baru, dimana pasien menerima sel B yang telah direkayasa untuk memproduksi mAb protektif dalam jangka panjang. Selanjutnya, Kalkan *et al.* (2023) melaporkan bahwa pelumpuhan gen TSC2 menggunakan CRISPR-Cas9 yang secara normal menghambat aktivitas mTORC1 pada sel CHO menghasilkan peningkatan produksi protein hingga dua kali lipat dengan kualitas produk yang sebanding dengan kontrol pada kondisi *fed-batch*.

Zang *et al.* (2025) menegaskan bahwa CRISPR-Cas9 telah menjadi alat penting dalam rekayasa jalur metabolik dan proses pelipatan protein kompleks. Meskipun sebagian besar mAb yang digunakan secara klinis masih diproduksi menggunakan sel CHO, sistem mikroba yang direkayasa dengan teknologi CRISPR menunjukkan potensi sebagai platform produksi antibodi berbiaya rendah. Kemajuan dalam biologi sintesis, termasuk optimasi jalur metabolik berbasis CRISPR dan pemodelan metabolik yang dipandu kecerdasan buatan telah meningkatkan presisi glikosilasi dan produksi antibodi bertiter tinggi pada sistem mikroba, suatu kemampuan yang sebelumnya terutama dimiliki oleh sel mamalia. Dengan menurunkan biaya pengembangan dan memungkinkan respons yang lebih cepat terhadap penyakit yang baru muncul, sistem mikroba berpotensi menjadi



mesin biomanufaktur generasi mendatang yang mampu menyediakan solusi antibodi monoklonal yang lebih mudah diakses dan adaptif.

Rekayasa Sel B & Antibodi Monoklonal dengan CRISPR-Cas9

Collins (2022) mengatakan bahwa Nahmad *et al.* (2020) mengembangkan terapi gen berbasis *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats* (CRISPR) yang dapat disuntikkan untuk memodifikasi sel B secara langsung di dalam tubuh, sehingga sel B tersebut mampu menghasilkan antibodi yang melawan infeksi sindrom defisiensi imun didapat (AIDS). Di masa mendatang, suntikan semacam itu dapat membuat terapi sel imun lebih murah, sehingga lebih mudah diakses oleh semua orang, dan dapat membuka jalan bagi vaksin melawan AIDS atau pengobatan yang ampuh bagi orang yang sudah menderita penyakit tersebut.

Studi awal oleh Hartweger *et al.* (2019) menunjukkan bahwa sel B primer yang matang dari tikus dan manusia dapat diedit secara *in vitro* menggunakan CRISPR-Cas9. Dengan teknik ini, sel B dapat dimodifikasi untuk mengekspresikan bNAb (*broadly Neutralizing Antibodies*), yaitu antibodi yang mampu menetralkan berbagai jenis HIV, dari lokus *Igh* endogen. Sel B yang telah diedit tetap mempertahankan kemampuannya untuk berpartisipasi dalam respons imun humoral, yaitu produksi antibodi sebagai bagian dari pertahanan tubuh. Ketika tikus tipe liar menerima sel B yang diedit dan kemudian diimunisasi dengan antigen yang sesuai, mereka menghasilkan kadar bNAb yang cukup untuk menetralkan HIV-1. Tingkat ini dikaitkan dengan perlindungan terhadap infeksi.

Dalam lima tahun terakhir, penelitian lanjutan mendukung temuan ini. Nahmad *et al.* (2020) menunjukkan bahwa sel B yang direkayasa untuk mengekspresikan bNAb dapat diaktifkan oleh antigen. Aktivasi ini diikuti oleh pembentukan memori imunologis, *Class Switch Recombination* (CSR) proses dimana sel B mengubah tipe antibodi yang diproduksi dan *Somatic Hypermutation* (SHM), yaitu mutasi yang meningkatkan afinitas antibodi terhadap antigen. Sel B juga menunjukkan ekspansi klonal, yaitu proliferasi sel dengan spesifisitas yang sama untuk memperkuat respons imun.

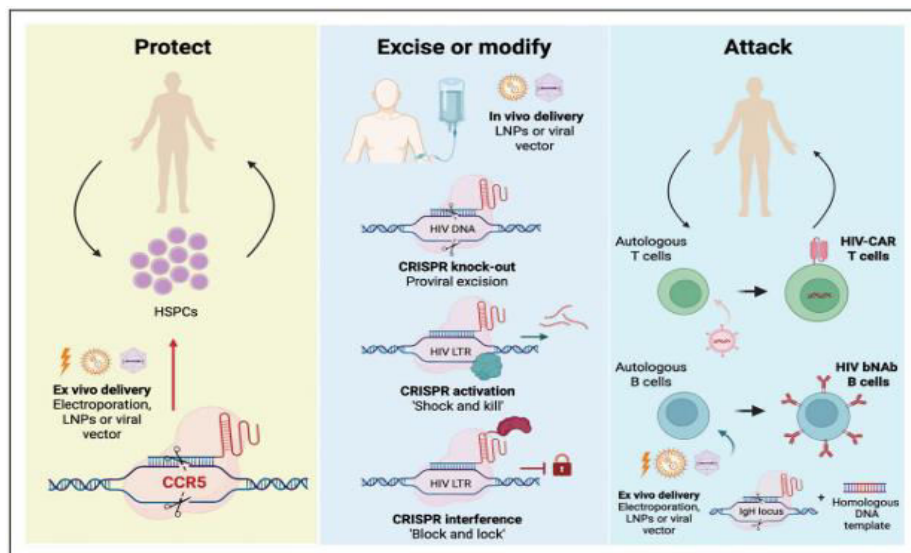
Pada manusia, SHM membantu antibodi matang agar lebih efektif menghadapi keragaman dan mutasi tinggi pada HIV. Sel B pasien atau donor bahkan dapat direkayasa untuk mengekspresikan dua atau lebih bNAb yang menargetkan epitop virus yang berbeda, yaitu bagian spesifik dari virus yang dikenali antibodi. Strategi ini mengurangi kemungkinan virus lolos dari pengenalan sistem imun. Keamanan dan efisiensi pendekatan ini dapat ditingkatkan dengan mengekspresikan bNAb sebagai rantai tunggal dan menggunakan konstruksi genetik tanpa promotor tambahan. Hal ini mencegah ekspresi gen dari integrasi yang tidak sesuai target. Pendekatan ini memiliki potensi terapeutik yang besar dan dapat diuji lebih lanjut pada primata nonmanusia yang terinfeksi virus mirip HIV. Di masa depan, teknologi rekayasa sel B dapat diperluas untuk melawan berbagai infeksi persisten serta untuk pengobatan kelainan bawaan, penyakit autoimun, dan kanker.

Untuk rekayasa sel B, kami menggunakan sepasang vektor AAV DJ27 satu vektor untuk mengekspresikan saCas9 dan satu vektor lainnya untuk mengekspresikan anti-HIV bNAb 3BNC117 (Gambar 1). Pada rangkaian percobaan pertama, saCas9 diekspresikan dari promotor CMV yang aktif secara

universal, sedangkan sgRNA yang menargetkan saCas9 ke lokus IgH dikodekan pada vektor AAV yang sama.

Kaset bNAb dikodekan sebagai kaset bi-sistronik yang dikendalikan oleh promotor yang bergantung pada *enhancer* IgH dan dibingkai oleh lengan homologi menuju situs pemotongan saCas9 di intron JC dari lokus IgH. Kaset ini mencakup rantai ringan penuh dan segmen variabel rantai berat (VH), dipisahkan oleh urutan yang mengkode situs pemotongan furin dan peptida 2A. Urutan donor sambatan mengikuti segmen gen VH untuk memungkinkan fusi dengan ekson konstan IgH setelah integrasi, transkripsi, dan penyambungan.

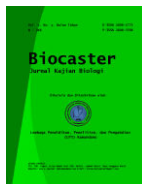
Desain ini memungkinkan gangguan lokus IgH endogen sekaligus ekspresi awal bNAb sebagai BCR membran. Dengan demikian, sel B yang direkayasa dapat diaktifkan setelah pengikatan antigen, memicu diferensiasi menjadi sel memori dan sel plasma. *Review* terbaru menyatakan bahwa CRISPR-Cas9 dapat menargetkan provirus HIV yang terintegrasi dalam genom sel, sedangkan bNAb digunakan untuk menetralkan partikel virus yang bersirkulasi dan mencegah infeksi ulang (Moso *et al.*, 2025).



Gambar 5. Pendekatan Terapi Gen Terkini untuk Mencapai Pengendalian HIV Pascaintervensi. bNAb, Antibodi Penetralsir Luas; CAR, Reseptor Antigen Kimerik; Sel Punca/Progenitor Hematopoietik (HSPC); LNP, Nanopartikel Lipid; dan LTR, Pengulangan Terminal Panjang.

Terapi *In Vivo* Berbasis CRISPR untuk Menghasilkan Antibodi Anti-HIV

Sophia *et al.* (2023) menjelaskan bahwa CRISPR-Cas adalah sistem imun adaptif bakteri yang menggunakan mekanisme berbasis RNA untuk mengarahkan endonuklease Cas agar mengenali dan memotong urutan DNA atau RNA target. Sistem ini pertama kali digunakan untuk mengedit genom pada sel mamalia, dan karena aktivitas serta spesifitasnya yang tinggi, CRISPR-Cas kini menjadi alat pengeditan gen yang paling banyak digunakan. Setelah Cas9, hadir pula Cas12a dan Cas13 yang memperluas kemampuan teknologi CRISPR untuk mengedit, baik DNA maupun RNA. Mengingat bahwa genom virus terdiri dari DNA atau RNA, CRISPR-Cas menjadi target yang menarik untuk terapi dan diagnostik berbasis gen.



Selain mengedit genom, kemampuan CRISPR-Cas9 untuk mengikat DNA memungkinkan pemanfaatannya dalam regulasi gen. Dengan menggabungkan Cas9 katalitik mati (dCas9) dengan represor transkripsi atau domain aktivasi, teknologi ini dapat digunakan untuk menghambat atau mengaktifkan ekspresi gen (CRISPRi/CRISPRa). Efisiensi tinggi dalam penyuntingan gen, ditambah fleksibilitas dalam regulasi gen, menjadikan CRISPR-Cas alat yang sangat kuat dan serbaguna untuk menyelidiki interaksi *virus-host*, melampaui metode tradisional seperti siRNA, shRNA, atau inhibitor majemuk.

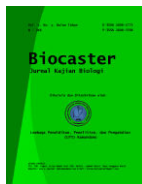
Collins (2022) menambahkan bahwa CRISPR bekerja sebagai sistem “potong dan tempel” biomolekuler yang memungkinkan penyisipan instruksi genetik secara tepat di lokasi yang diinginkan dalam genom. Proses ini melibatkan kompleks protein-RNA yang terdiri dari Cas9 dan RNA pemandu (gRNA). gRNA mengenali urutan target, Cas9 memotongnya, dan instruksi DNA baru dapat dijahit oleh sel di lokasi tersebut selama perbaikan DNA. Dengan cara ini, CRISPR mempermudah modifikasi genetik secara presisi.

Collins (2022) menunjukkan bahwa virus yang merekayasa sel B melalui CRISPR dapat bekerja langsung dalam tubuh, tanpa memerlukan prosedur *ex vivo* yang kompleks. Hal ini menurunkan biaya imunoterapi dan membuat terapi sel B lebih mudah diterapkan. Bukti konsep dari Nahmad *et al.* (2020) menunjukkan kemajuan besar dalam membuat imunoterapi lebih dapat diakses, sekaligus memperlihatkan bagaimana biologi sintesis mendorong batas kedokteran, membuka kemungkinan vaksin dan obat untuk penyakit berat seperti kanker dan AIDS. Dengan demikian, aplikasi ini menggabungkan konsep vaksin, terapi gen, dan antibodi monoklonal dalam satu intervensi terpadu.

Strategi Kombinasi: CRISPR/Cas9 Antibodi Monoklonal dalam Terapi HIV

Moso *et al.* (2025) menjelaskan bahwa teknologi CRISPR-Cas9 dapat menargetkan provirus HIV yang sudah terintegrasi di dalam genom sel. Sementara itu, antibodi penetralisir luas (bNAbs) berperan menetralkan partikel virus yang masih bersirkulasi dan mencegah terjadinya infeksi ulang. Kemajuan penelitian pada model hewan menunjukkan bahwa bNAbs spesifik HIV mampu menghasilkan remisi virologi jangka panjang, bahkan membuka kemungkinan tercapainya penyembuhan pada beberapa kasus. Temuan ini mendorong investasi besar dalam uji klinis untuk mengevaluasi potensi bNAbs sebagai terapi kuratif bagi infeksi HIV. Meskipun data awal tampak menjanjikan, penelitian Nel & Frater (2024) menunjukkan bahwa kombinasi bNAbs dengan agen imunomodulator lain dibutuhkan untuk mencapai dan mempertahankan kontrol virus jangka panjang.

Selanjutnya, Feist *et al.* (2025) menyoroti bahwa penggunaan sel CD34+ merupakan strategi yang prospektif untuk menyediakan terapi HIV-1 jangka panjang melalui rekonstruksi sistem hematopoietik dengan sel yang resisten terhadap infeksi. Namun, efisiensi pengeditan gen yang tinggi sangat diperlukan agar sel yang tidak diedit tidak menjadi sumber munculnya mutan *escape* dan agar kadar antibodi terapeutik dapat tercapai. Untuk itu, mereka menggunakan pendekatan CRISPR-Cas9 melalui elektroporasi ribonukleoprotein (RNP) yang kemudian dilanjutkan dengan pengiriman templat donor DNA menggunakan virus terkait adeno serotipe 6 (AAV6) untuk memungkinkan *knock-in* melalui mekanisme perbaikan terarah homologi (HDR).



Menurut Nahmad *et al.* (2020), rekayasa sel B untuk mengekspresikan antibodi penetralisasi luas (bNAb) anti-HIV dilakukan melalui skema penargetan berikut. Kaset genetik yang dibawa oleh rAAV diarahkan ke intron JC pada lokus IgH menggunakan CRISPR/Cas9. Kaset bikistronik tersebut mengodekan rantai ringan dan rantai berat bNAb anti-HIV 3BNC117 yang diekspresikan di bawah kendali promotor *Dependent Enhancer* (ED). Penyambungan kaset dengan segmen konstan endogen memungkinkan terbentuknya BCR, serta diferensiasi sel menjadi sel B memori dan sel plasma penghasil Ig setelah aktivasi oleh antigen berikutnya dan terjadinya poliadenilasi alternatif.

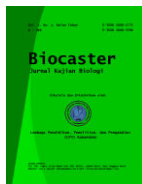
Penargetan intron JC yang berada di hulu *enhancer* intronik ($iE\mu$) dan wilayah *switch* juga memfasilitasi *Class-Switch Recombination* (CSR) dan *Somatic Hypermutation* (SHM). Untuk proses rekayasa, sel B manusia diperoleh dari sampel darah, diaktifkan menggunakan antibodi anti-RP105 (homolog TLR4), kemudian dielektroporasi dengan kompleks CRISPR/Cas9 RNP dan ditransduksi menggunakan rAAV-6. Sementara itu, sel B limpa tikus diaktifkan dengan LPS (agonis TLR4), lalu dielektroporasi dengan CRISPR/Cas9 RNP, dan ditransduksi menggunakan rAAV-DJ.

Panel c menunjukkan plot sitometri alir yang mengukur pengikatan antigen HIV gp120 oleh BCR 3BNC117 setelah aktivasi dan rekayasa sel B primer. Sel yang ditransduksi dengan donor rAAV tanpa gRNA digunakan sebagai kontrol negatif dengan *gating* pada sel singlet hidup. Panel d dan e menampilkan kuantifikasi untuk sel primer tikus ($n = 5$ untuk -gRNA dan $n = 8$ untuk +gRNA; setiap titik mewakili sampel biologis independen; data ditampilkan sebagai *mean* $\pm$ SD) dan sel primer manusia ($n = 3$; setiap titik mewakili sampel biologis independen; data ditampilkan sebagai *mean* $\pm$ SD). Nilai signifikansi: **** $p < 0,0001$; ** $p = 0,0040$ (uji t dua sisi). Panel f menunjukkan plot sitometri alir yang menggambarkan fosforilasi ERK pada sel B primer tikus maupun manusia yang direkayasa untuk mengekspresikan 3BNC117 dan diaktifkan *in vitro* dengan antigen gp120 dari strain HIV YU2.DG dengan analisis pada sel singlet.

SIMPULAN

Berbagai penelitian pra-klinik menunjukkan potensi efektivitas pendekatan rekayasa sel B berbasis CRISPR dalam terapi HIV. Studi terdahulu melaporkan bahwa rekayasa sel B untuk mengekspresikan *broadly Neutralizing Antibodies* (bNAbs) mampu menghasilkan titer antibodi tinggi dan bertahan lama, sekaligus menekan viremia pada model hewan. Konsep terapi injeksi CRISPR-emAb dan “*programmed immunity*” diperkirakan dapat memberikan perlindungan jangka panjang bahkan hanya dengan satu atau beberapa dosis. Jika teknik ini berhasil diterapkan pada manusia, diharapkan pendekatan tersebut dapat mengurangi ketergantungan pasien pada ART harian serta berpotensi menghadirkan kombinasi “*functional cure*”, yaitu kontrol virus jangka panjang tanpa ART melalui sinergi antara antibodi netralisasi luas dan teknologi CRISPR.

Resiko biologis yang diidentifikasi dari penelitian pra-klinik mencakup beberapa aspek penting. Pertama, respons imun terhadap Cas9 atau vektor AAV masih menjadi perhatian, karena imunogenisitas kedua komponen ini dapat membatasi efektivitas serta keamanan pemberian terapi berulang. Kedua, tantangan



dalam penghantaran spesifik CRISPR-Cas9 ke sel target tetap signifikan. Meskipun teknologi Cas dengan fidelitas tinggi dan sistem penghantaran yang lebih baik telah dikembangkan, risiko terjadinya mutasi *off-target* yang dapat menyebabkan ketidakstabilan genom dan potensi onkogenik masih belum sepenuhnya teratasi. Ketiga, dalam konteks terapi antibodi penetralisasi luas (bNAbs), terdapat kekhawatiran mengenai efektivitas pada jaringan dibandingkan pada aliran darah, serta potensi munculnya mutasi virus yang lolos dari tekanan seleksi. Hal ini dapat memicu resistensi dan meningkatkan risiko *rebound* virus ketika terapi bNAbs tidak bersifat supresif penuh.

SARAN

Penelitian selanjutnya disarankan untuk mengoptimalkan komponen CRISPR/Cas, khususnya dengan mengeksplorasi varian yang memiliki imunogenisitas lebih rendah dan fidelitas penyuntingan lebih tinggi guna meminimalkan risiko *off-target*. Pengembangan sistem penghantaran yang lebih efisien dan spesifik menuju sel B perlu terus dievaluasi, termasuk penelaahan platform *non-viral* maupun vektor viral yang telah dimodifikasi. Upaya peningkatan pemantauan keamanan genomik juga penting dilakukan melalui pengembangan metode deteksi mutasi *off-target* yang lebih sensitif dan komprehensif, serta penyusunan strategi mitigasi untuk mencegah ketidakstabilan genom.

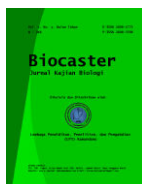
Penelitian lanjutan hendaknya turut menilai distribusi serta efektivitas *broadly Neutralizing Antibodies* (bNAbs) pada tingkat jaringan, terutama pada reservoir HIV untuk memperoleh gambaran yang lebih jelas mengenai potensi keberlanjutan terapi. Perlu juga dilakukan evaluasi risiko resistensi virus dengan mengkaji kombinasi bNAbs yang lebih tahan terhadap mutasi serta memahami dinamika evolusi HIV di bawah tekanan seleksi antibodi. Validasi dalam model hewan yang lebih relevan secara klinis juga diperlukan untuk menilai keamanan, respons imun, dan durabilitas ekspresi antibodi secara lebih akurat. Pengembangan terapi ini sebaiknya melibatkan pendekatan multidisipliner untuk memastikan inovasi yang komprehensif, aman, dan sesuai regulasi. Aspek etika, *biosafety*, serta kerangka regulasi juga perlu dipertimbangkan sejak tahap *pra-klinis* guna memastikan bahwa proses pengembangan terapi gen dilakukan secara bertanggung jawab.

UCAPAN TERIMA KASIH

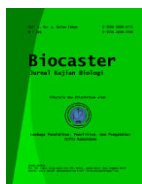
Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan, bimbingan, dan kontribusi sehingga penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik.

DAFTAR RUJUKAN

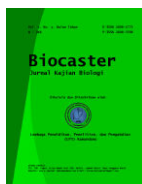
Ahumada-Ayala, M., Aguilar-López, R., González-Stoylov, N., Palacio-Sosa, E., Cervantes-Barragán, D. E., & Fernández-Hernández, L. (2023). Editing the Human Genome with CRISPR/Cas: A Review of its Molecular Basis, Current Clinical Applications, and Bioethical Implications. *Revista de Investigacion Clinica; Organo del Hospital de Enfermedades de la*



- Nutrition*, 75(1), 13-28. <https://doi.org/10.24875/RIC.22000252>
- Alkan, I. B., Gunes, N. B., Ozsavran, M., & Ayyildiz, T. K. (2023). Impact of Personal Hygiene Education Based on Social Learning Theory on Preschool Children. *Early Childhood Education Journal*, 53(2), 539-550. <https://doi.org/10.1007/s10643-023-01603-7>
- Bekker, L. G., Beyrer, C., Mgodi, N., Lewin, S. R., Delany-Moretlwe, S., Taiwo, B., Masters, M. C., & Lazarus, J. V. (2023). HIV Infection. *Nature Reviews : Disease Primers*, 9(1), 1-20. <https://doi.org/10.1038/s41572-023-00452-3>
- Benhemma-Le Gall, A., Thompson, P., Merchant, N., & Graham, I. (2023). Vessel Noise Prior to Pile Driving at Offshore Windfarm Sites Deters Harbour Porpoises from Potential Injury Zones. *Environmental Impact Assessment Review*, 103(1), 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.eiar.2023.107271>
- Collins, L. T. (2022). An Injectable CRISPR Therapy Instructs B Cells to Produce Anti-HIV Antibodies. *Synthetic Biology*, 7(1), 1-2. <https://doi.org/10.1093/synbio/ysac027>
- Feist, W. N., Luna, S. E., Ben-Efraim, K., Interrante, M. V. F., Amorin, A., Johnston, N. M., Bruun, T. U. J., Utz, A., Ghanim, H. Y., Lesch, B. J., McLaughlin, T. M., Dudek, A. M., & Porteus, M. H. (2025). Multilayered HIV-1 Resistance in HSPCs through CCR5 Knockout and B Cell Secretion of HIV-Inhibiting Antibodies. *Nature Communications*, 16(1), 1-18. <https://doi.org/10.1038/s41467-025-58371-8>
- Glinsek, S., Song, L., Gerard, M., Bouton, O., Girod, S., El Hachemi, M., Mandal, B., Defay, E., Granzow, T., & Polesel, J. (2023). Autonomous Low-Energy Communication Module Based on Inkjet-Printed Transparent Antenna. *Cell Reports Physical Science*, 4(12), 1-23. <https://doi.org/10.1016/j.xcrp.2023.101685>
- Gulick, R. M., & Flexner, C. (2019). Long-Acting HIV Drugs for Treatment and Prevention. *Annual Review of Medicine*, 70(1), 137-150. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-041217-013717>
- Hartweger, H., McGuire, A. T., Horning, M., Taylor, J., Dosenovic, P., Yost, D., Gazumyan, A., Seaman, M. S., Stamatatos, L., Jankovic, M., & Nussenzweig, M. (2019). HIV-Specific Humoral Immune Responses by CRISPR/Cas9-Edited B Cells. *Journal of Experimental Medicine*, 216(6), 1301-1310. <https://doi.org/10.1084/jem.20190287>
- Jeddoub, I., Nys, G.-A., Hajji, R., & Billen, R. (2023). Digital Twins for Cities: Analyzing the Gap between Concepts and Current Implementations with a Specific Focus on Data Integration. *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*, 122(1), 1-23. <https://doi.org/10.1016/j.jag.2023.103440>
- Kalkan, H., Panza, E., Pagano, E., Ercolano, G., Moriello, C., Piscitelli, F., Sztretye, M., Capasso, R., Di Marzo, V., & Iannotti, F. A. (2023). Dysfunctional Endocannabinoid CB1 Receptor Expression and Signaling Contribute to Skeletal Muscle Cell Toxicity Induced by Simvastatin. *Cell Death & Disease*, 14(1), 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41419-023-06080-9>
- Kinman, A. W. L., & Pompano, R. R. (2019). Optimization of Enzymatic Antibody Fragmentation for Yield, Efficiency, and Binding Affinity. *Bioconjugate*



- Chemistry*, 30(3), 800-807.
<https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.8b00912>
- Liu, Y., Cao, W., Sun, M., & Li, T. (2020). Broadly Neutralizing Antibodies for HIV-1: Efficacies, Challenges and Opportunities. *Emerging Microbes & Infections*, 9(1), 194-206. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1713707>
- Mahomed, S., Garrett, N., Baxter, C., Karim, Q. A., & Karim, S. S. A. (2021). Clinical Trials of Broadly Neutralizing Monoclonal Antibodies for Human Immunodeficiency Virus Prevention: A Review. *The Journal of Infectious Diseases*, 223(3), 370-380. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa377>
- Miner, M. D., Corey, L., & Montefiori, D. (2021). Broadly Neutralizing Monoclonal Antibodies for HIV Prevention. *Journal of the International AIDS Society*, 24(1), 59-65. <https://doi.org/10.1002/jia2.25829>
- Moso, M. A., Roche, M., Ceva, P. M., & Lewin, S. R. (2025). CRISPR/Cas9 for Achieving Postintervention HIV Control. *Current Opinion in HIV and AIDS*, 20(5), 432-440. <https://doi.org/10.1097/COH.0000000000000963>
- Nahmad, A. D., Raviv, Y., Horovitz-Fried, M., Sofer, I., Akriv, T., Nataf, D., Dotan, I., Carmi, Y., Burstein, D., Wine, Y., Benhar, I., & Barzel, A. (2020). Engineered B Cells Expressing an Anti-HIV Antibody Enable Memory Retention, Isotype Switching and Clonal Expansion. *Nature Communications*, 11(1), 1-10. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19649-1>
- Nel, C., & Frater, J. (2024). Enhancing Broadly Neutralising Antibody Suppression of HIV by Immune Modulation and Vaccination. *Frontiers in Immunology*, 15(1), 1-18. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1478703>
- Paneerselvam, N., Khan, A., & Lawson, B. R. (2023). Broadly Neutralizing Antibodies Targeting HIV: Progress and Challenges. *Clinical Immunology*, 257(1), 1-44. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2023.109809>
- Reeves, D. B., Mayer, B. T., Decamp, A. C., Huang, Y., Zhang, B., Carpp, L. N., Magaret, C. A., Juraska, M., Gilbert, P. B., Montefiori, D. C., Bar, K. J., Cardozo-Ojeda, E. F., Schiffer, J. T., Rossen Khan, R., Edlefsen, P., Morris, L., Mkhize, N. N., Williamson, C., Mullins, J. I., Seaton, K. E., Tomaras, G. D., Andrew, P., Mgodini, N., Ledgerwood, J. E., Cohen, M. S., Corey, L., Naidoo, L., Orrell, C., Goepfert, P. A., Casapia, M., Sobieszczyk, M. E., Karuna, S. T., & Edupuganti, S. (2023). High Monoclonal Neutralization Titers Reduced Breakthrough HIV-1 Viral Loads in the Antibody Mediated Prevention Trials. *Nature Communications*, 15(1), 1-15. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-46805-8>
- Regueiro-Ren, A., Sit, S. Y., Chen, Y., Chen, J., Swidorski, J. J., Liu, Z., Venables, B. L., Sin, N., Hartz, R. A., Protack, T., Lin, Z., Zhang, S., Li, Z., Wu, D. R., Li, P., Kempson, J., Hou, X., Gupta, A., Rampulla, R., Mathur, A., Park, H., Sarjeant, A., Benitex, Y., Rahematpura, S., Parker, D., Phillips, T., Haskell, R., Jenkins, S., Santone, K. S., Cockett, M., Hanumegowda, U., Dicker, I., Meanwell, N. A., & Krystal, M. (2022). The Discovery of GSK3640254, a Next-Generation Inhibitor of HIV-1 Maturation. *Journal of Medicinal Chemistry*, 65(18), 11927-11948. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.2c00879>
- Sophia, S., Antony, M., Ashan, M. A., Fadhullah, H., & Jannah, R. M. (2023).



- Metode CRISPR/Cas dan Minimalisasi *Off-Target*: Review. *Agriculture and Biological Technology*, 1(1), 17-30. <https://doi.org/10.61761/agiotech.1.1.17-30>
- Thavarajah, J. J., Hønge, B. L., & Wejse, C. M. (2024). The Use of Broadly Neutralizing Antibodies (bNAbs) in HIV-1 Treatment and Prevention. *Viruses*, 16(6), 1-22. <https://doi.org/10.3390/v16060911>
- Ueda, N., Cahen, M., Leonard, J., Deleurme, L., Dreano, S., Sirac, C., AnneGaly, Moreaux, J., Danger, Y., & Cogné, M. (2024). Single-Hit Genome Editing Optimized for Maturation in B Cells Redirects Their Specificity Toward Tumor Antigens. *Scientific Reports*, 14(1), 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-74005-3>
- UNAIDS. (2025). Retrieved October 7, 2025, from UNAIDS. Interactwebsite: https://www.unaids.org/en/resources/presscentre/featurestories/2025/february/20250224_indonesia_fs
- Zhang, D., Liu, H., & Zhong, Y. (2025). Monoclonal Antibodies Production in Microbial Systems: Current Status, Challenges and Perspectives. *New Biotechnology*, 90(1), 163-173. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2025.10.005>
- Zhu, L., Huang, B., Wang, X., Ni, F., Ao, M., Wang, R., Zheng, B., Chen, C., Xue, J., Zhu, L., Yang, C., Shi, L., Geng, S., Hu, J., Yang, M., Zhang, D., Yang, P., Li, M., Li, Y., Hu, Q., Ye, S., Zheng, P., Wei, H., Wu, Z., Zhang, L., Wang, Y., Liu, Y., & Wu, X. (2024). Highly Potent and Broadly Neutralizing Anti-CD4 Trimeric Nanobodies Inhibit HIV-1 Infection by Inducing CD4 Conformational Alteration. *Nature Communications*, 15(1), 1-18. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-51414-6>