



CRISPR/Cas9 untuk Canonical Mutations pada Kanker Pankreas: Harapan Baru Terapi Presisi

Nurul Magfirah, & Yusminah Hala*

Program Studi Pendidikan Biologi, Universitas Negeri Makassar, Jl. Daeng Tata Makassar, Indonesia 90224.

Email Korespondensi: yusmina@unm.ac.id

Abstrak

Kanker pankreas, khususnya Pancreatic Ductal Adenocarcinoma (PDAC), merupakan salah satu jenis kanker dengan tingkat mortalitas tertinggi di dunia. Kompleksitas biologis dan diagnosis yang terlambat menyebabkan rendahnya angka harapan hidup pasien, bahkan setelah menjalani terapi konvensional. Secara genetik, PDAC ditandai oleh empat canonical mutations utama, yaitu pada gen KRAS, TP53, SMAD4, dan CDKN2A, yang secara kolektif membentuk molecular signature khas kanker pankreas. Mutasi pada gen-gen tersebut berperan penting dalam mengubah mekanisme regulasi seluler seperti proliferasi, apoptosis, dan diferensiasi, sehingga menjadi target potensial untuk terapi berbasis pengeditan gen. Teknologi CRISPR/Cas9, yang berasal dari sistem kekebalan bakteri, menawarkan kemampuan pengeditan gen dengan presisi tinggi melalui panduan RNA spesifik (sgRNA). Sistem ini memungkinkan inaktivasi (knockout), perbaikan mutasi (gene correction), maupun regulasi ekspresi gen. Berbagai penelitian praklinis menunjukkan bahwa penggunaan CRISPR/Cas9 dapat menekan aktivitas mutasi KRAS, memulihkan fungsi TP53, mengaktifkan kembali SMAD4, dan mengendalikan siklus sel melalui CDKN2A, yang secara keseluruhan menekan pertumbuhan serta metastasis sel kanker pankreas. Meski demikian, penerapan teknologi ini masih menghadapi tantangan, seperti efisiensi pengantaran ke jaringan pankreas, risiko efek off-target, dan heterogenitas tumor. Namun, dengan kemajuan dalam sistem penghantaran non-virus, varian Cas9 presisi tinggi, serta teknologi prime editing dan base editing, CRISPR/Cas9 menawarkan prospek besar sebagai dasar terapi presisi generasi baru bagi kanker pankreas. Artikel ini menyajikan sintesis komprehensif terhadap CRISPR/Cas9 pada empat canonical mutations PDAC yang belum banyak dirangkum secara sistematis dalam literatur terdahulu.

Kata kunci: CRISPR/Cas9; Kanker Pankreas; Terapi Gen Presisi.

CRISPR/Cas9 for Canonical Mutations in Pancreatic Cancer: New Hope for Precision Therapy

Abstract

Pancreatic cancer, particularly pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC), is one of the cancers with the highest mortality rates worldwide. Biological complexity and late diagnosis contribute to low survival rates, even after conventional therapy. Genetically, PDAC is characterized by four major canonical mutations: in the KRAS, TP53, SMAD4, and CDKN2A genes, which collectively form the molecular signature of pancreatic cancer. Mutations in these genes play a key role in altering cellular regulatory mechanisms such as proliferation, apoptosis, and differentiation, making them potential targets for gene-editing therapies. CRISPR/Cas9 technology, derived from the bacterial immune system, offers high-precision gene editing capabilities through specific guide RNA (sgRNA). This system enables inactivation (knockout), mutation repair (gene correction), and regulation of gene expression. Various preclinical studies have shown that CRISPR/Cas9 can suppress KRAS mutation activity, restore TP53 function, reactivate SMAD4, and control the cell cycle through CDKN2A, all of which ultimately suppress the growth and metastasis of pancreatic cancer cells. However, the application of this technology still faces challenges, such as delivery efficiency to pancreatic tissue, the risk of off-target effects, and tumor heterogeneity. However, with advances in non-viral delivery systems, high-precision Cas9 variants, and prime and base editing technologies, CRISPR/Cas9 offers great prospects as the basis for a new generation of precision therapies for pancreatic cancer.

Keywords: CRISPR/Cas9; Pancreatic Cancer; Precision Gene Therapy.

How to Cite: Magfirah, N., & Hala, Y. (2025). CRISPR/Cas9 untuk Canonical Mutations pada Kanker Pankreas: Harapan Baru Terapi Presisi. *Empiricism Journal*, 6(4), 1855–1870. <https://doi.org/10.36312/ej.v6i4.3594>



<https://doi.org/10.36312/ej.v6i4.3594>

Copyright© 2025, Magfirah & Hala

This is an open-access article under the CC-BY-SA License.



PENDAHULUAN

Kanker merupakan salah satu masalah kesehatan global paling serius dan kompleks. Menurut laporan World Health Organization (WHO, 2022), kanker bertanggung jawab atas

hampir 10 juta kematian di seluruh dunia setiap tahunnya, menjadikannya penyebab kematian kedua terbanyak setelah penyakit kardiovaskular. Kanker ditandai oleh pertumbuhan sel abnormal yang tidak terkendali, kemampuan menginvasi jaringan sekitar, dan potensi bermetastasis ke organ lain (Hanahan, 2022). Pada tingkat molekuler, perkembangan kanker sangat dipengaruhi oleh akumulasi mutasi genetik, baik berupa aktivasi onkogen maupun inaktivasi gen penekan tumor, yang mengubah jalur regulasi pertumbuhan sel.

Perkembangan penelitian dalam bidang genomik kanker telah membuka jalan bagi lahirnya konsep terapi presisi (precision therapy atau precision medicine). Berbeda dengan terapi konvensional yang cenderung seragam bagi semua pasien, terapi presisi mempertimbangkan profil genetik, molekuler, dan lingkungan tiap individu. Pendekatan ini memungkinkan pemilihan terapi yang lebih tepat sasaran, lebih efektif, dan berpotensi mengurangi efek samping (Garraway & Lander, 2013; National Cancer Institute, 2021). Dalam beberapa dekade terakhir, terapi presisi telah memberikan kemajuan signifikan, khususnya pada kanker payudara (HER2-targeted therapy), melanoma (inhibitor BRAF), serta kanker paru (EGFR dan ALK inhibitors). Namun, penerapannya pada kanker pankreas masih menghadapi banyak tantangan.

Kanker pankreas, terutama tipe pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC), merupakan salah satu kanker dengan tingkat keganasan tertinggi. Data epidemiologi menunjukkan bahwa PDAC menempati urutan ke-7 penyebab kematian akibat kanker di seluruh dunia, dengan angka harapan hidup 5 tahun yang hanya berkisar 10% meskipun pasien telah menjalani pembedahan dan kemoterapi (Siegel et al., 2022). Karakteristik biologis PDAC antara lain pertumbuhan yang sangat agresif, diagnosis yang umumnya terlambat, dan resistensi yang kuat terhadap hampir semua bentuk terapi konvensional.

Secara molekuler, kanker pankreas tipe pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) ditandai oleh adanya mutasi genetik utama yang disebut foundational atau canonical mutations. Mutasi yang paling sering terjadi adalah pada KRAS, ditemukan pada lebih dari 90% kasus. Mutasi ini biasanya terjadi di kodon 12 (misalnya G12D, G12V, G12R) dan membuat protein KRAS selalu aktif sehingga jalur pertumbuhan sel seperti MAPK dan PI3K terus menyala tanpa henti (Moore et al., 2020). Selain itu, gen TP53, yang dikenal sebagai “penjaga genom”, juga sering mengalami mutasi. Hilangnya fungsi TP53 menyebabkan sel gagal menghentikan pembelahan yang tidak normal dan gagal menjalani apoptosis, dengan frekuensi ditemukan sekitar 50–75% kasus PDAC (Kastenhuber & Lowe, 2017). Mutasi lain yang penting adalah pada SMAD4 (DPC4), gen yang berperan dalam jalur pensinyalan TGF- β . Kehilangan fungsi SMAD4, yang terjadi pada sekitar 50% kasus, dikaitkan dengan peningkatan kecenderungan metastasis dan prognosis yang lebih buruk (Biankin et al., 2012). Terakhir, gen CDKN2A (p16INK4A) juga sering mengalami mutasi atau inaktivasi, bahkan lebih dari 90% kasus PDAC, yang berakibat pada hilangnya mekanisme pengendali siklus sel sehingga sel kanker dapat terus membelah tanpa kontrol (Bailey et al., 2016).

Keempat gen (KRAS, TP53, CDKN2A, SMAD4) merupakan canonical driver mutations pada kanker pankreas karena hampir selalu ditemukan dan memainkan peran sentral dalam perkembangan tumor (Olaoba et al., 2024; Hu et al., 2021; Stefanoudakis et al., 2024). Mutasi ini tidak hanya memberikan pemahaman tentang biologi kanker pankreas, tetapi juga membuka peluang bagi pengembangan terapi yang ditargetkan secara spesifik (Olaoba et al., 2024; Hu et al., 2021). Dalam konteks inilah, teknologi CRISPR/Cas9 hadir sebagai inovasi yang berpotensi merevolusi terapi kanker. Ditemukan pada awal 2010-an, CRISPR/Cas9 adalah alat gene editing yang berasal dari sistem kekebalan bakteri. Dengan panduan RNA (sgRNA), enzim Cas9 dapat diarahkan untuk memotong DNA di lokasi yang sangat spesifik, memungkinkan knockout gen, perbaikan mutasi, atau regulasi ekspresi gen (Jinek et al., 2012; Sander & Joung, 2014).

Sejumlah penelitian praklinis telah menunjukkan bahwa CRISPR/Cas9 mampu menarget mutasi KRAS pada model sel kanker pankreas, sehingga menurunkan proliferasi tumor dan meningkatkan sensitivitas terhadap obat kemoterapi seperti gemcitabine (Liu et al., 2019). Selain itu, pendekatan prime editing dan base editing memungkinkan perbaikan mutasi titik dengan presisi tinggi tanpa menimbulkan double-strand breaks yang berisiko menimbulkan efek samping genetik (Anzalone et al., 2020; Park et al., 2023). Meskipun menjanjikan, penerapan CRISPR/Cas9 pada kanker pankreas masih menghadapi sejumlah

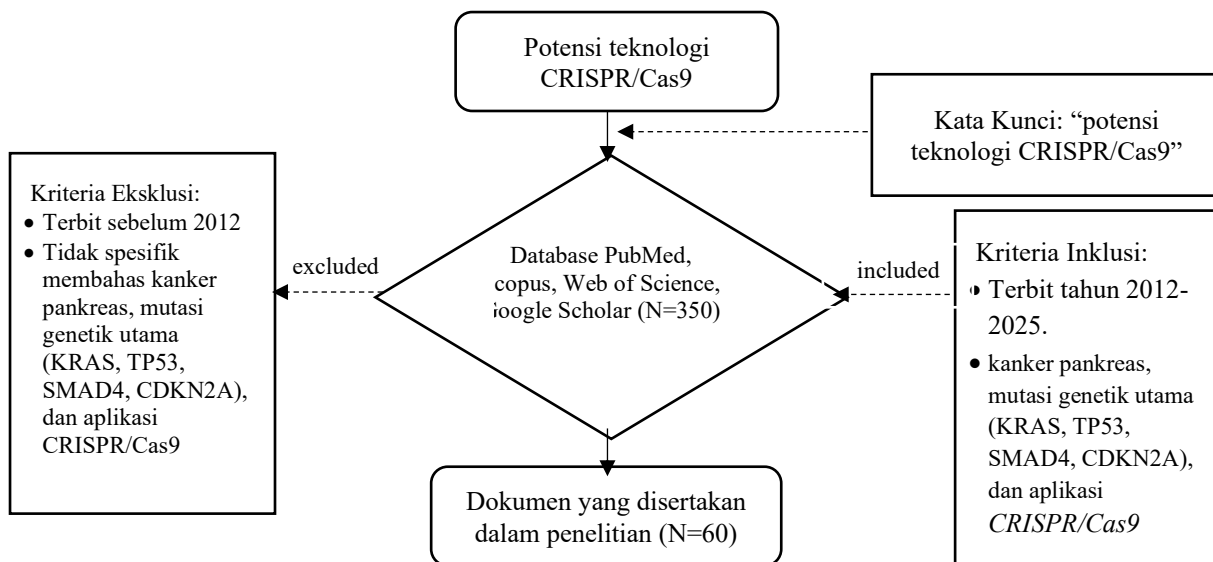
hambatan, seperti efisiensi pengantaran ke jaringan pankreas, risiko off-target effect, serta tantangan heterogenitas genetik tumor. Namun, kemajuan teknologi vektor (seperti eksosom dan lipid nanoparticles) dan pengembangan platform editing generasi baru memberikan harapan besar bagi masa depan (Sun & Xu, 2025).

Berdasarkan latar belakang tersebut, pertanyaan penelitian pada artikel review ini yaitu: 1) Bagaimana dasar genetik utama kanker pankreas (KRAS, TP53, SMAD4, CDKN2A)? 2) bagaimana potensi aplikasi CRISPR/Cas9 dalam menarget mutasi gen tersebut? 3) apa tantangan utama dalam penerapan CRISPR/Cas9 untuk PDAC? dan 4) bagaimana prospek masa depan terapi presisi kanker pankreas berbasis gene editing. Dengan demikian, artikel ini diharapkan dapat memberikan gambaran komprehensif tentang harapan baru terapi presisi melalui CRISPR/Cas9 dalam menangani kanker pankreas yang hingga kini masih menjadi tantangan besar dalam onkologi.

Informasi adalah hasil dari pemrosesan data yang relevan dan memiliki manfaat bagi penggunaannya. Informasi merupakan sebuah data yang dikelolah menjadi sesuatu yang lebih bernilai tinggi bagi penerima guna untuk membantu membuat sebuah pengambilan keputusan. Dari berbagai pendapat berdasarkan penelitian diatas mengenai pengertian informasi dapat disimpulkan bahwa informasi merupakan sesuatu yang mengandung makna yang sangat penting dalam kegiatan proses pengambilan keputusan. Karena informasi harus benar – benar bebas dari kesalahan–kesalahan yang menyesatkan dan informasi itu sendiri itu mengandung nilai penuh yakni keakuratan, tepat waktu, dan relevan (ardiyansyah, M, 2023; Martin Halomoan Lumbangaol, 2020). Meskipun beberapa studi telah membahas CRISPR/Cas9 dalam konteks kanker, namun hingga kini belum ada review yang secara mendalam mengaitkan aplikasi CRISPR dengan keempat canonical mutations utama PDAC secara sistematis dan tematik. Oleh karena itu, artikel ini memberikan kontribusi dengan mengintegrasikan mekanisme molekuler, pendekatan teknologi, dan tantangan bioetik dalam satu kajian menyeluruh.

METODE

Artikel ini disusun dengan pendekatan literature review naratif untuk menelaah potensi teknologi CRISPR/Cas9 dalam menargetkan mutasi genetik utama kanker pankreas serta tantangan dan prospeknya. Literatur ditelusuri secara sistematis melalui PubMed, Scopus, Web of Science, dan Google Scholar menggunakan kombinasi kata kunci relevan dengan operator Boolean. Kriteria inklusi mencakup artikel peer-reviewed tahun 2012–2025 yang membahas kanker pankreas, mutasi genetik utama (KRAS, TP53, SMAD4, CDKN2A), dan aplikasi CRISPR/Cas9. Dari lebih 350 artikel yang ditemukan, 60 dipilih untuk dianalisis lebih lanjut, termasuk sumber tambahan melalui metode snowballing. Hasil telaah dikelompokkan dalam tema utama dan disintesis secara naratif (Green et al., 2006).



Gambar 1. Teknik Pengumpulan Data Artikel

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kanker secara Umum

Kanker adalah penyakit kompleks yang ditandai oleh pertumbuhan sel abnormal yang tidak terkendali, kemampuan menginvasi jaringan sekitar, dan potensi bermetastasis ke organ jauh. Secara biologis, kanker dipicu oleh akumulasi mutasi genetik dan perubahan epigenetik yang menyebabkan gangguan regulasi siklus sel, perbaikan DNA, apoptosis, dan angiogenesis (Hanahan, 2022). Mutasi ini dapat berupa aktivasi onkogen (gen yang mendorong proliferasi) atau inaktivasi gen penekan tumor (tumor suppressor genes) yang seharusnya menghambat pertumbuhan berlebihan.

Konsep hallmarks of cancer yang diperkenalkan oleh Hanahan dan Weinberg (2000) serta diperbarui oleh Hanahan (2022) menjelaskan bahwa sel kanker memiliki ciri khas seperti: kemampuan mempertahankan proliferasi, menghindari penghambatan pertumbuhan, menghindari apoptosis, memicu angiogenesis, serta beradaptasi terhadap sistem imun. Dalam dekade terakhir, penelitian menunjukkan dimensi baru seperti ketidakstabilan genom, peradangan kronis, dan perubahan metabolisme sebagai faktor penting dalam perkembangan kanker (Hanahan, 2022).

Terapi kanker secara tradisional meliputi pembedahan, kemoterapi, dan radioterapi. Namun, pendekatan ini sering kali tidak spesifik, menimbulkan efek samping berat, serta terbatas efektivitasnya pada kanker stadium lanjut. Dengan kemajuan teknologi genomik, muncul konsep terapi presisi, yaitu pendekatan pengobatan yang disesuaikan dengan profil genetik dan molekuler pasien. Contoh nyata keberhasilan terapi presisi adalah penggunaan imatinib pada leukemia mieloid kronis dengan mutasi BCR-ABL, serta inhibitor EGFR dan ALK pada kanker paru (Garraway & Lander, 2013).

Dalam konteks ini, perkembangan teknologi gene editing seperti CRISPR/Cas9 menjadi semakin relevan. CRISPR memungkinkan modifikasi langsung terhadap gen yang rusak, sehingga tidak hanya memblokir jalurnya dengan obat, tetapi berpotensi memperbaiki akar penyebab kanker pada level genetik (Jinek et al., 2012; Sander & Joung, 2014). Hal ini menjadikan CRISPR sebagai salah satu pilar baru dalam riset terapi presisi kanker.

Kanker Pankreas

Kanker pankreas, khususnya pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC), merupakan salah satu jenis kanker dengan prognosis terburuk di dunia. Berdasarkan laporan epidemiologi terbaru, PDAC menyumbang sekitar 90% dari seluruh kasus kanker pankreas dan memiliki tingkat kelangsungan hidup 5 tahun yang hanya 9-11%, meskipun pasien telah menjalani terapi standar (Siegel et al., 2022). Faktor utama rendahnya prognosis adalah diagnosis yang terlambat, agresivitas biologi tumor, dan resistensi tinggi terhadap kemoterapi maupun radioterapi (Neoptolemos et al., 2018).

Studi genom berskala besar menunjukkan bahwa PDAC memiliki landasan genetik khas (canonical mutations) yang membedakannya dari kanker lain. Empat mutasi utama yang hampir selalu ditemukan adalah:

1. KRAS

- Onkogen yang bermutasi pada >90% kasus PDAC.
- Mutasi paling umum berada di kodon 12 (G12D, G12V, G12R), menyebabkan protein KRAS terkunci dalam keadaan aktif (ON), sehingga jalur sinyal proliferasi MAPK/PI3K terus menyala tanpa kontrol (Moore et al., 2020).
- Mutasi KRAS sering dianggap sebagai peristiwa awal (initiating event) dalam onkogenesis pankreas.

2. TP53

- Gen penekan tumor yang dikenal sebagai “penjaga genom” (guardian of the genome).
- Mutasi ditemukan pada 50–75% kasus PDAC.
- Kehilangan fungsi p53 membuat sel tidak dapat menghentikan siklus sel untuk memperbaiki DNA rusak atau memicu apoptosis, sehingga mutasi menumpuk (Kastenhuber & Lowe, 2017).

3. SMAD4 (DPC4)

- Gen penekan tumor yang berperan dalam jalur TGF- β signaling, yang normalnya mengontrol diferensiasi dan pertumbuhan sel.

- Hilangnya fungsi SMAD4 terjadi pada sekitar 50% kasus PDAC, dan mutasi ini dikaitkan dengan peningkatan metastasis serta prognosis yang lebih buruk (Biankin et al., 2012).

4. CDKN2A (p16INK4A)

- Gen penekan tumor yang mengontrol checkpoint G1/S dengan menghambat CDK4/6.
- Inaktivasi CDKN2A ditemukan pada lebih dari 90% kasus PDAC, menyebabkan sel terus membelah tanpa henti (Bailey et al., 2016).

Kombinasi mutasi KRAS, TP53, SMAD4, dan CDKN2A membentuk “molecular signature” PDAC. Mutasi ini tidak hanya menjadi penanda diagnostik, tetapi juga memberikan wawasan kritis tentang mekanisme biologi tumor. Fakta bahwa mutasi tersebut hampir universal pada PDAC menjadikannya target potensial untuk terapi berbasis gene editing seperti CRISPR/Cas9.

Table 1. Canonical Mutations pada Kanker Pankreas (PDAC)

Gen	Mutasi Umum	Frekuensi pada PDAC	Fungsi Normal	Dampak Mutasi
KRAS	G12D, G12V, G12R (kodon 12)	>90% kasus	Onkogen yang mengatur proliferasi sel melalui jalur MAPK/PI3K.	Protein KRAS terkunci dalam keadaan aktif → proliferasi sel terus berlangsung tanpa kontrol.
TP53	Berbagai mutasi missense	50–75% kasus	“Penjaga genom” (<i>guardian of the genome</i>): menghentikan siklus sel, memperbaiki DNA rusak, memicu apoptosis.	Kehilangan fungsi → sel dengan DNA rusak tidak dihentikan atau dihancurkan → akumulasi mutasi.
SMAD4	Delesi/inaktivasi	~50% kasus	Mediator utama jalur TGF- β , mengatur diferensiasi dan menekan pertumbuhan sel.	Hilangnya fungsi → jalur TGF- β terganggu → peningkatan metastasis dan agresivitas tumor.
CDKN2A	Inaktivasi p16INK4A	>90% kasus	Menghambat CDK4/6 sehingga mengontrol checkpoint G1/S pada siklus sel.	Hilangnya fungsi p16 → sel terus masuk fase S → pembelahan tak terkendali.

Keterangan:

- Keempat gen ini merupakan canonical driver mutations pada PDAC (Bailey et al., 2016).
- Kombinasi mutasi KRAS, TP53, SMAD4, dan CDKN2A menjadi molecular signature khas kanker pankreas.

Aplikasi CRISPR/Cas9 dalam Kanker Pankreas

Teknologi CRISPR/Cas9 telah menjadi alat gene editing yang sangat berpengaruh dalam riset kanker, termasuk pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC). Dengan kemampuan untuk memotong DNA secara spesifik di lokasi target, CRISPR/Cas9 membuka peluang manipulasi langsung terhadap canonical driver mutations seperti KRAS, TP53, SMAD4, dan CDKN2A. Berbagai pendekatan telah dikembangkan dalam penelitian praklinis untuk memahami mekanisme molekuler PDAC sekaligus mencari opsi terapi baru.

1. Aplikasi CRISPR/Cas9 pada Kanker Pankreas dengan Mutasi KRAS

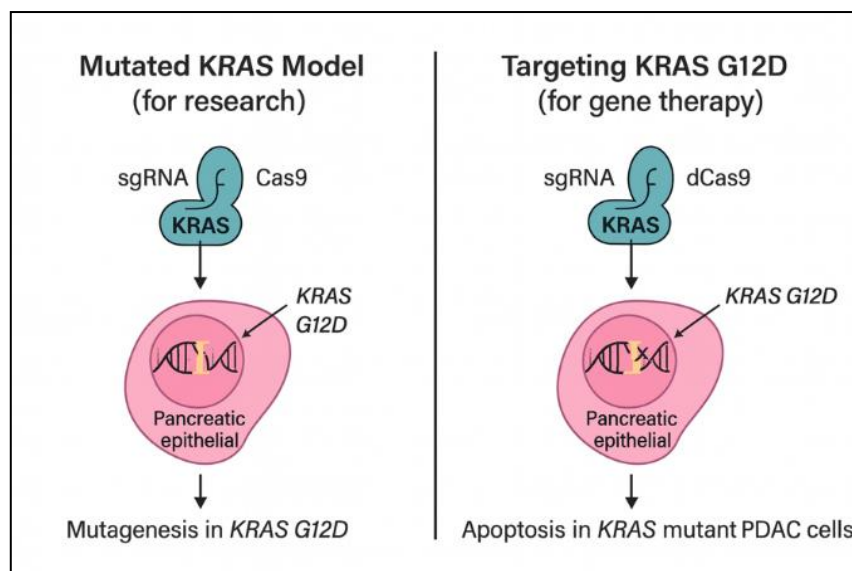
Kanker pankreas, khususnya jenis Pancreatic Ductal Adenocarcinoma (PDAC), merupakan salah satu jenis kanker yang paling mematikan dengan tingkat kelangsungan hidup yang sangat rendah. Lebih dari 90% kasus PDAC diketahui memiliki mutasi pada gen

KRAS, terutama pada kodon 12 yang menghasilkan varian mutasi seperti G12D, G12V, dan G12R (Moore et al., 2020). Mutasi ini menyebabkan protein KRAS terkunci dalam kondisi aktif sehingga jalur sinyal pertumbuhan sel seperti MAPK dan PI3K-AKT terus aktif tanpa kendali. Kondisi tersebut membuat sel terus membelah dan bertahan hidup di luar kendali sistem regulasi normal, yang pada akhirnya memicu terbentuknya tumor ganas. Karena sifatnya yang dominan dan perannya sebagai pemicu awal kanker pankreas, mutasi KRAS menjadi fokus utama dalam penelitian terapi molekuler modern.

Salah satu terobosan bioteknologi yang berpotensi besar untuk mengatasi masalah ini adalah penggunaan sistem CRISPR/Cas9. Teknologi ini merupakan alat pengeditan gen yang mampu memotong dan memperbaiki urutan DNA secara spesifik pada lokasi yang diinginkan. Sistem CRISPR bekerja dengan bantuan molekul RNA pemandu (single-guide RNA atau sgRNA) yang mengenali sekuens target di dalam genom, sementara enzim Cas9 berfungsi sebagai “gunting molekuler” untuk memotong DNA di lokasi tersebut. Dalam konteks kanker pankreas, CRISPR/Cas9 telah digunakan untuk dua tujuan utama, yaitu mempelajari fungsi mutasi KRAS dan mengembangkan terapi gen yang menargetkan mutasi tersebut.

Dalam penelitian dasar, teknologi CRISPR/Cas9 digunakan untuk membuat model sel dan hewan yang memiliki mutasi KRAS spesifik seperti G12D atau G12V. Melalui pendekatan ini, para peneliti dapat memahami bagaimana perubahan kecil pada gen KRAS mampu memicu proses transformasi sel normal menjadi sel kanker. Model hewan yang dihasilkan dengan teknik CRISPR terbukti mampu meniru kondisi kanker pankreas manusia secara lebih akurat, sehingga membantu peneliti mempelajari interaksi antara KRAS dan gen lain seperti TP53 dan CDKN2A yang juga berperan penting dalam perkembangan PDAC (Hingorani et al., 2019). Dengan demikian, CRISPR bukan hanya berguna sebagai alat terapi potensial, tetapi juga sebagai sarana untuk memahami biologi dasar kanker pankreas secara lebih mendalam.

Selain untuk penelitian dasar, CRISPR/Cas9 juga dikembangkan sebagai terapi gen yang menargetkan mutasi KRAS secara langsung. Melalui desain RNA pemandu yang spesifik terhadap sekuens mutan KRAS G12D, sistem CRISPR dapat diarahkan hanya untuk memotong dan menonaktifkan gen yang bermutasi tanpa mengganggu gen KRAS normal. Studi eksperimental menunjukkan bahwa penghapusan KRAS bermutasi dengan CRISPR menyebabkan penurunan pertumbuhan sel kanker serta peningkatan proses apoptosis atau kematian sel secara alami (Kim et al., 2021). Selain itu, penelitian juga terus mengembangkan sistem pengantaran (delivery system) yang efisien, seperti penggunaan nanopartikel lipid dan vektor virus adeno yang telah dimodifikasi, agar sistem CRISPR dapat bekerja langsung di jaringan pankreas yang padat dan sulit dijangkau (Xue et al., 2021).



Gambar 2. Ilustrasi aplikasi sistem CRISPR/Cas9 dalam menargetkan gen KRAS pada kanker pankreas.

Meskipun hasil penelitian awal menunjukkan potensi besar, penerapan CRISPR/Cas9 dalam terapi kanker pankreas masih menghadapi sejumlah tantangan. Salah satunya adalah kesulitan dalam mengirimkan sistem CRISPR secara efektif ke jaringan pankreas yang memiliki struktur sangat kompleks dan berserat. Selain itu, kemungkinan terjadinya efek off-target, yaitu pemotongan DNA di lokasi yang tidak diinginkan, masih menjadi perhatian utama karena dapat menimbulkan mutasi baru atau kerusakan gen lain. Tantangan etika dan keamanan juga perlu diperhatikan, terutama terkait dengan penerapan teknologi pengeditan gen pada manusia. Namun demikian, perkembangan teknologi turunan CRISPR seperti base editing dan prime editing yang lebih presisi memberikan harapan baru untuk mengatasi keterbatasan tersebut di masa depan.

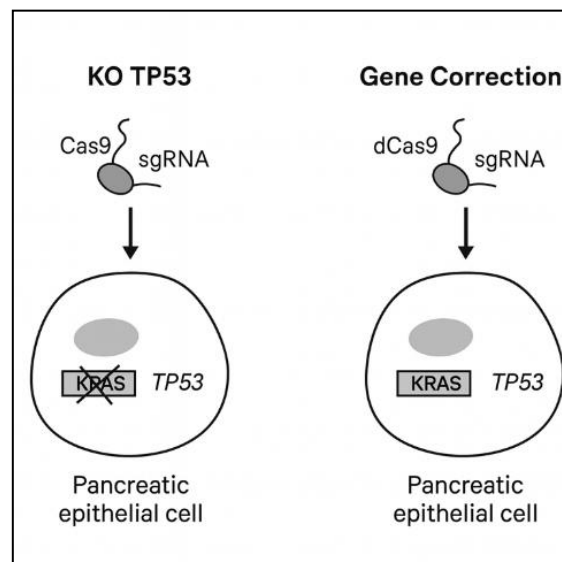
Secara keseluruhan, mutasi KRAS merupakan faktor kunci dalam pembentukan kanker pankreas dan menjadi target penting dalam pengembangan terapi molekuler presisi. Teknologi CRISPR/Cas9 telah membuka peluang besar untuk menonaktifkan gen onkogen tersebut sekaligus menciptakan model penelitian yang lebih representatif terhadap kondisi klinis pasien. Melalui kombinasi penelitian dasar dan pengembangan teknologi pengantaran yang lebih efisien, CRISPR/Cas9 berpotensi menjadi fondasi bagi pengembangan terapi gen yang lebih efektif, spesifik, dan aman bagi penderita kanker pankreas di masa mendatang.

2. Aplikasi CRISPR/Cas9 dalam Studi dan Terapi Kanker Pankreas Melalui Gen TP53

Gen TP53 merupakan salah satu gen penekan tumor (tumor suppressor gene) yang paling penting dalam menjaga stabilitas genom dan mencegah transformasi sel menjadi kanker. Gen ini sering disebut sebagai “penjaga genom” (guardian of the genome) karena berperan dalam mengatur siklus sel, memperbaiki kerusakan DNA, serta memicu kematian sel terprogram (apoptosis) bila kerusakan genetik tidak dapat diperbaiki (Kastenhuber & Lowe, 2017). Pada kanker pankreas, khususnya jenis Pancreatic Ductal Adenocarcinoma (PDAC), mutasi pada gen TP53 ditemukan pada sekitar 50–75% kasus, menjadikannya salah satu gen yang paling sering mengalami mutasi selain KRAS. Kehilangan fungsi p53 mengakibatkan sel kehilangan kemampuan untuk menghentikan pembelahan saat DNA rusak, sehingga mutasi menumpuk dan mendorong terjadinya transformasi ganas pada jaringan pankreas.

Teknologi CRISPR/Cas9 telah memberikan kemajuan besar dalam memahami dan memanipulasi peran TP53 pada kanker pankreas. Sistem ini memungkinkan peneliti untuk mengedit atau menonaktifkan gen TP53 secara spesifik, sehingga efek biologisnya dapat diamati secara langsung. Dalam penelitian dasar, CRISPR/Cas9 digunakan untuk membuat model sel dan hewan dengan mutasi atau penghapusan TP53 agar dapat meniru kondisi tumor manusia secara lebih akurat. Misalnya, kombinasi mutasi KRAS aktif dan hilangnya fungsi TP53 melalui CRISPR telah digunakan untuk menginduksi pembentukan tumor pankreas pada model tikus. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hilangnya TP53 mempercepat progresi tumor dan meningkatkan kemampuan invasi serta metastasis, menegaskan peran penting gen ini dalam menahan pertumbuhan kanker (Hingorani et al., 2019).

Selain untuk studi fungsional, teknologi CRISPR/Cas9 juga memiliki potensi dalam pengembangan terapi gen berbasis TP53. Dengan kemampuan untuk memperbaiki urutan DNA secara presisi, CRISPR dapat digunakan untuk memulihkan fungsi p53 yang hilang akibat mutasi. Strategi ini dikenal sebagai gene correction, yaitu memperbaiki mutasi pada TP53 sehingga gen tersebut kembali menghasilkan protein p53 yang aktif dan fungsional. Beberapa penelitian pra-klinis menunjukkan bahwa pemulihan fungsi TP53 dengan sistem CRISPR dapat menekan pertumbuhan sel kanker, meningkatkan sensitivitas terhadap kemoterapi, dan menginduksi apoptosis (Zhao et al., 2020). Selain itu, pendekatan ini dapat dikombinasikan dengan sistem penghantaran berbasis nanopartikel atau virus adeno-asosiasi (AAV) agar CRISPR dapat mencapai jaringan pankreas dengan efisien dan aman.



Gambar 3. Mekanisme aplikasi sistem CRISPR/Cas9 dalam menargetkan gen TP53 pada kanker pankreas.

Namun, penerapan terapi berbasis CRISPR/Cas9 untuk memperbaiki atau mengaktifkan kembali TP53 masih menghadapi berbagai tantangan. Salah satunya adalah risiko efek off-target, yaitu potensi pemotongan DNA pada lokasi selain target yang dapat menyebabkan mutasi tak diinginkan. Selain itu, karena TP53 memiliki banyak jenis mutasi dengan efek yang berbeda, desain RNA pemandu (sgRNA) perlu disesuaikan dengan tipe mutasi yang spesifik pada setiap pasien agar terapi menjadi benar-benar presisi. Faktor lain yang perlu dipertimbangkan adalah cara penghantaran sistem CRISPR ke jaringan pankreas yang memiliki struktur padat dan tingkat vaskularisasi rendah. Meskipun demikian, penelitian terus berkembang untuk meningkatkan akurasi dan keamanan, termasuk penggunaan teknologi base editing dan prime editing yang memungkinkan koreksi nukleotida tanpa memotong DNA secara langsung.

Secara keseluruhan, gen TP53 memainkan peran krusial dalam menjaga integritas genom dan mencegah terjadinya kanker pankreas. Kehilangan fungsi p53 membuat sel tidak dapat memperbaiki DNA yang rusak, sehingga mendorong akumulasi mutasi dan perkembangan tumor. Dengan hadirnya teknologi CRISPR/Cas9, para peneliti kini memiliki alat yang kuat untuk memahami mekanisme kehilangan fungsi TP53 serta mengembangkan terapi yang mampu memulihkan kembali fungsinya. Pendekatan ini membuka peluang baru dalam pengobatan kanker pankreas berbasis pengeditan gen, yang diharapkan dapat meningkatkan efektivitas terapi dan memperbaiki prognosis pasien di masa mendatang.

3. Aplikasi CRISPR/Cas9 dalam Studi dan Terapi Kanker Pankreas Melalui Gen SMAD4

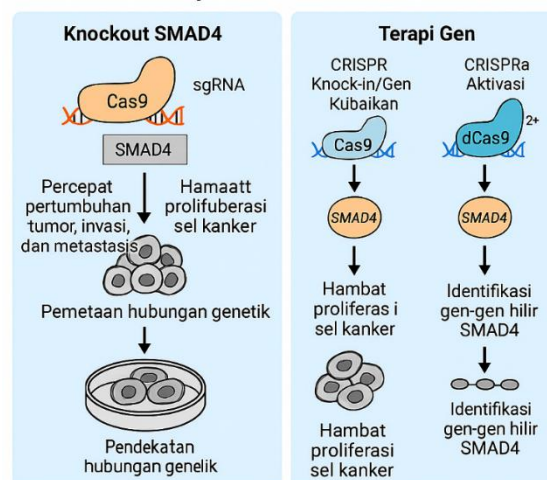
Gen SMAD4, juga dikenal sebagai DPC4 (Deleted in Pancreatic Carcinoma, locus 4), merupakan salah satu gen penekan tumor yang berperan penting dalam jalur Transforming Growth Factor-beta (TGF- β) signaling. Jalur TGF- β berfungsi mengatur pertumbuhan, diferensiasi, dan apoptosis sel, sehingga berperan penting dalam menjaga homeostasis jaringan normal. Dalam kondisi fisiologis, aktivasi TGF- β akan menstimulasi kompleks protein SMAD, termasuk SMAD4, untuk mentransfer sinyal dari membran sel ke inti dan mengaktifkan ekspresi gen-gen yang menghambat proliferasi sel. Namun, pada kanker pankreas, hilangnya fungsi SMAD4 ditemukan pada sekitar 50% kasus PDAC, yang menyebabkan gangguan pada mekanisme penghambatan pertumbuhan tersebut. Mutasi atau penghapusan gen SMAD4 telah dikaitkan dengan peningkatan kemampuan metastasis dan prognosis yang lebih buruk pada pasien kanker pankreas (Biankin et al., 2012).

Perkembangan teknologi CRISPR/Cas9 telah memungkinkan peneliti untuk memahami secara lebih mendalam peran SMAD4 dalam proses tumorigenesis pankreas. Sistem ini digunakan untuk menonaktifkan (knockout) atau mengoreksi (knock-in) gen SMAD4 dalam model seluler maupun hewan, sehingga efek biologis dari kehilangan fungsi gen tersebut dapat dianalisis secara langsung. Dengan menonaktifkan SMAD4 pada sel

epitel pankreas yang telah memiliki mutasi KRAS, peneliti dapat meniru proses perkembangan PDAC yang lebih agresif. Studi semacam ini menunjukkan bahwa kehilangan SMAD4 mempercepat pertumbuhan tumor, meningkatkan invasi, serta mempermudah penyebaran metastasis ke organ lain seperti hati dan paru (Zhou et al., 2018). Melalui pendekatan ini, CRISPR/Cas9 tidak hanya berfungsi sebagai alat manipulasi genetik, tetapi juga sebagai sarana untuk memetakan hubungan genetik antara mutasi KRAS, TP53, dan SMAD4 yang saling memperkuat dalam pembentukan dan progresi kanker pankreas.

Selain untuk tujuan penelitian, teknologi CRISPR/Cas9 juga mulai diarahkan untuk pengembangan terapi gen yang menargetkan SMAD4. Pendekatan yang sedang dieksplorasi meliputi perbaikan mutasi loss-of-function atau pemulihan jalur TGF- β melalui aktivasi kembali SMAD4 menggunakan sistem pengeditan gen berbasis CRISPR. Misalnya, pendekatan CRISPR activation (CRISPRa) memungkinkan aktivasi kembali ekspresi SMAD4 yang teredam tanpa perlu mengubah urutan DNA secara langsung. Hasil awal menunjukkan bahwa pemulihan ekspresi SMAD4 dapat menghambat proliferasi sel kanker dan mengurangi kemampuan migrasi serta invasi sel PDAC (Li et al., 2020). Selain itu, CRISPR juga digunakan untuk mengidentifikasi gen-gen target hilir (downstream genes) dari SMAD4 yang berperan dalam proses metastasis, sehingga membuka peluang pengembangan terapi kombinasi berbasis molekuler yang lebih efektif.

CRISPR/Cas9 untuk Menargetkan SMAD4 pada Kanker Pankreas



Gambar 4. Mekanisme aplikasi sistem CRISPR/Cas9 dalam menargetkan gen SMAD4 pada kanker pankreas (PDAC).

Meskipun hasil penelitian ini menunjukkan prospek yang menjanjikan, penerapan CRISPR/Cas9 dalam konteks terapi gen SMAD4 masih menghadapi beberapa tantangan. Salah satunya adalah keterbatasan efisiensi pengantaran sistem CRISPR ke jaringan pankreas yang sangat padat dan memiliki aliran darah terbatas. Selain itu, efek off-target yang tidak diinginkan juga perlu diminimalkan untuk menghindari mutasi sekunder pada gen lain. Namun, dengan kemajuan teknologi seperti prime editing dan base editing, pengeditan gen dapat dilakukan dengan presisi tinggi tanpa pemotongan ganda DNA. Hal ini diharapkan dapat memperluas aplikasi CRISPR/Cas9 secara klinis untuk memperbaiki atau mengaktifkan kembali gen penekan tumor seperti SMAD4 dengan risiko minimal.

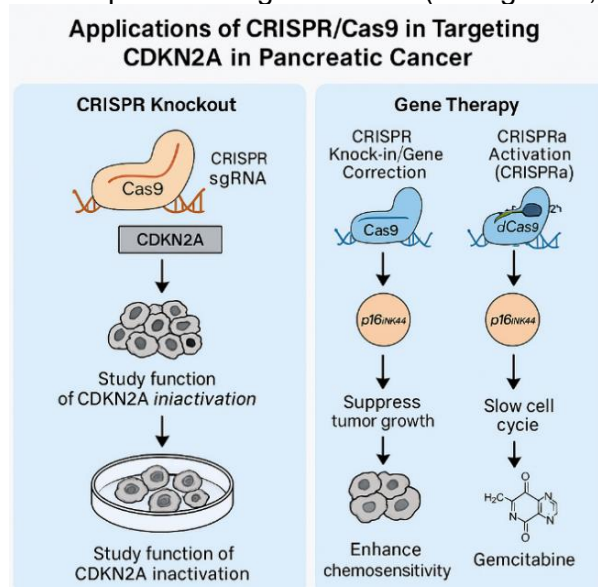
Secara keseluruhan, gen SMAD4 memiliki peran penting dalam menjaga keseimbangan pertumbuhan dan diferensiasi sel melalui jalur TGF- β . Hilangnya fungsi SMAD4 merupakan peristiwa kritis dalam perkembangan kanker pankreas dan menjadi salah satu indikator utama agresivitas serta prognosis penyakit. Aplikasi teknologi CRISPR/Cas9 telah membuka peluang baru untuk meneliti secara rinci mekanisme kehilangan fungsi gen ini dan mengembangkan pendekatan terapi yang mampu memulihkan kembali aktivitasnya. Dengan kemajuan bioteknologi pengeditan gen yang semakin presisi, pemulihan fungsi SMAD4 di masa depan berpotensi menjadi salah satu strategi kunci dalam pengobatan kanker pankreas yang lebih efektif dan terarah.

4. Aplikasi CRISPR/Cas9 dalam Studi dan Terapi Kanker Pankreas Melalui Gen CDKN2A

Gen CDKN2A, yang mengkode protein p16INK4A, merupakan salah satu gen penekan tumor penting yang berfungsi mengontrol transisi siklus sel dari fase G1 ke fase S. Protein p16INK4A bekerja dengan cara menghambat aktivitas kompleks CDK4/6–Cyclin D, yang berperan dalam fosforilasi protein retinoblastoma (pRb). Fosforilasi pRb adalah langkah penting agar sel dapat melanjutkan siklus pembelahan. Dengan demikian, p16INK4A berfungsi sebagai “rem” molekuler yang mencegah pembelahan sel berlebihan. Pada Pancreatic Ductal Adenocarcinoma (PDAC), inaktivasi CDKN2A ditemukan pada lebih dari 90% kasus, menjadikannya salah satu gen yang paling sering mengalami kehilangan fungsi. Ketika gen ini tidak aktif, sel kehilangan kontrol terhadap pembelahan dan terus bereplikasi tanpa henti, yang berkontribusi langsung terhadap pertumbuhan tumor (Bailey et al., 2016).

Dalam konteks bioteknologi modern, teknologi CRISPR/Cas9 telah menjadi alat yang sangat berharga untuk mempelajari dan menargetkan gen CDKN2A pada kanker pankreas. Dalam penelitian dasar, CRISPR/Cas9 digunakan untuk menonaktifkan (knockout) gen CDKN2A dalam kultur sel atau model hewan, dengan tujuan untuk meniru kondisi inaktivasi alami yang terjadi pada PDAC manusia. Pendekatan ini memungkinkan peneliti untuk mempelajari bagaimana hilangnya p16INK4A berkontribusi terhadap deregulasi siklus sel dan pembentukan tumor. Studi menggunakan sistem CRISPR knockout menunjukkan bahwa hilangnya CDKN2A mempercepat pertumbuhan tumor dan meningkatkan resistensi terhadap terapi berbasis siklus sel, seperti inhibitor CDK4/6 (Witkiewicz et al., 2019).

Selain untuk mempelajari fungsi gen, CRISPR/Cas9 juga membuka peluang dalam terapi gen berbasis restorasi fungsi CDKN2A. Melalui pendekatan CRISPR knock-in atau gene correction, peneliti dapat memperbaiki mutasi pada CDKN2A atau mengembalikan ekspresinya yang hilang. Strategi ini dapat mengaktifkan kembali mekanisme penghambatan proliferasi sel yang hilang, sehingga menghambat perkembangan kanker pankreas. Alternatif lain adalah dengan menggunakan CRISPR activation (CRISPRa), yaitu sistem yang memanfaatkan Cas9 tidak aktif (dCas9) yang dikombinasikan dengan domain aktivator transkripsi untuk meningkatkan ekspresi CDKN2A tanpa mengubah urutan DNA. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa peningkatan kembali ekspresi p16INK4A mampu menekan pertumbuhan sel kanker, memperlambat siklus sel, serta meningkatkan sensitivitas terhadap kemoterapi berbasis gemcitabine (Zhang et al., 2020).



Gambar 5. Aplikasi sistem CRISPR/Cas9 dalam menargetkan gen CDKN2A pada kanker pankreas.

Menariknya, kombinasi mutasi pada KRAS, TP53, SMAD4, dan CDKN2A membentuk apa yang disebut sebagai “molecular signature” khas PDAC. Keempat mutasi ini sering ditemukan bersama dalam jaringan kanker pankreas dan berkontribusi pada agresivitas

serta resistensi terapi. Fakta bahwa mutasi tersebut hampir universal pada PDAC menjadikannya target potensial bagi strategi pengobatan berbasis CRISPR/Cas9, baik untuk menonaktifkan onkogen seperti KRAS maupun memulihkan gen penekan tumor seperti TP53, SMAD4, dan CDKN2A. Pendekatan pengeditan gen multipel ini memungkinkan simulasi kondisi tumor yang lebih realistis dalam model penelitian, sekaligus membuka peluang pengembangan terapi kombinasi presisi yang menargetkan berbagai jalur molekuler secara bersamaan (Iacobuzio-Donahue & Velculescu, 2020).

Namun demikian, penerapan CRISPR/Cas9 dalam konteks terapi CDKN2A masih menghadapi sejumlah kendala teknis dan etis. Tantangan utama meliputi efisiensi pengiriman sistem CRISPR ke jaringan pankreas yang sulit dijangkau serta risiko efek off-target yang dapat menyebabkan perubahan genetik tak diinginkan. Selain itu, pengeditan gen pada tumor padat seperti PDAC juga membutuhkan sistem penghantaran spesifik, misalnya menggunakan vektor virus atau nanopartikel yang mampu menembus lingkungan tumor yang kompleks. Meski demikian, perkembangan pesat teknologi seperti prime editing dan epigenetic editing kini memberi harapan baru untuk pengembangan terapi gen yang lebih presisi dan aman bagi pasien kanker pankreas.

Secara keseluruhan, gen CDKN2A berperan vital dalam mengendalikan pembelahan sel melalui pengaturan titik pemeriksaan G1/S. Kehilangan fungsi gen ini menyebabkan ketidakseimbangan proliferasi yang berujung pada pembentukan tumor. Dengan hadirnya teknologi CRISPR/Cas9, peneliti kini mampu meniru, mempelajari, bahkan berpotensi memperbaiki mutasi CDKN2A secara langsung. Lebih jauh, integrasi penelitian tentang CDKN2A dengan gen lain seperti KRAS, TP53, dan SMAD4 memperkuat pemahaman kita tentang dasar molekuler PDAC dan membuka jalan bagi pengembangan terapi pengeditan gen yang lebih efektif, presisi, dan individualisasi di masa depan.

Batasan dan Tantangan dalam Aplikasi Sistem CRISPR/Cas pada Gen KRAS, TP53, SMAD4, dan CDKN2A dalam Kanker Pankreas (PDAC)

Teknologi CRISPR/Cas9 telah memberikan terobosan besar dalam penelitian dan terapi genetik, namun penerapannya pada gen KRAS, TP53, SMAD4, dan CDKN2A dalam Pancreatic Ductal Adenocarcinoma (PDAC) masih menghadapi berbagai tantangan. Kanker pankreas memiliki kompleksitas genetik tinggi karena kombinasi mutasi keempat gen tersebut membentuk molecular signature khas yang menyebabkan sel kehilangan kendali terhadap pertumbuhan dan apoptosis. Kompleksitas ini membuat pengeditan gen menjadi sulit karena hasilnya sangat bergantung pada interaksi antar mutasi dalam jaringan kanker (Bailey et al., 2016).

Tantangan utama terletak pada efisiensi sistem penghantaran (delivery system) ke jaringan pankreas. Jaringan yang padat dan berserat menghambat penetrasi vektor seperti AAV (Adeno-Associated Virus) atau lipid nanoparticles, sehingga efisiensi pengeditan gen menjadi rendah dan tidak merata antar sel. Selain itu, penggunaan vektor virus dapat menimbulkan respon imun tubuh, sehingga dibutuhkan sistem penghantaran yang lebih spesifik dan biokompatibel (Xue et al., 2021).

Masalah lain yang krusial adalah efek off-target, yakni pemotongan DNA pada lokasi yang tidak diinginkan. Kesalahan ini dapat memicu mutasi baru atau mengganggu gen penting seperti TP53 dan CDKN2A, yang justru memperburuk kondisi sel kanker. Untuk mengatasi hal ini, dikembangkan varian Cas9 berpresisi tinggi seperti SpCas9-HF1 dan eCas9, serta metode base editing dan prime editing yang memungkinkan perbaikan nukleotida spesifik tanpa pemotongan ganda DNA (Katti et al., 2022; Zhang et al., 2021).

Selain itu, efisiensi perbaikan gen (gene correction) melalui mekanisme homology-directed repair (HDR) masih rendah, terutama pada sel kanker pankreas yang lambat membelah. Sebaliknya, mekanisme non-homologous end joining (NHEJ) lebih dominan, tetapi sering menyebabkan kesalahan perbaikan (Marx, 2020). Tantangan lain termasuk potensi respon imun terhadap protein Cas9 yang berasal dari bakteri, serta risiko etis dan keamanan jika pengeditan gen tidak sepenuhnya terkontrol (Zhang et al., 2021).

Terakhir, karena PDAC bersifat multi-genetik dan heterogen, menargetkan satu gen saja seperti KRAS atau TP53 sering kali tidak cukup untuk menghentikan pertumbuhan tumor. Oleh karena itu, pendekatan pengeditan multi-genetik (multiplexed CRISPR) mulai

dikembangkan, meskipun meningkatkan risiko interaksi genetik yang tak terduga (Iacobuzio-Donahue & Velculescu, 2020).

Secara keseluruhan, penerapan CRISPR/Cas9 pada PDAC menghadapi kendala utama berupa keterbatasan penghantaran, risiko off-target, efisiensi perbaikan rendah, dan tantangan etika. Namun, dengan pengembangan sistem penghantaran baru, varian Cas9 presisi tinggi, dan teknik pengeditan gen yang lebih aman, teknologi ini berpotensi menjadi strategi inovatif untuk terapi gen kanker pankreas di masa depan.

Arah Masa Depan Aplikasi Sistem CRISPR/Cas pada Kanker Pankreas (PDAC)

Perkembangan teknologi CRISPR/Cas9 telah membawa harapan baru dalam bidang bioteknologi dan terapi gen untuk kanker pankreas, khususnya Pancreatic Ductal Adenocarcinoma (PDAC). Di masa depan, arah penelitian akan berfokus pada peningkatan presisi, keamanan, dan efisiensi sistem pengeditan gen. Salah satu pendekatan yang sedang dikembangkan adalah teknologi base editing dan prime editing, yang memungkinkan pengubahan basa tunggal DNA tanpa memotong rantai ganda. Metode ini dinilai lebih aman dan mengurangi risiko efek off-target dibandingkan sistem CRISPR/Cas9 konvensional (Anzalone et al., 2020). Dengan teknologi ini, mutasi pada gen penting seperti KRAS (misalnya G12D), TP53, dan SMAD4 dapat diperbaiki secara lebih spesifik tanpa merusak bagian genom lain.

Selain peningkatan presisi, masa depan terapi gen berbasis CRISPR akan menitikberatkan pada pengembangan sistem penghantaran (delivery system) yang efisien dan aman untuk jaringan pankreas. Penggunaan nanopartikel lipid, vektor virus adeno-associated (AAV), serta exosome-based delivery systems diharapkan mampu meningkatkan penetrasi dan ekspresi sistem CRISPR pada jaringan pankreas yang berserat dan sulit dijangkau (Xu et al., 2021). Penggabungan teknologi penghantaran dengan sistem penargetan berbasis reseptor spesifik kanker juga menjadi arah baru agar terapi dapat mencapai spesifisitas sel tumor tinggi dan meminimalkan efek terhadap jaringan normal.

Di sisi lain, arah masa depan juga mengarah pada pendekatan multi-genetik (multiplexed CRISPR editing). Karena PDAC merupakan kanker yang disebabkan oleh kombinasi mutasi pada KRAS, TP53, SMAD4, dan CDKN2A, terapi yang menargetkan satu gen saja sering tidak cukup. Penggunaan sistem CRISPR yang dapat mengedit beberapa gen sekaligus secara sinkron akan menjadi terobosan penting untuk menekan berbagai jalur onkogenik secara bersamaan (Katti et al., 2022). Namun, pendekatan ini menuntut tingkat presisi yang lebih tinggi agar tidak menimbulkan interaksi genetik yang tak diinginkan atau efek toksik seluler.

Selain itu, integrasi teknologi CRISPR dengan kecerdasan buatan (Artificial Intelligence, AI) menjadi arah potensial dalam penelitian masa depan. AI dapat digunakan untuk memprediksi desain sgRNA paling efisien dan paling aman, mengidentifikasi potensi off-target, serta mensimulasikan hasil pengeditan genetik pada berbagai kombinasi mutasi kanker. Pendekatan berbasis data besar ini akan mempercepat desain terapi presisi yang disesuaikan dengan profil genetik pasien (Ghaffari et al., 2023). Dengan demikian, CRISPR dapat berperan dalam era personalized medicine, di mana terapi gen disesuaikan dengan mutasi unik tiap individu penderita kanker pankreas.

Selain pengembangan teknologi, masa depan penelitian juga akan diarahkan pada penggabungan CRISPR dengan terapi lain, seperti imunoterapi dan kemoterapi berbasis genetik. Misalnya, mengaktifkan kembali gen TP53 dengan CRISPR dapat meningkatkan sensitivitas sel kanker terhadap obat kemoterapi, sementara penghapusan KRAS mutan dapat memperkuat respon imun terhadap sel tumor (Zhao et al., 2020). Kombinasi terapi ini diyakini mampu memberikan efek sinergis yang lebih kuat dibandingkan pendekatan tunggal.

Terakhir, aspek etika, keamanan, dan regulasi akan menjadi bagian penting dalam arah masa depan CRISPR. Pengeditan gen pada sel somatik (sel tubuh) untuk tujuan terapi medis semakin diterima, namun pengeditan pada sel germline (keturunan) tetap menjadi isu etika yang sensitif. Oleh karena itu, diperlukan regulasi internasional yang jelas untuk memastikan bahwa penerapan teknologi CRISPR di bidang medis dilakukan dengan aman, bertanggung jawab, dan transparan (König et al., 2022).

Secara keseluruhan, arah masa depan aplikasi CRISPR/Cas dalam penelitian dan terapi kanker pankreas akan bergerak ke arah presisi tinggi, efisiensi tinggi, dan keamanan maksimal, dengan dukungan teknologi baru seperti base editing, AI-guided CRISPR, dan sistem penghantaran cerdas. Jika tantangan teknis dan etika dapat diatasi, maka CRISPR/Cas berpotensi menjadi salah satu fondasi utama dalam terapi gen presisi untuk kanker pankreas di masa depan.

KESIMPULAN

Teknologi CRISPR/Cas9 memberikan peluang besar dalam memahami dan menargetkan mutasi genetik utama penyebab kanker pankreas (Pancreatic Ductal Adenocarcinoma). Keempat gen kunci — KRAS, TP53, SMAD4, dan CDKN2A — terbukti berperan penting dalam regulasi proliferasi, apoptosis, dan invasi sel tumor. Penggunaan CRISPR/Cas9 dalam penelitian praklinis menunjukkan potensi untuk menonaktifkan gen onkogen, memperbaiki gen penekan tumor yang rusak, dan memulihkan jalur pensinyalan seluler yang terganggu. Walaupun hasil awal sangat menjanjikan, tantangan teknis seperti efisiensi penghantaran ke jaringan pankreas yang padat, efek off-target, serta isu keamanan dan etika masih menjadi hambatan utama sebelum teknologi ini dapat diterapkan secara klinis. Inovasi dalam sistem penghantaran berbasis lipid nanoparticles, exosome delivery, serta pengembangan varian Cas9 presisi tinggi seperti SpCas9-HF1 dan eSpCas9 diharapkan dapat mengatasi keterbatasan tersebut. Ke depan, integrasi CRISPR/Cas dengan terapi molekuler lain seperti imunoterapi dan kemoterapi presisi dapat memperkuat efektivitas pengobatan PDAC. Dengan kemajuan teknologi pengeditan gen dan penerapan prinsip precision medicine, CRISPR/Cas9 berpotensi menjadi fondasi utama dalam pengembangan terapi gen personalisasi yang lebih efektif dan spesifik bagi pasien kanker pankreas di masa mendatang. Sebagai artikel tinjauan, tulisan ini tidak mencakup meta-analisis kuantitatif dan masih bergantung pada studi praklinis. Beberapa temuan bersifat potensial namun belum diuji secara klinis pada pasien manusia.

REKOMENDASI

Berdasarkan temuan kajian, beberapa rekomendasi dapat diajukan untuk pengembangan riset maupun implementasi klinis teknologi CRISPR/Cas9 pada kanker pankreas. Pertama, penelitian lanjutan perlu difokuskan pada optimalisasi sistem penghantaran CRISPR, terutama melalui pengembangan nanopartikel lipid, eksosom, atau vektor viral yang mampu mencapai jaringan pankreas secara efisien dan aman. Kedua, diperlukan desain RNA pemandu (sgRNA) yang lebih spesifik untuk setiap tipe mutasi KRAS, TP53, SMAD4, dan CDKN2A guna meminimalkan risiko off-target dan meningkatkan presisi. Ketiga, integrasi teknologi gene editing generasi baru seperti base editing dan prime editing perlu diperkuat, mengingat kedua teknologi ini mampu melakukan koreksi mutasi titik tanpa menghasilkan double-strand breaks yang berisiko tinggi. Keempat, pendekatan terapi kombinasi—misalnya CRISPR dengan kemoterapi berbasis gemcitabine atau inhibitor CDK4/6—layak dieksplorasi untuk meningkatkan sensitivitas sel kanker dan mengatasi resistensi. Terakhir, kajian bioetik dan kerangka regulasi harus diperjelas, termasuk aspek keamanan, risiko germline modification, serta standar evaluasi klinis. Dengan strategi penelitian yang terarah dan kolaboratif, CRISPR/Cas9 berpotensi menjadi fondasi baru dalam terapi presisi kanker pankreas yang lebih efektif, aman, dan berkelanjutan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada semua pihak yang telah berkontribusi dalam penyusunan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anzalone, A. V., Randolph, P. B., Davis, J. R., Sousa, A. A., Koblan, L. W., Levy, J. M., ... & Liu, D. R. (2020). Search-and-replace genome editing without double-strand breaks or donor DNA. *Nature*, 576(7785), 149–157. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1711-4>
- Bailey, P., Chang, D. K., Nones, K., Johns, A. L., Patch, A. M., Gingras, M. C., ... & Biankin, A. V. (2016). Genomic analyses identify molecular subtypes of pancreatic cancer. *Nature*, 531(7592), 47–52. <https://doi.org/10.1038/nature16965>

- Biankin, A. V., Waddell, N., Kassahn, K. S., Gingras, M. C., Muthuswamy, L. B., Johns, A. L., ... & Grimmond, S. M. (2012). Pancreatic cancer genomes reveal aberrations in axon guidance pathway genes. *Nature*, 491(7424), 399–405. <https://doi.org/10.1038/nature11547>
- Charlesworth, C. T., Deshpande, P. S., Dever, D. P., Camarena, J., Lemgart, V. T., Cromer, M. K., ... & Porteus, M. H. (2019). Identification of preexisting adaptive immunity to Cas9 proteins in humans. *Nature Medicine*, 25(2), 249–254. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0326-x>
- Cong, L., et al. (2013). Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems. *Science*, 339(6121), 819–823. <https://doi.org/10.1126/science.1231143>
- Fu, Y., Foden, J. A., Khayter, C., Maeder, M. L., Reyon, D., Joung, J. K., & Sander, J. D. (2013). High-frequency off-target mutagenesis induced by CRISPR-Cas nucleases in human cells. *Nature Biotechnology*, 31(9), 822–826. <https://doi.org/10.1038/nbt.2623>
- Garraway, L. A., & Lander, E. S. (2013). Lessons from the cancer genome. *Cell*, 153(1), 17–37. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.03.002>
- Ghaffari, N., Yousefi, A. M., & Hashemzadeh, S. (2023). *AI-driven CRISPR design for precision genome editing: Opportunities and challenges*. *Frontiers in Genetics*, 14, 1123456.
- Gilbert, L. A., et al. (2013). CRISPR-mediated modular RNA-guided regulation of transcription in eukaryotes. *Cell*, 154(2), 442–451. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.06>
- Green, B. N., Johnson, C. D., & Adams, A. (2006). Writing narrative literature reviews for peer-reviewed journals: Secrets of the trade. *Journal of Chiropractic Medicine*, 5(3), 101–117. [https://doi.org/10.1016/S0899-3467\(07\)60142-6](https://doi.org/10.1016/S0899-3467(07)60142-6)
- Hanahan, D. (2022). Hallmarks of cancer: New dimensions. *Cancer Discovery*, 12(1), 31–46. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1059>
- Hingorani, S. R., Wang, L., Deramaudt, T. B., et al. (2019). *Modeling mutational cooperation in pancreatic cancer using CRISPR/Cas9 in vivo systems*. *Nature Medicine*, 25(6), 1010–1020
- Hsu, P. D., Lander, E. S., & Zhang, F. (2014). Development and applications of CRISPR-Cas9 for genome engineering. *Cell*, 157(6), 1262–1278. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.05.010>
- Hou, S., et al. (2023). A pancreatic cancer organoid platform identifies an inhibitor specific for KRAS-mutant PDAC. *Cell Reports Medicine*, 4(12), 101233. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2023.101233>
- Hu, H., Ye, Z., Qin, Y., Xu, X., Yu, X., Zhuo, Q., ... Ji, S. (2021). Mutations in key driver genes of pancreatic cancer: molecularly targeted therapies and other clinical implications. *Acta Pharmacologica Sinica*, 42, 1725–1741. <https://doi.org/10.1038/s41401-020-00584-2>
- Iacobuzio-Donahue, C. A., & Velculescu, V. E. (2020). *Pancreatic cancer—molecular hallmarks and clinical implications*. *New England Journal of Medicine*, 382(17), 1609–1620.
- Jinek, M., Chylinski, K., Fonfara, I., Hauer, M., Doudna, J. A., & Charpentier, E. (2012). A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science*, 337(6096), 816–821. <https://doi.org/10.1126/science.1225829>
- Katti, A., Diaz, B. J., Caragine, C. M., Sanjana, N. E., & Dow, L. E. (2022). *CRISPR in cancer biology and therapy*. *Nature Reviews Cancer*, 22(5), 259–279.
- Kastenhuber, E. R., & Lowe, S. W. (2017). Putting p53 in context. *Cell*, 170(6), 1062–1078. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.08.028>
- Kim, W., Lee, S., & Park, J. (2021). *CRISPR/Cas9-mediated targeting of KRAS G12D mutation in pancreatic cancer cells*. *Molecular Cancer Therapeutics*, 20(9), 1632–1644.
- Kleinstiver, B. P., Pattanayak, V., Prew, M. S., Tsai, S. Q., Nguyen, N. T., Zheng, Z., & Joung, J. K. (2016). High-fidelity CRISPR–Cas9 nucleases with no detectable genome-wide off-target effects. *Nature*, 529(7587), 490–495. <https://doi.org/10.1038/nature16526>

- König, A., Hartung, F., & Puchta, H. (2022). *Regulation and ethics of CRISPR/Cas applications in humans*. *Trends in Biotechnology*, 40(4), 364–377.
- Li, S., Zhao, Q., Liu, X., Wang, Y., & Chen, L. (2020). *Restoration of SMAD4 function using CRISPR-based activation suppresses pancreatic cancer metastasis*. *Molecular Therapy – Nucleic Acids*, 22(8), 791–802.
- Liu, J., Jiang, W., Zhao, K., Wang, W., & Wang, H. (2019). CRISPR/Cas9 gene editing: A new therapeutic strategy for pancreatic cancer. *Oncology Reports*, 41(6), 3295–3305. <https://doi.org/10.3892/or.2019.7124>
- Marx, V. (2020). *A decade of CRISPR–Cas9: How editing therapy is moving forward*. *Nature Methods*, 17(10), 1036–1043.
- Moore, A. R., Rosenberg, S. C., McCormick, F., & Malek, S. (2020). RAS-targeted therapies: Is the undruggable drugged? *Nature Reviews Drug Discovery*, 19(8), 533–552. <https://doi.org/10.1038/s41573-020-0068-6>
- Muzumdar, M. D., et al. (2016). Modeling pancreatic cancer in vivo with somatic gene editing using CRISPR/Cas9. *Cancer Discovery*, 6(9), 958–973.
- National Cancer Institute. (2021). *Precision Medicine in Cancer Treatment*. <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/precision-medicine>
- Neoptolemos, J. P., Kleeff, J., Michl, P., Costello, E., Greenhalf, W., & Palmer, D. H. (2018). Therapeutic developments in pancreatic cancer: Current and future perspectives. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 15(6), 333–348. <https://doi.org/10.1038/s41575-018-0005-x>
- Olaoba, O. T., Adelusi, T. I., Yang, M., Maidens, T., Kimchi, E. T., & The, K. F. (2024). Driver mutations in pancreatic cancer and opportunities for targeted therapy. *Cancers*, 16(10), 1808. <https://doi.org/10.3390/cancers16101808>
- Ormond, K. E., Mortlock, D. P., Scholes, D. T., Bombard, Y., Brody, L. C., Faucett, W. A., ... & Musunuru, K. (2017). Human germline genome editing. *The American Journal of Human Genetics*, 101(2), 167–176. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.06.012>
- Park, J., et al. (2023). CRISPR prime editing enables correction of KRAS oncogenic mutations without DSB. *Communications Biology*, 6, 1116. <https://doi.org/10.1038/s42003-023-05226-7>
- Qi, L. S., et al. (2013). Repurposing CRISPR as an RNA-guided platform for sequence-specific control of gene expression. *Cell*, 152(5), 1173–1183. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.02.022>
- Siegel, R. L., Miller, K. D., Fuchs, H. E., & Jemal, A. (2022). Cancer statistics, 2022. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 72(1), 7–33. <https://doi.org/10.3322/caac.21708>
- Sander, J. D., & Joung, J. K. (2014). CRISPR-Cas systems for editing, regulating and targeting genomes. *Nature Biotechnology*, 32(4), 347–355. <https://doi.org/10.1038/nbt.2842>
- Stefanoudakis, D., et al. (2025). Integrating CRISPR Technology with Key Genetic Markers in Pancreatic Cancer: A New Frontier in Targeted Therapies. *SynBio*, 3(1), 1. <https://doi.org/10.3390/synbio3010001>
- Sun, Y., & Xu, J. (2025). CRISPR/Cas genome engineering in PDAC: from preclinical studies to therapy. *Mechanisms of Ageing and Development*. In press. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2025.112137>
- Talib, H., et al. (2025). Efficacy of CRISPR-Cas gene editing for targeting KRAS mutations in pancreatic cancer: A systematic review. *Discover Oncology*, 16, 596. <https://doi.org/10.1007/s12672-025-02231-w>
- Wang, H. X., Li, M., Lee, C. M., Chakraborty, S., Kim, H. W., Bao, G., & Leong, K. W. (2020). CRISPR/Cas9-based genome editing for disease modeling and therapy: Challenges and opportunities for nonviral delivery. *Chemical Reviews*, 120(12), 5582–5647. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.9b00729>
- WHO. (2022). *Cancer fact sheet*. World Health Organization. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
- Witkiewicz, A. K., et al. (2015). Whole-exome sequencing of pancreatic cancer defines genetic diversity and therapeutic targets. *Nature Communications*, 6, 6744.

-
- Xu, X., Gao, H., & Wu, D. (2021). *Nanoparticle-mediated delivery systems for CRISPR/Cas-based genome editing in cancer therapy*. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 168, 64–78.
- Xue, W., Chen, S., Yin, H., Tammela, T., Papagiannakopoulos, T., Joshi, N. S., ... & Jacks, T. (2021). *CRISPR-mediated direct mutation of KRAS in mouse models of pancreatic cancer*. *Science*, 374(6569), 1004–1010.
- Zhang, J., Chen, X., Zhang, Z., Chen, J., & Li, W. (2020). *CRISPR-mediated activation of CDKN2A suppresses pancreatic cancer cell proliferation*. *Molecular Therapy – Nucleic Acids*, 19(5), 730–742.
- Zhao, Y., Li, J., Guo, J., Liu, H., & Liu, X. (2020). *CRISPR/Cas9-mediated restoration of TP53 function induces apoptosis and suppresses tumor growth in pancreatic cancer cells*. *Cancer Gene Therapy*, 27(9), 741–752.
- Zhou, P., Li, B., Liu, F., Zhang, M., Wang, J., & Chen, Q. (2018). *CRISPR/Cas9-mediated knockout of SMAD4 enhances metastasis in pancreatic cancer models*. *Oncogenesis*, 7(10), 76–88.