

**PERKEMBANGAN TERAPI GEN  
DALAM BIDANG KEDOKTERAN GIGI  
(KAJIAN PUSTAKA)**

KG 68/07

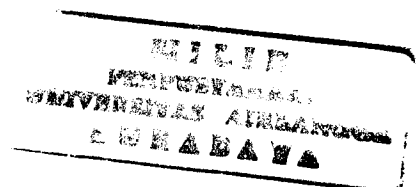
**SKRIPSI**



Oleh :

**ERNA WURYANTI**  
020012849

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2007**



**LEMBAR PENGESAHAN**

**PERKEMBANGAN TERAPI GEN  
DALAM BIDANG KEDOKTERAN GIGI  
(KAJIAN PUSTAKA)**

**SKRIPSI**

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk  
Menyelesaikan Pendidikan Dokter Gigi  
Di Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Airlangga  
Surabaya**

Oleh :

**ERNA WURYANTI**  
**020012849**

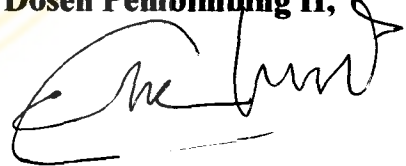
**Menyetujui,**

**Dosen Pembimbing I,**



**Susy Kristiani, drg., M.Kes**  
**NIP. 131569389**

**Dosen Pembimbing II,**



**An'nisaa Chusida, drg., M.Kes**  
**NIP. 132148513**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2007**

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang merupakan sebagian persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan (S1) Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.

Keberhasilan dalam menyelesaikan skripsi ini dan tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak, maka dalam kesempatan ini ijin penulis mengucapkan rasa terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada:

1. Prof. Dr. Moh. Rubianto, drg, Sp.Perio selaku mantan Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya yang telah memberikan ijin dan fasilitas dalam penulisan skripsi ini.
2. Prof. Dr. Ruslan Effendi, drg, Sp.KG selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya yang telah memberikan fasilitas dalam penulisan skripsi ini.
3. Markus Budi Rahardjo, drg., M.Kes selaku Ketua Bagian Biologi Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memberikan fasilitas dalam penulisan skripsi ini.
4. Susy Kristiani, drg, M.Kes, selaku dosen pembimbing pertama yang telah banyak memberikan bimbingan, masukan, dan kritikan dalam penulisan skripsi ini.
5. An'nisaa Chusida, drg, M.Kes, selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan, saran, dan masukan dalam penyusunan skripsi ini.

6. Dr. Retno Pudji R.,drg.,M.Kes; Dr.Indah Listiana,drg.,M.Kes; Christian KH.,drg.,M.Kes, selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan masukan dan saran dalam penyempurnaan penulisan skripsi ini.
7. Keluargaku, di Malang dan Bali, papa dan mama, kakak dan adikku yang terus memanjatkan doanya sehingga penulis penuh semangat dalam penulisan ini.
8. Teman-temanku di fakultas, teman kostku Lily, yang tidak pernah berhenti mengingatkanku untuk terus semangat.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih jauh dari sempurna oleh karena itu diharapkan adanya kritik dan saran yang membangun dari semua pihak. Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat berguna dan menambah ilmu pengetahuan khususnya di bidang kedokteran gigi.

Surabaya, Mei 2007

Penulis

**DAFTAR ISI**

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
LEMBAR PENGESAHAN .....	ii
KATA PENGANTAR .....	iii
DAFTAR ISI .....	iv
DAFTAR GAMBAR .....	vi
ABSTRAK .....	vii
<b>BAB I      PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Permasalahan .....	2
1.3 Tujuan .....	2
1.4 Manfaat .....	3
<b>BAB II     TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Terapi Gen .....	4
2.1.1 Prinsip Dasar dan Pendekatan Terapi Gen ...	4
2.1.2 Teknik Transfer Gen .....	5
2.1.3. Vektor Terapi Gen .....	6
2.2 Aplikasi Terapi Gen .....	8
2.2.1 Penyembuhan Lesi pada Tulang Mandibula ...	8
2.2.2 Transfer Gen pada Kelenjar Saliva .....	9
2.2.3 Transfer Gen pada Penyakit Autoimun .....	10
2.2.4 Nyeri .....	11
2.2.5 Vaksinasi DNA .....	12
2.2.6 Transfer Gen pada Keratinosit .....	12

2.2.7 Kanker Leher dan Kepala	13
2.3 Problematika	15
2.3.1 Kemampuan Hidup Sel yang Pendek	15
2.3.2 Respon Imun	16
2.3.3 Vektor Viral	16
2.3.4 Cacat Multigen	16
2.3.5 Kemungkinan Timbulnya Penyakit Baru	16
BAB III PEMBAHASAN	18
BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN	
4.1. Kesimpulan	25
4.2. Saran	25
DAFTAR PUSTAKA	26



## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Target sel dan vektor .....	5
Gambar 3.1 Terapi gen menggunakan adenovirus .....	20
Gambar 3.2 Gambaran histologi pembentukan tulang mandibula setelah dilakukan terapi gen .....	22



## **GENE THERAPY ON DENTISTRY**

### **ABSTRACT**

*Some diseases, such as genetic diseases, as well as viral infectious diseases, have been treated unsatisfied by the conventional therapy so far. Gene therapy may become an integral tool in dental practise early in 21<sup>st</sup> century. Gene therapy is a novel approach to treating diseases based on modifying the expression of genes toward a therapeutic goal. These biological therapies are expected to be applied to oral diseases and disorders during the midpractise lifetime of today's dental students. If the applications of oral gene transfer are expanded to systemic diseases, oral health care providers in the future could routinely be gene therapist with therapeutic targets well outside the oral cavity. There are some areas that developed in dentistry i.e. bone repair, autoimmune diseases, salivary glands, and many more. To deliver therapeutic gene into target cell, a vector is needed. This therapy usually using a viral vector and ex vivo or in vivo methods. It is important for dentists to recognize and pay attention to the advances taking place in the field of biotechnology, especially in genetic engineering. This field will change the future of dental practise within the next two decades by providing an advanced standard of care for the dental patients.*

**Keyword:** *Gene therapy, vector, gene transfer, gene therapeutics, dentistry.*



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Ilmu kedokteran gigi di Indonesia relatif masih muda umurnya tetapi dalam beberapa dekade terakhir ini telah menunjukkan kemajuan dan perkembangan yang cukup pesat. Apabila di masa lampau para dokter gigi lebih berorientasi kepada teknik perawatan berdasarkan pengalaman dan keterampilan, maka dalam masa perkembangan sekarang pola berpikir para dokter gigi telah berubah menjadi lebih diarahkan kepada pemecahan masalah biologis yang lebih modern. Salah satu teknik pengobatan yang tengah dikembangkan dewasa ini adalah terapi gen.

Pada dasarnya perawatan kedokteran gigi sekarang dapat digolongkan dalam tiga kelompok besar (1) Perawatan kuratif, yaitu tindakan pengobatan yang dilakukan untuk memperbaiki kondisi penyakit. Contoh: penumpatan karies, perawatan endodontik; (2) Perawatan rehabilitatif, yaitu tindakan pemulihan kondisi penyakit. Contoh: penggunaan bracket, pemakaian gigi tiruan sebagian dan lengkap, penggunaan jembatan (*bridge*); (3) Perawatan preventif dan promotif, yaitu tindakan yang ditentukan oleh baik penelitian ilmiah maupun empiris atau kombinasi keduanya. Contoh: aplikasi gel fluorida, obat kumur, *fissure sealant* (Houwink, 1993).

Terapi gen adalah salah satu cara perawatan berdasarkan tindakan gabungan kuratif serta rehabilitatif. Terapi ini merupakan cara pengobatan baru berdasarkan modifikasi ekspresi gen penderita untuk suatu tujuan terapeutik tertentu (Widodo, 2006). Terapi gen juga mengoreksi gen yang cacat yang bertanggung jawab terhadap suatu

penyakit (Malik, 2005). Di kedokteran gigi hingga saat ini ada tujuh area yang dikembangkan, yaitu: penyembuhan lesi tulang mandibula, kelenjar saliva, penyakit autoimun, nyeri, vaksinasi DNA, keratinosit dan kanker (Baum et.al, 2002).

Untuk memasukkan gen terapeutik ke dalam sel target (sasaran) diperlukan alat angkut yang disebut vektor (Widodo, 2006). Keberhasilan terapi gen salah satunya ditentukan pemilihan vektor yang tepat, karena vektor ini diharapkan dapat mentransfer gen yang diinginkan secara efisien dan aman. Pemilihan vektor ini tergantung dari sel target yang mengekspresikan produk transgenik dan metode yang akan dipakai, yaitu *ex vivo* atau *in vivo*. Selain vektor, yang perlu diperhatikan juga adalah sel target, karena ke dalam sel target gen akan diekspresikan (Widodo,2006).

Dari uraian di atas dapat diketahui bahwa terapi gen sebagai salah satu model perkembangan perawatan kuratif serta rehabilitatif sangat bermanfaat dalam bidang kesehatan khususnya kesehatan gigi. Hal inilah yang mendorong penulis untuk mengkaji lebih dalam perawatan tersebut khususnya terapi gen.

## **1.2 Permasalahan**

Bagaimana perkembangan terapi gen dalam bidang kedokteran gigi modern ?

## **1.3 Tujuan**

Untuk mengetahui perkembangan terapi gen dalam bidang kedokteran gigi modern.

#### **1.4 Manfaat**

Untuk menambah informasi tentang perkembangan terapi gen dalam dunia kedokteran gigi modern.



## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Terapi Gen**

Pengobatan dengan terapi gen telah berkembang dengan pesat sejak *clinical trial* yang pertama kali diperkenalkan pada tahun 1990 (Roberts, 2004). Terapi gen adalah teknik untuk mengoreksi gen yang cacat yang bertanggung jawab terhadap suatu penyakit (Malik, 2005). Terapi gen juga merupakan pengobatan baru berdasarkan modifikasi ekspresi gen penderita untuk suatu tujuan terapi tertentu (Widodo, 2006).

##### **2.1.1 Prinsip Dasar dan Pendekatan Terapi Gen**

Gen adalah suatu sekuens (urutan) basa spesifik yang menyandikan instruksi mensintesis suatu protein (Karthikeyan, 2006). Gen dibawa oleh kromosom dan merupakan unit fungsional herediter. Walaupun gen mendapatkan perhatian lebih banyak untuk diteliti, namun sesungguhnya protein yang mempunyai peran utama dalam melaksanakan fungsi kehidupan dan menyusun mayoritas struktur seluler. Jika suatu gen terganggu, protein yang disandikan menjadi tidak mampu melaksanakan fungsi normalnya, sehingga akan mengakibatkan suatu cacat genetik (Malik, 2005).

Menurut Holmes (2003) cit Malik (2005) pendekatan terapi yang berkembang saat ini adalah: (1) Menambahkan gen normal ke dalam sel yang mengalami ketidaknormalan; (2) Mengganti gen abnormal dengan gen normal dengan melakukan rekombinasi homolog; (3) Mereparasi gen abnormal dengan cara mutasi balik selektif, sedemikian rupa sehingga akan mengembalikan fungsi normal gen tersebut; (4) Mengendalikan regulasi ekspresi gen abnormal.

### 2.1.2 Teknik Transfer Gen

Secara garis besar ada 2 metode dalam transfer gen yaitu metode *ex vivo* dan *in vivo*;

#### Metode *ex vivo*

Seperti yang terlihat pada gambar 2.1, pada metode ini sel target dikeluarkan dari jaringan pasien, dibiakkan dalam metode tertentu dan diberi paparan dengan vektor yang telah disisipi gen yang akan ditransfer. Setelah dilakukan seleksi, sel transforman dimasukkan kembali ke dalam tubuh pasien. Metode ini akan berhasil jika target memenuhi syarat antara lain: (1) sel target mudah diisolasi dan dapat dikembalikan ke dalam tubuh kembali; (2) sel target cukup kuat dan stabil selama tindakan rekayasa genetik; (3) sel target mempunyai umur yang panjang.

#### Metode *in vivo*

Vektor yang telah mengandung gen asing langsung dimasukkan ke dalam jaringan dalam tubuh pasien, yang pada umumnya merupakan jaringan yang akan diterapi. Hal ini dilakukan jika sel target tidak dapat dibiakkan dalam medium dengan jumlah memadai atau sel transforman tidak dapat dimasukkan ke dalam tubuh pasien (Baum et al., 1998).



**Gambar 2.1** Sel target dan vektor (Karthikeyan, 2006)

### 2.1.3. Vektor Terapi Gen

Seperti yang telah dijelaskan di awal, terapi gen memerlukan sel target dan alat angkut untuk memasukkan gen terapeutik yang disebut vektor. Pemilihan vektor yang tepat merupakan kunci keberhasilan dari terapi gen. Vektor yang digunakan dibagi menjadi tiga bagian yaitu viral, non viral, dan metode hibrid. Vektor viral meliputi *retrovirus*, *adenovirus*, *adeno-associated virus*, dan *envelope protein pseudotyping virus*. Vektor non viral antara lain *naked DNA*, *oligodeoxynukleotides*, *lipoplexes*, dan *polyplexes*. Penggunaan virus dalam bidang biomolekuler sebagai alat angkut gen (vektor viral) telah dikembangkan sejak tahun 1970. Untuk menciptakan atau memproduksi vektor viral, gen virus yang menyebabkan terjadinya infeksi dieliminasi, sehingga menciptakan genom virus yang tidak mampu bereplikasi sesuai sifat aslinya. Pengeliminasian gen yang menginfeksi ini akan menyediakan ruang bagi gen terapeutik untuk ditanamkan ke dalam gen virus tanpa melibatkan sifat asli virus tersebut yaitu menginfeksi sel *host* (Edwards & Mason, 2006). Berikut ini penjelasan tentang beberapa vektor yang digunakan dalam terapi gen menurut Edwards & Mason (2006);

#### *Adenovirus*

*Adenovirus* termasuk grup I *double helix* (dua rantai) DNA virus dengan genom linear yang perkiraan panjangnya kurang lebih 36 kbp (Edwards et al., 2006). Penggunaan *adenovirus* dalam terapi gen disebabkan karena kemampuan produksinya yang besar. Namun, jenis virus ini mudah menimbulkan reaksi imunologis pasien dan kapasitas ruang gen terapeutik tidak terlalu besar.

### *Adeno-associated Virus (AAV)*

*AAV* adalah jenis *parvovirus* dan tiap genom terdiri dari satu rantai DNA (*single stranded*) yang panjangnya kurang lebih 4,7 kb. Ada beberapa serotipe dari *AAV* diantaranya *AAV 2* yang merupakan jenis yang paling banyak digunakan. Keuntungan penggunaan *AAV* adalah kemampuannya yang dapat mentransduksi berbagai macam tipe sel secara *in vivo* ataupun *in vitro*. Kekurangan *AAV* adalah kapasitasnya yang kecil dan susah diproduksi dalam skala besar.

### *Retrovirus*

Termasuk dalam grup VI klas RNA virus yang tidak begitu imunogenik. *Retrovirus* juga memiliki kemampuan mengintegrasikan dalam jangka waktu yang lebih lama dibandingkan virus lain. Namun virus ini memiliki kelemahan berupa tidak adanya protein yang bisa menembus membran nukleus saat mengintegrasikan sel sehingga sukar dilakukan perawatan dengan cara *in vivo*.

### *Lipoplexes dan oligoplexes*

Merupakan liposom buatan, pertama kali digunakan untuk mengantar DNA ke sel di awal 1980. Jenis vektor non viral ini mudah penggunaannya dan juga mudah direproduksi. Akan tetapi beberapa sel primer (neuron, sel dendritik, sel endotelial) tidak bisa menggunakan jenis vektor ini, biaya pengaplikasiannya sangat tinggi, dan metode terapi *in vivo* tidak bisa dilakukan.

### *Naked DNA*

Hanya berlaku pada sel otot dan tidak bisa dilakukan metode terapi *in vivo*

## 2.2 Aplikasi Terapi Gen

Menurut Baum et al. (2002) ada tujuh area yang dikembangkan di bidang kedokteran gigi yaitu penyembuhan lesi pada tulang mandibula, transfer gen pada kelenjar saliva, transfer gen pada penyakit autoimun, nyeri, vaksinasi DNA, transfer gen pada keratinosit, serta kanker leher dan kepala. Karthikeyan (2006) menyebutkan bahwa pengembangan terapi gen di bidang kedokteran gigi yang sedang diteliti antara lain adalah usaha peningkatan kontrol terhadap penyakit periodontal melalui vaksinasi, terapi gen untuk menumbuhkan gigi baru dengan cara meneliti protein yang merupakan struktur utama gigi; pendekatan genetik untuk biofilm antibiotik resisten, dan terapi gen antimikrobal untuk mengontrol peningkatan penyakit.

### 2.2.1 Penyembuhan Lesi pada Tulang Mandibula

Metode yang digunakan adalah metode *ex vivo* untuk transfer gen yang mengkode BMP (*Bone Morphogenic Protein*). BMP merupakan agen yang dipakai untuk menginduksi pembentukan tulang ortopik maupun ektopik. Pada binatang coba, para peneliti dapat menunjukkan beberapa tipe sel yang berbeda antara lain *fibroblast nonosteogenik* (dari gingiva manusia dan pulpa gigi) dan *mioblast* seperti halnya dengan *osteoblast*, dimana sel tersebut dapat mengekspresikan gen BMP7 setelah diinfeksi dengan vektor *adenovirus*. Studi lainnya dilakukan Gazid et al.(1992) di *Faculty of Dental Medicine Hebrew University* adalah dengan menggunakan terapi gen yang diperantarai sel stem mesenkimal untuk regenerasi tulang (Widodo, 2006). Secara genetik sel stem mesenkimal yang dibentuk mengekspresikan BMP2 yang menyebabkan peningkatan pembuluh darah baru dan jaringan tulang baru. Studi ini secara genetik juga menunjukkan bahwa sel stem yang dibentuk mampu untuk dicangkokkan,



berdeferensiasi, dan bertindak sebagai regulator. Sel stem secara langsung menyampaikan gen BMP2 pada jaringan memakai vektor *adenovirus* dengan metode *in vivo* dan selanjutnya dapat menyebabkan penyembuhan pada kelainan tulang mandibula dalam waktu 3 bulan (Baum et al., 2002).

### 2.2.2 Transfer Gen pada Kelenjar Saliva

Kelenjar saliva merupakan target penting untuk transfer gen, karena mempunyai kemampuan untuk menghasilkan sejumlah protein. Tujuan awal pengembangan transfer gen pada kelenjar saliva adalah untuk mencari metode terapi yang baru dan efektif bagi pasien yang menderita disfungsi kelenjar saliva *irreversible* yang disebabkan oleh radiasi akibat kanker leher dan kepala atau adanya kelainan autoimun yang terjadi akibat sindroma Sjogren (Baum et al., 2002).

Kehilangan jaringan atau fungsi dari kelenjar saliva akibat terapi radiasi atau akibat sindroma Sjogren sedikit banyak akan mengurangi kualitas hidup. Salah satu cara mengatasinya adalah dengan pengaplikasian terapi gen sehingga sel non sekretori yang ada sebagai akibat terapi radiasi tadi bisa menjadi sel sekretori yang dapat menghasilkan cairan saliva (Kaigler, 2001). Baum & O'Connel (1999) baru-baru ini mengembangkan kelenjar saliva artifisial (buatan) dari *polimer tube* dengan cara transplantasi sel. Sel tersebut diaplikasikan (*engraft*) pada mukosa bukal pasien yang mengalami disfungsi kelenjar saliva akibat terapi radiasi. Sel tersebut memiliki kapasitas fisiologis untuk mengalirkan cairan saliva yang dibutuhkan mulut melalui mukosa bukal.

Salah satu fungsi saliva yang lain adalah melindungi jaringan saluran *gastrointestinal* atas. Meskipun saliva memiliki banyak peran menguntungkan seperti antimikrobia, lubrikasi, dan remineralisasi; saliva juga bisa menimbulkan penyakit

misalnya sebagai tempat berkembang biak bakteri penyebab karies, penyakit periodontal, *ulcus apthous*, dan *oral candidiasis* (Baum et al., 1998). Walaupun saat ini banyak ditemukan cara untuk mengatasi gejala yang timbul akibat penyakit tersebut secara konvensional, tetap diperlukan cara yang lebih efektif untuk menyembuhkan penyakit tersebut, salah satunya dengan terapi gen.

Sebagai contoh untuk *oral candidiasis*, dokter gigi saat ini akan lebih memilih menggunakan obat antijamur (*fluconazole*). Terapi gen merupakan salah satu alternatif pengobatan yang dapat digunakan untuk perawatan *oral candidiasis*. Saliva mengandung protein antikandida yang disebut *histatin*. Protein ini dipercaya bisa membantu mengontrol flora rongga mulut pasien AIDS yang menderita *candidiasis*. Peneliti menggunakan rekombinan *adenovirus* untuk mengkode *histatin* (Baum et al., 1998).

### 2.2.3 Transfer Gen pada Penyakit Autoimun

Menurut Bellanti (1993), penyakit autoimun menggambarkan kumpulan penyakit yang kurang didefinisikan, kurang dimengerti yang mempunyai manifestasi antibodi atau hipersensitifitas lambat terhadap unsur pokok tubuh (fenomena autoimun) yang sama. Biasanya dikelompokkan dalam kelompok penyakit yang melibatkan sistem multipel (penyakit multi sistemik) dan kelompok penyakit yang terbatas pada satu organ (spesifik organ). Penyakit sistemik adalah penyakit autoimun yang melibatkan lebih dari satu organ. Beberapa jenis penyakit ini antara lain lupus eritematosus sistemik (LSE), reumatoid arthritis, sindroma Sjogren, sklerosis sistemik progresif, dan lain-lain.

Sindroma Sjogren adalah penyakit autoimun yang sangat berperan dalam destruksi jaringan kelenjar saliva dan ditandai dengan penurunan aliran saliva (Ibsen, 1996). Sindroma Sjogren bercirikan infiltrasi limfosit dan kelenjar ludah dan kelenjar

lakrimal yang mengakibatkan *dry mouth* dan *dry eyes* (Stites, et al., 1993; Zipp, et al., 1999; Mellors, 2001). Menurut Rhodus (1999), sindroma Sjogren merupakan gangguan autoimun progresif yang penyebabnya secara pasti belum diketahui.

Sampai saat ini belum diketahui etiologi yang pasti, tetapi faktor yang diduga sebagai penyebab timbulnya sindroma Sjogren adalah gangguan autoimun yang merupakan kombinasi kelainan genetik multifaktorial dan hormonal (Shafer, et al., 1983; Samter, et al., 1988; Roussos, 1992). Faktor genetik multifaktorial meningkat pada predisposisi penyakit autoimun yang melibatkan tipe jaringan HLA-DR (Roitt, 1994). Aplikasi transfer gen melalui modulasi imun tampaknya mempunyai potensi untuk perawatan penyakit autoimun. Penggunaan vektor *adenovirus* pada penyakit autoimun menimbulkan reaksi imunologi pada pasien sehingga untuk mengatasi masalah ini digunakan virus rekombinan seperti *AAV serotype 2* sebagai vektor pilihan (Goldsmith et al., 2000). Pertimbangan ini didasarkan bahwa vektor *AAV* kurang imunologik dibandingkan vektor *adenovirus* (Baum et al., 2002).

#### 2.2.4 Nyeri

Mengatasi atau mengeliminasi nyeri adalah salah satu tugas utama dalam praktek kedokteran gigi. Teknologi transfer gen menawarkan pendekatan baru melalui manipulasi spesifik dengan melokalisir jalur biokimia penyebab nyeri. Transfer gen terutama digunakan untuk mengatasi nyeri kronik dan yang tidak dapat ditolerir. Studi pada binatang coba menunjukkan bahwa transfer gen dengan menggunakan vektor virus yang mengkode peptida opium pada saraf perifer dan pusat berpengaruh terhadap efek *antinociceptif*. Studi lain menyatakan bahwa untuk mengatasi nyeri dapat dimungkinkan

melalui pengiriman gen langsung pada permukaan *temporomandibular joint* (Widodo,2006).

### 2.2.5 Vaksinasi DNA

Studi pada binatang coba dengan imunisasi sasaran kelenjar saliva dengan menggunakan *plasmid* DNA yang mengkode gen *fimbria Porphyromonas gingivalis* menunjukkan bahwa *Immunoglobulin A* (Ig A) yang disekresi pada saliva dapat menetralsir kemampuan *Porphyromonas gingivalis* dalam bentuk plak gigi. Protein *fimbria* yang disekresi pada saliva dapat bergabung dengan komponen pelikel sehingga menghambat perlekatan *Porphyromonas gingivalis* dengan plak (Baum et al., 2002).

### 2.2.6 Transfer Gen pada Keratinosit

Ada beberapa keistimewaan mengapa terapi gen dilakukan pada keratinosit epidermal dan mukosal serta dipakai untuk perawatan kelainan jaringan lokal dan sistemik. Pertama, dapat dipantau dengan mudah karena secara genetik jaringan yang dimodifikasi mudah diperoleh; kedua, kemungkinan akan keberhasilan terapi gen ini secara klinik lebih mudah diduga sejak dilakukan kultur; ketiga, ekspresi gen terapeutik dapat dilakukan melalui aplikasi gen secara topikal; keempat, prosedur transplantasi keratinosit dapat dilakukan pada pasien dengan luka bakar (Baum et al., 2002).

Studi klinis transfer gen terutama difokuskan pada jaringan kulit manusia. Metode yang dilakukan adalah *ex vivo* dengan menggunakan vektor *retrovirus*. Terapi gen ini juga dapat dilakukan untuk kelainan kulit yang lain seperti *ichthyosis* dan *epidermolisis bullosa*. Terapi gen keratinosit untuk mengganti kulit protein yang hilang dapat dilakukan baik pada mukosa maupun kutan. Mizuno et al. (1999) cit Widodo (2006) menggunakan vektor *retrovirus* untuk mengekspresikan faktor IX pada kultur keratinosit mukosa mulut

manusia. Caranya adalah sebagai berikut, epitel diambil, dicangkokkan pada mencit yang mengalami defisiensi imun. Tiga minggu kemudian faktor IX terdeteksi pada plasma mencit dan secara biologis aktif. Ghazizadeh & Taichman (2000) cit Widodo (2006) juga menggunakan epidermal kulit manusia untuk mengembangkan produk transgenik antara lain *human apolipoprotein*, factor IX, *growth hormon*, dan IL 10 dan diperoleh melalui perantara darah mencit dan tikus.

### 2.2.7 Kanker Leher dan Kepala

Tumor adalah setiap benjolan abnormal dalam tubuh (Underwood, 1992; Djatmiko, 1993). Aditama (1992) mengatakan bahwa sekumpulan sel yang abnormal yang terbentuk oleh sel yang tumbuh terus menerus secara tidak terbatas, tidak terkoordinasi dengan sel jaringan tubuh disekitarnya dan tidak berguna bagi tubuh disebut tumor. Neoplasia adalah kata lain dari tumor, berasal dari kata *neo*, artinya baru, dan *plasia* yang artinya pertumbuhan. Sehingga neoplasia berarti pertumbuhan yang baru di luar jaringan yang normal. Terdapat dua jenis tumor, yaitu jinak dan ganas. Disebut jinak apabila kecepatan pembelahan selnya relatif tidak terlalu tinggi dan sel hasil pembelahan yang cepat tersebut masih menunjukkan keabnormalan yang relatif rendah. Tumor jinak biasanya terbungkus oleh semacam selaput yang membuat jaringan atau kumpulan sel tumor ini terpisah dengan jaringan normal di sekitarnya dan tidak dapat menyebar ke bagian tubuh yang lain. Hal ini yang menyebabkan tumor jinak umumnya relatif mudah diangkat dengan jalan pembedahan.

Sebaliknya tumor ganas kecepatan pembelahannya sangat tinggi dan selnya menunjukkan keabnormalan yang relatif besar. Tumor ganas biasanya tidak terbungkus oleh selaput seperti tumor jinak sehingga sukar diangkat sampai bersih melalui

pembedahan. Cara pengobatannya antara lain dengan penyinaran atau kemoterapi, yaitu pengobatan dengan zat kimia yang bekerja membunuh sel tumor. Tumor ganas inilah yang biasanya dikenal dengan sebutan kanker. Secara harfiah neoplasma atau kanker merupakan suatu pertumbuhan baru (JJ.Rippey, 1994; Cotran, 1999). Kanker dianggap suatu kelompok penyakit seluler dan genetik karena dimulai dari satu sel yang telah mengalami kerusakan genetik dan tidak peka lagi terhadap mekanisme regulasi siklus sel normal sehingga akan terus melakukan proliferasi tanpa kontrol.

Mutasi yang terjadi pada DNA di dalam gen yang mengatur siklus sel (pertumbuhan, kematian, dan pemeliharaan sel) akan menyebabkan penyimpangan siklus sel dan salah satu akibatnya adalah pembentukan karsinogen. Ada faktor penting pada proses terjadinya mutasi gen yaitu: (1) faktor lingkungan yang meliputi nutrisi, agen, infeksi, gaya hidup; (2) faktor kebetulan; (3) faktor genetik.

Faktor lingkungan seperti gaya hidup dan pola makan berkorelasi dengan insiden kanker, misal paparan sinar ultraviolet dengan kanker kulit. Pada kanker yang etiologinya didasarkan oleh aspek genetik biasanya terjadi perubahan susunan nukleotida dalam gen pengatur pertumbuhan dan diferensiasi. Perubahan itu berupa *deletion-addition-insertion-translocation-transposition* dan sebagainya. Perubahan atau kerusakan itu dapat terjadi saat fertilisasi, embriogenesis atau setelah dewasa. (Djarmiko, 1993).

Kemajuan bidang terapi gen mengatasi kanker melalui transfer gen dengan cara ekspresi produk gen yang dapat mematikan sel kanker. *Adenovirus* menginfeksi sel yang tidak dapat bergerak dan menginduksi dalam fase sintesis yang merupakan fase replikasi DNA dalam siklus sel sehingga replikasi DNA dapat berhasil. *Adenovirus* mengandung protein *E1A* yang dapat memaksa masuk dalam fase sintesis. *Adenovirus* menggunakan

protein regulator *E1BSSDa* untuk bergabung dan menginaktivasi protein p53 sel inang. Adanya interaksi ini menyebabkan *adenovirus* masuk kembali dalam proses sintesis sel dan memungkinkan terjadi replikasi virus yang berakibat sel mengalami lisis untuk membebaskan *adenovirus* salinan. Vektor *adenovirus* pada sel tumor yang mengandung p53 normal dapat menguntungkan karena produk gen *E1A adenovirus* akan menggerakkan sel tumor dalam fase sintesis sehingga sel tumor menjadi lebih sensitif terhadap kemoterapi konvensional (Widodo, 2006).

### 2.3 Problematika

Setiap muncul teknologi baru di bidang ilmu pengetahuan selalu akan diiringi dengan timbulnya masalah akibat ide tersebut. Beberapa masalah yang mungkin muncul akibat pengaplikasian terapi gen selain etikanya adalah (1) Kemampuan hidup sel yang pendek; (2) Respon imun; (3) Vektor viral; (4) Cacat multigen; (5) Kemungkinan timbul penyakit baru ([http://www.en.wikipedia.org/wiki/gene\\_therapy](http://www.en.wikipedia.org/wiki/gene_therapy), 2006).

Selain beberapa hal di atas menurut Karthikryan (2006) faktor yang membatasi penggunaan terapi gen adalah: (1) Masalah dengan vektor viral seperti toksisitas pasien, respon imun dan peradangan, kontrol gen dan sel target; (2) Terbatasnya jumlah gen yang dapat ditransfer; (3) Biaya yang besar; (4) Pembatasan etika (Karthikeyan, 2006).

#### 2.3.1 Kemampuan Hidup Sel yang Pendek

Sebelum terapi gen menjadi alat penyembuh berbagai kondisi penyakit, DNA terapeutik yang akan dimasukkan (vektor) harus tetap berfungsi dan sel yang berisi DNA terapeutik tersebut harus tetap dalam keadaan bertahan lama dan stabil. Kecepatan

membelah dari sel mencegah terapi gen untuk memperoleh manfaat di jangka panjang (Hunt, et al., 2004).

### 2.3.2 Respon Imun

Fungsi utama sistem imun adalah mengenali dan menyerang antigen asing (*non host*) yang meliputi beberapa protein, polisakarida, dan asam nukleat (Connor, et al., 1997). Resiko peningkatan kerja sistem imun akan mengurangi kemampuan terapi gen. Lebih lanjut sistem imun yang merespon benda asing yang telah masuk sebelumnya membuat terapi gen susah diulang pada pasien.

### 2.3.3 Vektor viral

Virus dapat menimbulkan masalah pada pasien berupa toksisitas, respon inflamasi, dan lain-lain. Dalam tubuh pasien virus yang digunakan sebagai vektor dikhawatirkan justru menimbulkan penyakit baru.

### 2.3.4 Cacat Multigen

Cacat yang timbul akibat mutasi gen yang telah diperbarui dengan DNA terapeutik merupakan kandidat gen yang paling baik untuk terapi gen. Pada beberapa penyakit seperti penyakit jantung, arthritis, diabetes, dan sebagainya terdapat beberapa kombinasi variasi gen. Cacat multigen ini yang akan menyebabkan terapi gen berkurang keefektifannya ([http://www.en.wikipedia.org/wiki/gene\\_therapy](http://www.en.wikipedia.org/wiki/gene_therapy),2006).

### 2.3.5 Kemungkinan Timbulnya Penyakit Baru

Apabila DNA diintegrasikan atau ditempatkan pada tempat yang salah pada genom, misalnya gen yang meningkatkan tumor maka hal ini akan memacu timbulnya penyakit atau tumor baru. *Adenovirus* sebagai vektor dari terapi gen seringkali dikenali dan dihancurkan oleh sistem imun sedangkan vektor lainnya seperti *retrovirus* bisa



dengan mudah berkembang biak mengikuti proses biologisnya dan menimbulkan penyakit baru (Hunt, 2004).



## BAB III

### PEMBAHASAN

Usaha untuk menanggulangi penyakit gigi senantiasa dilakukan, mulai dari cara yang sederhana sampai yang paling rumit. Seiring dengan berkembangnya peradaban maka ilmu kedokteran gigi khususnya teknologi pengobatan juga berkembang ke arah yang lebih menjanjikan untuk mengimbangi jenis penyakit yang juga semakin tidak sederhana. Teknologi yang saat ini masih baru dan berkembang dengan baik adalah terapi gen. Pengobatan dengan terapi gen meliputi pengobatan dengan cara menyingkirkan gen yang abnormal dan digantikan dengan gen yang normal.

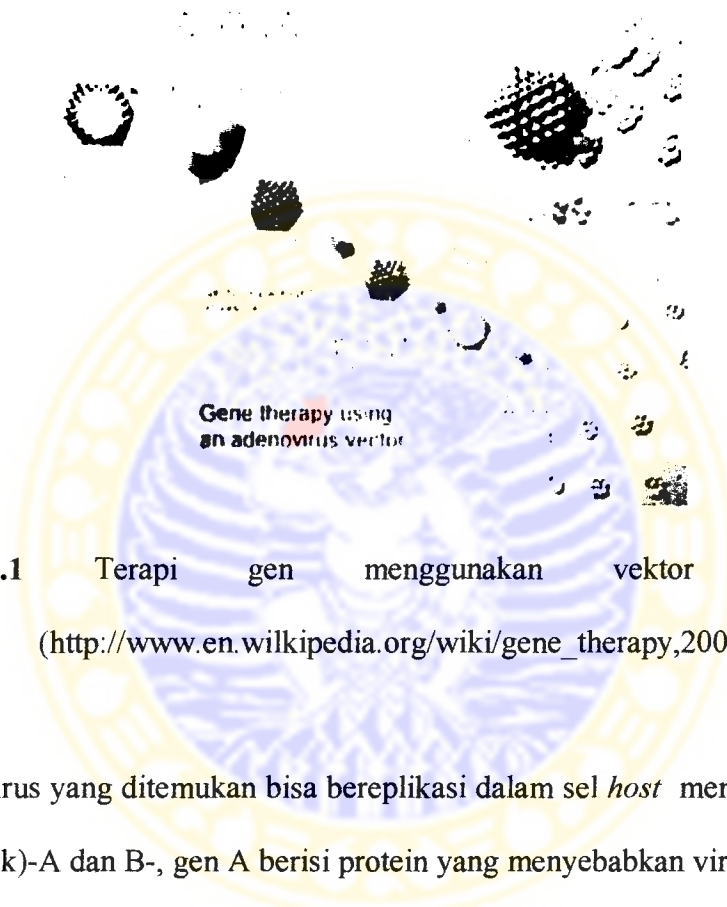
Beberapa penelitian yang dilakukan di Eropa dan Amerika Serikat menunjukkan perkembangan yang signifikan dari terapi ini. Perkembangan bidang terapi gen termasuk didalamnya tujuh area bidang kedokteran gigi yang meliputi perbaikan tulang, kelenjar saliva, penyakit autoimun, nyeri, vaksinasi DNA, keratinosit dan kanker. Selain itu menurut Karthikeyan (2006) juga sedang dikembangkan vaksinasi untuk mengatasi penyakit periodontal, antimikrobial untuk penyakit periodontal bahkan juga usaha untuk menumbuhkan gigi baru melalui manipulasi DNA. Penelitian tersebut yang dilakukan pada hewan coba menunjukkan hasil yang signifikan dan terus berkembang sehingga diharapkan pada tahun 2015 sudah diperoleh hasil yang diinginkan. Studi transfer gen yang berhubungan dengan pengobatan kanker leher dan kepala merupakan bidang yang paling berkembang di antara yang lain dan sudah masuk dalam taraf percobaan pada manusia.

Menurut Brown (1995) dan Lewis (1997) terdapat dua tipe terapi gen yaitu terapi sel *germline* dan sel somatik. Sel *germline* (misalnya sel sperma, ovarium dan

prekursor *stem cell*) dilakukan diluar tubuh dengan cara telur yang telah dibuahi diberikan *copy* gen yang dikoreksi kemudian ditanamkan lagi pada induknya. Jika sukses maka gen yang diinginkan akan muncul pada individu yang dihasilkan. Terapi sel *germline* dapat memperbaiki dan memanipulasi gen yang menimbulkan penyakit, sehingga hasil perbaikan tersebut bisa diturunkan pada individu selanjutnya. Tetapi hal ini masih menjadi kontroversi sehubungan dengan pertentangan bahwa manipulasi gen bisa digunakan bukan untuk tujuan medis atau pengobatan (Brown, 1995; Watson & Gilman, 1996). Sedangkan terapi sel somatik (hampir semua sel dalam tubuh) lebih banyak digunakan. Secara garis besar terapi ini dibagi dalam dua kategori yaitu metode *ex vivo*, yang memodifikasi sel di luar tubuh dan ditransplantasikan kembali, dan metode *in vivo*, yaitu mengubah gen dari sel yang masih ada di dalam tubuh. Rekombinasi berdasarkan metode *in vivo* biasanya cukup susah dan jarang dilakukan karena DNA rekombinasi memiliki kemungkinan yang kecil ([http://www.en.wikipedia.org/wiki/gene\\_therapy](http://www.en.wikipedia.org/wiki/gene_therapy), 2006).

Menurut Baum et al. (2002), terapi gen umumnya menggunakan virus sebagai vektor. Selain virus, terdapat juga vektor *non viral* seperti *oligonucleotides*, *lipoplexes*, dan *polyplexes*. Vektor sendiri merupakan alat angkut yang membawa gen terapeutik ke dalam sel target. Beberapa virus yang digunakan sebagai vektor antara lain *retrovirus*, *adenovirus*, *adeno-associated virus*, dan sebagainya. Virus menyerang sel *host* dan memperkenalkan material genetiknya sebagai bagian dari siklus replikasi. Material genetik virus berisi instruksi dasar cara mereplikasi virus, merusak sel normal untuk kebutuhan nutrisi virus. Sel *host* membawa instruksi dasar ini dan menyebabkan proses replikasi virus semakin besar dan akhirnya sel akan terinfeksi. Beberapa tipe virus seperti ini akan memasukkan material genetiknya ke dalam genom dari sel *host*. Dasar inilah yang dipakai dokter dan ilmuwan sebagai alat untuk

membawa gen terapeutik ke dalam sel tubuh. Caranya adalah dengan menghilangkan gen virus yang menyebabkan penyakit dan menggantinya dengan kode gen yang diinginkan (misalnya produksi insulin pada diabetes). Untuk lebih mudahnya digambarkan sebagai berikut:



**Gambar 3.1** Terapi gen menggunakan vektor *adenovirus*  
([http://www.en.wikipedia.org/wiki/gene\\_therapy,2006](http://www.en.wikipedia.org/wiki/gene_therapy,2006))

Suatu virus yang ditemukan bisa bereplikasi dalam sel *host* memiliki dua gen (material genetik)-A dan B-, gen A berisi protein yang menyebabkan virus bereplikasi pada genom dari *host*, sedangkan gen B menyebabkan timbulnya penyakit yang biasanya dibawa oleh virus ini. Gen C adalah gen normal atau yang diinginkan untuk menggantikan tempat gen B. Kemudian dengan teknik tertentu gen B digantikan oleh gen C sementara gen A tetap melakukan tugasnya untuk bereplikasi sehingga virus ini bisa memperkenalkan gen yang telah diperbaiki tanpa menimbulkan penyakit.

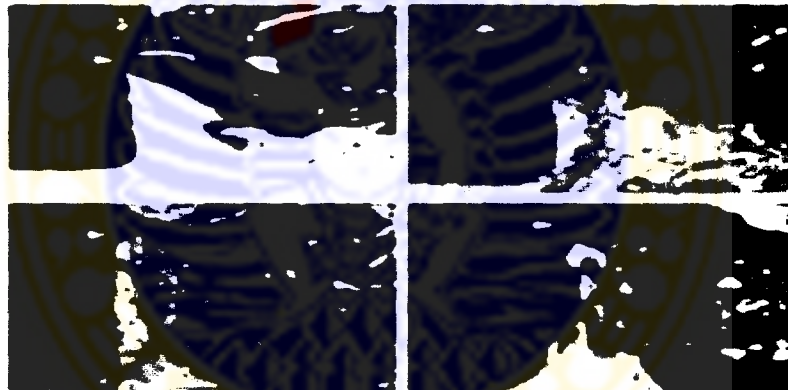
Tentu saja masalah yang timbul kemudian adalah memastikan sel target yang dituju sudah tepat dan gen terapeutik yang dimasukkan tidak mengganggu gen vital

yang telah ada pada sel *host*. Masalah lain yang mungkin timbul adalah sistem imun dari sel *host* karena bagaimanapun juga setiap benda asing yang masuk ke dalam tubuh akan melalui proses *scanning* pertahanan tubuh (imun sistem). Baum et al. (2002) dan Karthikeyan (2006) mengungkapkan bahwa vektor yang ideal harus bisa langsung menuju sel target, mengekspresikan produk *transgene* (protein) pada level terapeutik, bisa diawasi perkembangannya, tidak menunjukkan toksisitas, dan tidak menyerang sel yang disisipi.

Dewasa ini selain virus, penelitian yang dilakukan juga menunjukkan hasil yang signifikan pada penggunaan bakteri *E.coli* sebagai alat angkut gen. *E.coli* merupakan anggota bakteri yang dikenal sebagai mikrobia normal tubuh manusia. Bakteri ini tidak bersifat patogen selama dalam usus dan bahkan menurut Sujono cit Ambarwati & Susianawati (2006) bersifat simbiosis mutualisme dengan manusia. Penemuan ini baru terbatas pada penyakit Diabetes Melitus (Ambarwati & Susianawati, 2006). Metode transfer gen terbagi dalam 3 kategori antara lain konjugasi, transformasi, dan transduksi. Konjugasi merupakan perpindahan DNA dari satu sel (sel donor) ke dalam sel bakteri lainnya (sel resipien) melalui kontak fisik antara kedua sel. Transformasi adalah cara pengambilan DNA oleh bakteri dari lingkungan di sekelilingnya. Transduksi merupakan cara pemindahan DNA dari satu sel ke dalam sel lainnya melalui perantaraan *fage*. Beberapa jenis virus berkembang biak di dalam sel bakteri. Virus yang inangnya adalah bakteri seringkali disebut *bakteriofage*.

Pengobatan dengan terapi gen telah berkembang pesat sejak *clinical trial* pertama pada tahun 1990. Pada tahun 1995, Baum dan Money, mempublikasikan artikel tentang dampak terapi gen di bidang kedokteran gigi. Mereka mengembangkan tujuh area termasuk didalamnya penyembuhan lesi tulang mandibula. Studi yang

dilakukan di *University of Michigan School of Dentistry* oleh Baum&Money (1995) ini berhasil mengkode protein morfogenik tulang atau *Bone Morphogenetic Protein* (BMP) secara *ex vivo*. BMP merupakan agen yang dipakai untuk menginduksi pembentukan tulang pada masa embrionik dan *postnatal*. BMP juga berperan dalam perkembangan dan perbaikan jaringan ekstraskletal seperti otak, ginjal, dan saraf. BMP-7, salah satu bagian dari BMP yang juga dikenal sebagai *osteogenic protein-1*, menstimulasi regenerasi tulang sekitar gigi, *endosseous dental implant*, dan juga proses augmentasi dasar sinus maksilaris. Pada gambar 3.2 tampak gambaran histologis dari pembentukan tulang mandibula yang telah disisipi BMP-7 saat *dental implant osteotomy* pada *animal model*.



**Gambar 3.2** Gambaran histologi pembentukan tulang mandibula setelah dilakukan terapi gen (Dunn, 2005).

Teknik lain yang digunakan selain pemakaian virus sebagai vektor adalah penggunaan sel stem sebagai alat angkut gen ke dalam sel (*gene delivery*). Menurut Saputra (2006), sel stem adalah sel yang tidak atau belum terspesialisasi yang mempunyai dua sifat yaitu: (1) kemampuan untuk berdeferensiasi (*differentiate*). Dalam hal ini sel stem mampu berkembang menjadi berbagai jenis sel matang, misal

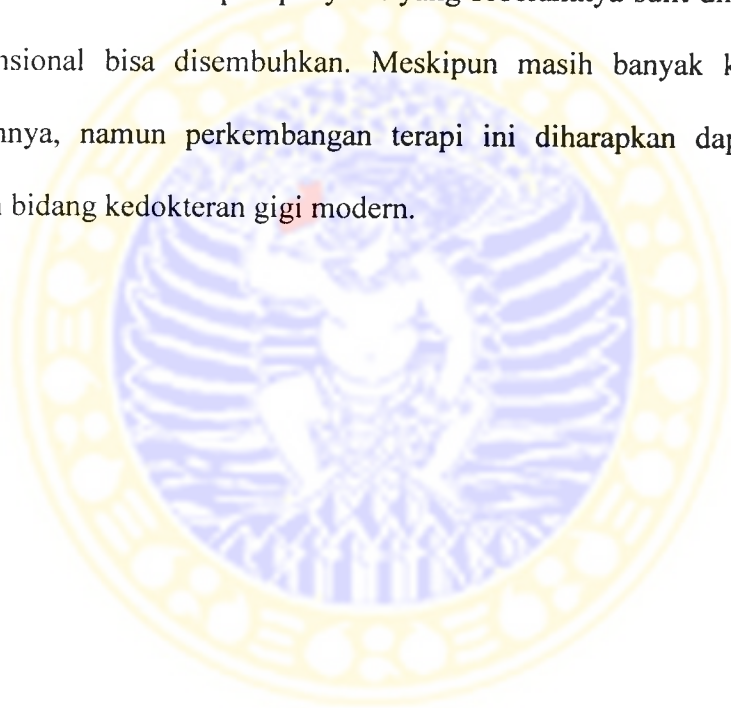
sel saraf, sel otot jantung, sel otot rangka, sel pankreas, dan lain-lain; (2) kemampuan untuk memperbaharui atau meregenerasi dirinya sendiri (*self-regenerate/self-renew*). Dalam hal ini sel stem dapat membuat salinan sel yang persis sama dengan dirinya melalui pembelahan sel. Pada teknik ini sel stem dimanipulasi di laboratorium sehingga dapat menerima gen yang bisa merubah sifat asli sel stem. Contohnya gen yang mempunyai kemampuan adaptasi terhadap proses kemoterapi disisipkan pada sel stem sehingga pasien nantinya akan memproduksi protein yang bisa mengatasi efek dari kemoterapi.

Berdasarkan pendapat Malik (2005) dan Karthikeyan (2006) pendekatan terapi gen yang berkembang untuk mengoreksi gen abnormal dilakukan dengan empat cara yaitu menambahkan gen normal ke dalam sel yang mengalami ketidaknormalan, gen abnormal dilenyapkan dengan rekombinasi homolog dan diganti dengan gen normal, mereparasi gen abnormal dengan mutasi balik selektif, dan mengendalikan regulasi ekspresi gen abnormal.

Meskipun teknologi terapi gen membawa harapan baru dalam bidang kedokteran gigi, masih banyak kendala yang dihadapi antara lain kemampuan hidup vektor yang pendek. Vektor yang berupa virus biasanya lebih dulu mati karena bekerjanya sistem imun sebelum berfungsi pada sel target. Perkembangan terapi gen yang terkini untuk penyakit adalah lebih ke arah gagasan mencegah diekspresikannya gen yang abnormal atau dikenal dengan *gene silencing*. *Gene silencing* adalah suatu proses membungkam ekspresi gen yang pada mulanya diketahui melibatkan mekanisme pertahanan alami pada tanaman untuk melawan virus (Malik, 2005). Menurut Adams (2005) cit Malik (2005), untuk tujuan *gene silencing*, maka penggunaan RNA jika dibandingkan dengan DNA lebih baik, sehingga dikenal istilah RNA teraupetik. Elbashir (2001) cit Malik (2005) menunjukkan suatu studi di majalah

Nature bulan Mei 2001 yang membuktikan bahwa RNA dapat mencegah ekspresi gen lebih efektif daripada DNA. Gagasan terapi gen dengan mereparasi mRNA (*messenger* RNA) daripada mengganti gen yang cacat berarti menggunakan mekanisme regulasi sel itu sendiri, sehingga efek samping yang merugikan lebih dapat ditekan (Penman, 2002). Namun, Pray & Wang (2004) cit Malik (2005) memperkirakan masih sekitar tujuh sampai limabelas tahun lagi teknik baru ini bisa terealisasi.

Terapi gen telah membawa harapan baru dalam bidang kedokteran gigi karena dengan terapi ini kelainan maupun penyakit yang sebelumnya sulit dikoreksi dengan teknik konvensional bisa disembuhkan. Meskipun masih banyak kendala dalam pengaplikasiannya, namun perkembangan terapi ini diharapkan dapat membantu perkembangan bidang kedokteran gigi modern.





## **BAB IV**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **4.1 Kesimpulan**

Terapi gen merupakan pengobatan baru berdasarkan modifikasi ekspresi gen penderita untuk suatu tujuan terapi tertentu. Dalam bidang kedokteran gigi telah dikembangkan tujuh area yang diharapkan bisa memperbaiki ilmu pengobatan kedokteran gigi konvensional diantaranya vaksinasi DNA, kanker leher dan kepala, penyembuhan lesi mandibula, dan lain-lain. Terapi ini juga memunculkan masalah diantaranya ketidakstabilan sel yang telah disisipi gen terapeutik, viral vektor sampai biaya yang cukup mahal. Terapi gen sebagai alternatif jenis perawatan penyakit dalam kedokteran gigi perkembangannya cukup menjanjikan meskipun banyak kelemahan sehingga perlu diteliti lebih lanjut keamanan dalam pengaplikasiannya.

#### **4.2. Saran**

Di Indonesia khususnya bidang biomolekuler masih perlu dikembangkan dan diteliti lebih lanjut dalam pengaplikasiannya, termasuk didalamnya terapi gen yang merupakan bidang baru dan modern di kedokteran gigi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aditama, T.Y. 1992. *Kanker Paru*. Arcan, Jakarta. 5-6.
- Ambarwati & Susianawati, Novilia. 2006. *Kemajuan Iptek Untuk Kemashalatan Umat*. [http://eprints.ums.ac.id/88/01/KEMAJUAN\\_IPTEK\\_SUHUF\\_BAIK.doc](http://eprints.ums.ac.id/88/01/KEMAJUAN_IPTEK_SUHUF_BAIK.doc).
- Anonymous. 2006. *Gene Therapy*. Wikipedia, free encyclopedia. [http://www.en.wikipedia.org/wiki/gene\\_therapy](http://www.en.wikipedia.org/wiki/gene_therapy). (Accessed September 30,2006).
- Baum, B.J., Atkinson, J.C., Lorena, B., Berkman, Mark E., Brahim, Jaime., Davis, Clifford., Lancaster, Henry E., Marmary, Yitzhak., O'Connel, Anne., O'Connel, Brian., Wang, Songlin., Xu, Yanying., Yamagishi, Hisako., Fox, Philip. 1998. *The Mouth Is A Getaway To The Body: Gene Therapy in 21<sup>st</sup> Century dental Practise*. Journal of The California Dental Association.
- Baum,B.J & O'Connel, B.C. 1999. *In Vivo Gene Transfer to Salivary Glands*. Crit Rev Oral Bio Med. 10:276-83.
- Baum, B.J., Tran,D.S., Yamano,Seichii. 2002. *The Impact of Gene Therapy on Dentistry: A Revisiting After Six Years*. J Am Dent Assoc Vol.133.35-44.
- Bellanti, Joseph A. 1993. *Immunology III*. W.B. Saunders Company, Philadelphia. p: 442-480.
- Brown, T.A. 1995. *Gene Cloning: An Introduction 3<sup>rd</sup> Ed*. Chopman & Hall, United Kingdom. p: 291-294.
- Connor, Michael & Smith, Malcolm F. 1997. *Essential Medical Genetics 5<sup>th</sup> ed*. Blackwell Science, United Kingdom. P: 150.
- Cotran, R.S., Kumar, V. 1999. *Robbins Pathologic Basis of Disease 4<sup>th</sup> ed*. W.B. Saunders Company, Philadelphia. p: 239-306.

- Djarmiko, A. 1993. *Kuliah Klasikal Onkologi*. Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya. 7-14.
- Dunn, Courtney A., et.al. 2005. *BMP Gene Delivery for Alveolar Bone Engineering at Dental Implant Defects*. Journal Molecular Therapy 11. 294-299.
- Edwards, Paul C. & Mason, James C. 2006. *Gene Enhanced Tissue Engineering for Dental Hard Tissue Regeneration: Overview and Practical Considerations*. Head Face Med.2:12.
- Goldsmith, CM., Baum, BJ., Hoque, AT. 2000. *Salivary Glands As A Model For Craniofacial Application of Gene transfer*. Int J Oral Maxillofac Surg.29:163-6.
- Houwink,B., Dirks,B.O., et.al. 1993. *Ilmu Kedokteran Gigi Pencegahan*. Cetakan pertama, terjemahan Prof.drg.Sutatmi Suryo. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta. 371-403.
- Hunt, Katherine, et.al. 2004. *Gene Therapy: an Overview*. Gale Encyclopedia of Medicine. <http://www.genetherapy.htm>. (Accessed September 2, 2006).
- Ibsen, O.A.C., Phelan, Joan A. 1996. *Oral Pathology For The Dental Hygienist 2<sup>nd</sup> ed*. W.B.Saunders Company, Philadelphia. 158.
- JJ, Rippey. 1994. *General Pathology, revised edition*. Withwaterstrand University Press, Johannesburg. p:203-222.
- Kaigler, et al. 2001. *Tissue Engineering's Impact On Dentistry*. Journal of Dental Education. Vol.65, No.5.p:456-462.
- Karthikeyan, B.V., Pradeep, A.R. 2006. *Gene Therapy in Periodontics: A Review and Future Implications*. The Journal of Contemporary Dental Practise vol.7(3). 1-8.
- Lewis, Ricki. 1997. *Human Genetics Concepts and Applications 2<sup>nd</sup> Ed*. Wm C.Brown, New York. p: 333-338.
- Malik, Amarila. 2005. *RNA Therapeutic, Pendekatan Baru dalam Terapi Gen*. Majalah Ilmu Kefarmasian Vol.III. 51-61.

- Mardjono, Daroewati. 1984. *Kemajuan Ilmu dan Teknologi pada Bidang Kedokteran Gigi*. Cermin Dunia Kedokteran No.32. 32-35.
- Mellors. 2001. *Immunopathology: Autoimmunity and Immune Complex Diseases*. Cornell University Medical College. <http://www.med.cornell.edu>.
- Rhodus. 1999. *Sjogren's Syndrome*. Quintessence International. Vol.30 No. 10.
- Roitt, et al. 1996. *Immunology*. 4<sup>th</sup> Ed. Mosby.p:1.11,23.1.
- Roussos.1992. *Sjogren's Syndrome and Salivary Dysfunction* .NIH Guide. Vol 21, May 29.
- Samter,et al. 1988. *Immunological Diseases II*. 4<sup>th</sup> Ed. Little,Brown and Company,Boston.p:1501-1506.
- Saputra, Virgi. 2006. *Dasar-dasar stem cell dan Potensi/Aplikasinya dalam Ilmu Kedokteran*. Cermin Dunia Kedokteran. p:21. <http://www.kalbefarma.com/cdk>.
- Shafer,et al.1983. *A Textbook of Oral Pathology*.4<sup>th</sup> Ed. WB Saunders Company, Philadelphia.p: 242-243.
- Silalahi, Jansen. 2006. *Antioksidan dalam Diet dan Karsinogen*. Cermin Dunia Kedokteran No. 153. <http://www.kalbefarma.com/cdk>. (Accessed December 15, 2006).
- Stites, et al. 1993. *Basic and Clinical Immunology* 8<sup>th</sup> Ed. Appleton & Lange.p: 42-43,399-401,702-703.
- Underwood. 1992. *General and Systematic Pathology*. Churcill Livingstone, New York.p:42-230.
- Penman, D. 2002. *Subtle Gene Therapy Tackles Blood Disorder*. <http://www.newscientist.com> (Accessed February 26,2007)

Widodo, Haris B. 2006. *Terapi Gen di Kedokteran Gigi*.  
<http://www.pdgi.co.id/terapi/gen.htm>.

Zipp, et al. 1999. *The Effect of Parotid Salivary Flow Rate On The Levels of Salivary Antimicrobial Proteins in Patients With Sjogren's Syndrome*. Quintessence International. Vol 30, No.10.

