

Literature Review : Development of Monoclonal Antibodies Using The Expression System of *Nicotiana benthamiana*

Audina Filsa Nur Anugraheni^{1*}, Imasayu Nuralyza¹, Dinda Ayu Maulira¹, Aliza Salsabila Ramadhani¹, Baiq Dwiyan Nugraheni¹, Anggit Listyacahyani Sunarwidhi¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Mataram, Nusa Tenggara Barat, Indonesia;

Article History

Received : May 15th, 2025

Revised : May 20th, 2025

Accepted : May 26th, 2025

*Corresponding Author:

Audina Filsa Nur Anugraheni, Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Mataram, Nusa Tenggara Barat, Indonesia;
Email: audinafilsa@gmail.com

Abstract: Monoclonal antibodies (mAbs) have become a key component in modern biotechnology and healthcare, playing essential roles in the treatment of diseases such as cancer, viral and bacterial infections, asthma, and in diagnostic applications. However, conventional mAb production using mammalian cell systems is costly, time-consuming, and presents scalability limitations. To address these challenges, current technological advances have led to the development of alternative platforms using plant-based expression systems. This review aims to explore the potential and progress in producing monoclonal antibodies through the *Nicotiana benthamiana* plant-based expression system, which offers several advantages including rapid production, cost efficiency, greater production capacity, and reduced risk of contamination. The method employed in this review is a literature study conducted through database searches (Google Scholar, PubMed, Science Direct, and others) focusing on peer-reviewed articles from 2015 to 2024. The articles were selected and then analyzed thematically was performed to extract relevant data. The results indicate that *Nicotiana benthamiana* can efficiently produce functional mAbs with glycosylation profiles comparable to mammalian systems. In addition, plant antibodies have also been successfully applied in various therapeutic and diagnostic studies. Further research is needed to ensure the safety and effectiveness of *Nicotiana benthamiana* plant-based mAb, as well as efforts to develop production scale for wider medical applications.

Keywords: Antibody production, monoclonal antibodies, *Nicotiana benthamiana*, plant-based expression system.

Pendahuluan

Antibodi monoklonal adalah protein spesifik yang diproduksi oleh sistem kekebalan tubuh, khususnya sel B, yang dirancang untuk mengenali dan mengikat antigen tertentu, seperti protein asing atau sel patogen. Antibodi ini telah menjadi elemen kunci dalam berbagai aplikasi medis, termasuk terapi kanker, penyakit autoimun, penyakit infeksi, serta dalam diagnosa dan penelitian ilmiah. Dengan kemampuannya untuk menyerang target secara spesifik, antibodi monoklonal telah membuka peluang besar untuk pengembangan terapi yang lebih tepat sasaran dan efektif (Pisuttinusart et al., 2024; Boonyayothin et al., 2022; Phakham et al., 2021).

Selama beberapa dekade terakhir, antibodi monoklonal diproduksi melalui teknologi hibridoma, yaitu dengan menggabungkan sel B yang memproduksi antibodi spesifik dengan sel mieloma (sel kanker) yang mampu membelah tanpa batas. Proses ini menghasilkan sel hibridoma yang dapat memproduksi antibodi secara berkelanjutan di laboratorium. Selain teknologi hibridoma, rekayasa genetika juga memungkinkan antibodi monoklonal diproduksi di sistem ekspresi mamalia, bakteri, atau ragi. Meskipun metode-metode ini sudah mapan dan digunakan secara luas, mereka memiliki sejumlah keterbatasan dan tantangan (Boonyayothin et al., 2022).

Pertama, biaya produksi antibodi monoklonal menggunakan sistem ekspresi mamalia sangat tinggi karena memerlukan infrastruktur yang kompleks serta kontrol yang ketat untuk memastikan produk yang dihasilkan bebas dari kontaminasi patogen manusia. Kedua, proses produksi di sistem mamalia sering kali lambat dan memiliki keterbatasan dalam hal skala, sehingga sulit untuk memenuhi permintaan global yang terus meningkat. Selain itu, ada risiko kontaminasi dengan endotoksin atau virus hewan, yang dapat mempengaruhi keamanan produk akhir, terutama untuk penggunaan klinis (Pisuttinusart et al., 2024; Boonyayothin et al., 2022).

Oleh karena itu, muncul kebutuhan untuk mencari alternatif yang lebih efisien dan aman. Salah satu pendekatan yang semakin mendapat perhatian adalah produksi antibodi monoklonal menggunakan tanaman (*plant-based antibody production*). Tanaman memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan sistem produksi konvensional, seperti biaya yang lebih rendah, kapasitas produksi yang lebih besar, dan risiko kontaminasi patogen mamalia yang lebih rendah. Tanaman juga mudah dimodifikasi secara genetik untuk menghasilkan antibodi dengan kualitas yang sebanding, menjadikannya solusi yang potensial untuk mengatasi berbagai keterbatasan dari metode produksi yang ada saat ini (Swope et al., 2022; Boonyayothin et al., 2022).

Penggunaan sistem ekspresi rekombinan berbasis tanaman menunjukkan keuntungan yang signifikan. Tanaman dapat melakukan modifikasi post-translasi kompleks yang diperlukan untuk fungsi dari berbagai jenis produk biofarmasetika (Swope et al., 2022). Tidak seperti sistem mamalia yang memerlukan banyak biaya, sistem tanaman tidak memerlukan fasilitas kultur sel dan bioreaktor yang mahal karena tidak memerlukan penumbuhan di kondisi steril. Selain itu, pengembangan berbasis tanaman memberikan risiko rendah untuk kontaminasi patogen. Protein rekombinan dapat diproduksi dengan cara transformasi stabil dari gen target atau melalui ekspresi transien dengan agroinfiltrasi (Diamos et al., 2020).

Salah satu tanaman yang banyak digunakan sebagai inang yakni *Nicotiana benthamiana*. Tanaman ini telah digunakan sebagai vektor dalam transformasi transien

menggunakan *Agrobacterium tumefaciens* dikarenakan memiliki penerimaan yang baik terhadap *Agrobacterium tumefaciens* pada proses transformasi dan kemampuan bawaan yang mendukung ekspresi gen heterolog tingkat tinggi (Swope et al., 2022). Produksi protein dengan metode ini lebih dipilih karena menyediakan ekspresi transgen yang cepat, banyak dan aman dibandingkan tanaman transgenik (Phakham et al., 2021).

Penelitian terkait pengembangan dan evaluasi dari antibodi monoklonal berbasis tanaman telah berlangsung lama. Meninjau potensi pengembangan antibodi monoklonal yang didukung kemampuan teknologi manufaktur dan kemampuan produksi antibodi monoklonal dengan glikosilasi mamalia yang homogen, maka diharapkan adanya uji lanjutan seperti uji klinis (Krittanaei et al., 2024). Oleh karena itu, dalam review kali ini bertujuan untuk merangkum penelitian terkait pengembangan antibodi monoklonal berbasis tanaman *Nicotiana benthamiana*, dengan memanfaatkan keunggulan tanaman tersebut dalam biaya produksi yang rendah, kapasitas skala besar, serta kemampuan melakukan modifikasi post-translasi yang kompleks, sehingga mampu menghasilkan antibodi berkualitas tinggi dan aman yang dapat mempercepat pengembangan terapi dan diagnostik yang lebih efektif dan terjangkau, sekaligus memenuhi kebutuhan global akan antibodi monoklonal dengan cara yang lebih efisien dan aman.

Bahan dan Metode

Penelitian ini menggunakan metode literature review. Pengumpulan artikel ini dengan menggunakan database *Google Scholar*, *Neliti*, *Pubmed*, *Springer*, *Frontiers*, *NCBI*, *Researchgate* dan *Science Direct*. Rentang waktu publikasi artikel tahun 2015-2024. Digunakan kata “antibody production”, “monoclonal antibodies”, “*Nicotiana benthamiana*”, “plant-based expression system”, sebagai kata kunci pencarian di database. Kriteria inklusi yaitu artikel dalam Bahasa Indonesia dan Bahasa Inggris. Sedangkan kriteria eksklusi yaitu artikel penelitian yang tidak dapat diakses secara lengkap. Analisis tinjauan artikel akan dieksplorasi beberapa sub-bagian sesuai dengan temuan yang diperoleh.

Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian

Tabel 1. Analisis Artikel Pengembangan Antibodi Monoklonal berbasis Tanaman *Nicotiana benthamiana*

No.	Tujuan Penelitian	Antibodi Monoklonal	Vektor dan Host	Metode	Hasil
1.	Produksi antibodi monoklonal secara transient dengan optimalisasi vektor (Diamos et al., 2020)	Antibodi anti zika virus 2A10G6 dan antibodi kontrol anti-ebola virus 6D8	Vektor replikasi berbasis BeYDV (<i>Bean Yellow Dwarf Virus</i>) yang dipotimalisasi menggunakan UT 5 [PsaK2, terminator intronless extensin dan MAR Rb7 Host yang digunakan adalah <i>Nicotiana benthamiana</i> yang dihilangkan glikolisasi tumbuhan yang ditransfeksi dengan <i>Agrobacterium tumefaciens</i> EHA105.	Antibodi dikloning ke dalam vektor dan diekspresikan secara transient. Ekstrak tumbuhan dianalisis protein nya menggunakan western blot, ELISA dan mikroskop fluoresen. Antibodi 2A10G6 dianalisis untuk mendeteksi dan netralisasi antigen virus Zika	Vektor geminivirus mampu mengekspresikan empat protein fluoresen secara simultan dalam jumlah tinggi. Tiga antibodi monoklonal dapat diproduksi dalam jumlah 1,2 – 1,5 g/kg daun, Antibodi 2A10G6 mampu mendeteksi dan menetralkan virus zika
2.	Mengembangkan sistem ekspresi tanaman <i>Nicotiana benthamiana</i> sebagai sumber produksi antibodi monoklonal (mAb) anti-human IgE (Hanittinan et al., 2022)	Antibodi omalizu mab (mAb tipe IgG1	Vektor geminiviral pBY3R yang dimodifikasi dari BeYDV Host yang digunakan adalah tumbuhan <i>Nicotiana benthamiana</i> yang dikoinfiltrasikan dengan <i>Agrobacterium tumefaciens</i> strain EHA105	Metode nya dimulai dari ekspresi transien, purifikasi menggunakan kromatografi afinitas proteinA, karakterisasi SDS-PAGE dan Western Blot, analisis ELISA dan uji aktivitas halang silang IgE menggunakan sel RS-ATL8	Ekspresi dan penggabungan mAb anti IgE manusia setara dengan omalizumab komersial, dimana dari hasil uji fungsi ditunjukkan kemampuan ikatan target dan aktivitas penghambatan sebanding dengan obat referensi
3.	Mengevaluasi kemampuan sistem ekspresi tanaman untuk memproduksi mAb anti-SARS-CoV-2 (Shanmugaraj et al., 2020)	Antibodi monoklonal B38 dan H4	Vektor berupa vektor ekspresi geminivirus (pBYK-2e) yang mengandung promotor CaMV 35S dengan duplikat enhancer Host berupa tanaman <i>Nicotiana benthamiana</i>	Metode melibatkan konstruksi vektor ekspresi dengan mengkloning rantai berat dan rantai ringan mAb B38 dan H4 ke dalam pBYK-2e, ekspresi transient mAb melalui agroinfiltrasi konstruk rantai berat dan ringan ke daun <i>N.benthamiana</i> , purifikasi antibodi,	Tingkat ekspresi mAb B38 dan H4 berturut-turut sebesar 4 µg/g dan 35 µg/g berat basah daun, dimana kedua nya mampu mengikat protein RBS SARS-CoV-2. Hasil uji netralisasi secara in vitro dengan IU50 sebesar 40 (mAb B38) dan 640 (H4)

				analisis ekspresi dan kemurnian mAb melalui WB dan SDS-PAGE, uji daya ikat mAb terhadap protein RBD SARS-CoV-2 dan ELISA dan kemampuan netralisasi mAb terhadap SARS-CoV-2 secara in vitro	
4.	Memproduksi antibodi monoklonal sebagai antitoksin terhadap neurotoksin botulinum (BoNT) menggunakan sistem ekspresi tanaman (Sangprasat et al., 2024)	Antibodi monoklonal anti-BoNT yaitu 1B18, C25 dan M2	Vektor ekspresi pBY2eK geminivirus Host berupa tanaman <i>Nicotiana benthamiana</i>	Metode meliputi konstruksi dan sintesis gen, kloning vektor pBY2eK untuk ditransformasikan ke <i>Agrobacterium tumefaciens</i> lalu agroinfiltrasi ke daun <i>Nicotiana benthamiana</i> , ekspresi protein dan purifikasi menggunakan kolom protein A, analisis SDS-PAGE, western blot, SEC dan ELISA untuk mengetahui karakteristik protein	Ketiga antibodi monoklonal memiliki tingkat ekspresi tertinggi pada hari ke-6, antibodi 1B18 mampu mengenali BoNT/A dan B, C25 hanya BoNT/A, M2 hanya BoNT/B
5.	Mengembangkan sistem ekspresi transient untuk produksi cepat antibodi monoklonal (mAb) terhadap peptide siklik sitrulinasi (CCP) untuk deteksi dini dan diagnosis rheumatoid arthritis (RA) (Do, 2023).	Antibodi spesifik terhadap peptide siklik sitrulinasi (CCP),	Vektor viral berbasis TMV dan PVX. Host nya adalah Tanaman <i>Nicotiana benthamiana</i> , yang digunakan sebagai sistem ekspresi untuk produksi antibodi.	Dilakukan kloning gen heavy chain (HC) dan light chain (LC) mAb CCP. Kemudian Agroinfiltrasi menggunakan <i>Agrobacterium tumefaciens</i> . Lalu pemurnian antibodi menggunakan kolom Protein G. Dan analisis western blot dan ELISA untuk pengukuran ekspresi dan aktivitas biologis.	Hasil penelitian menunjukkan bahwa antibodi monoklonal dapat diproduksi dengan efisien dalam waktu singkat dan memiliki reaktivitas yang baik terhadap antigen CCP, membuka peluang untuk aplikasi lebih lanjut dalam diagnosis RA. Produksi CCP mAb mencapai 0,35% dari total protein terlarut dalam daun <i>Nicotiana benthamiana</i> . Antibodi yang diproduksi menunjukkan aktivitas biologis dan reaktivitas terhadap peptide sintetik CCP. Antibodi dapat dihasilkan dalam waktu satu minggu.
6.	Meneliti potensi penggunaan <i>Nicotiana</i>	Antibodi monoklonal M1	Vektor yang digunakan adalah pAG01, vektor	Meliputi kloning molekuler, infiltrasi agro pada <i>N.</i>	M1 yang diproduksi di <i>N. benthamiana</i> menunjukkan

	<p><i>benthamiana</i> (platform tanaman) untuk memproduksi antibodi monoklonal (M1) yang menargetkan Interleukin 31 (IL-31) pada anjing sebagai alternatif yang hemat biaya dan mudah diakses untuk mengontrol gatal pada dermatitis atopik anjing, sebanding dengan Lokivetmab yang diproduksi di sel CHO (Morel et al., 2024).</p>	<p>yang spesifik terhadap IL-31 pada anjing, dengan tujuan meniru efektivitas Lokivetmab.</p>	<p>ekspresi biner yang dirancang untuk memasukkan gen antibodi M1 dan IL-31 ke dalam sel tanaman. Vektor ini dimasukkan ke dalam bakteri <i>Agrobacterium tumefaciens</i> untuk memfasilitasi transfer gen ke tanaman. Hostnya adalah tanaman <i>Nicotiana benthamiana</i>, baik jenis liar (wild-type) maupun mutan yang direkayasa glikannya (FucT/XylT atau ΔXF) untuk menghasilkan antibodi yang lebih mirip dengan profil glikoprotein pada mamalia.</p>	<p><i>benthamiana</i>, pemurnian antibodi dengan kromatografi magnetik dan ion exchange, SDS-PAGE dan Western blot untuk analisis protein, DLS untuk stabilitas, serta pengujian in vivo pada anjing untuk membandingkan efek M1 dengan Lokivetmab.</p>	<p>efektivitas serupa dengan Lokivetmab dalam mengurangi gatal, memiliki stabilitas in vivo yang setara, dan tidak menunjukkan efek samping. Platform berbasis tanaman terbukti sebagai alternatif yang layak untuk produksi antibodi pada aplikasi veteriner.</p>
7.	<p>Penelitian ini bertujuan untuk memahami proses penargetan vacuolar dan akumulasi antibodi monoklonal (mAb) 14D9 dalam daun <i>Nicotiana benthamiana</i>, dan mengoptimalkan produksi antibodi dengan mempertimbangan modifikasi pascatranslasi yang tepat (Li et al., 2016)</p>	<p>Antibodi monoklonal 14D9.</p>	<p>Vektor yang digunakan adalah plasmid yang membawa konstruksi TALEN. Host yang digunakan adalah tanaman <i>Nicotiana benthamiana</i>,</p>	<p>Desain TALEN yang spesifik untuk gen FucT dan XylT. Transformasi protoplas tanaman <i>N. benthamiana</i> dengan plasmid TALEN. Regenerasi tanaman dari protoplast yang ditransformasi. Analisis mutasi menggunakan PCR dan sekuensing. Penilaian profil N-glikosilasi dari antibodi yang diproduksi.</p>	<p>50% dari tanaman yang ditransformasi memiliki mutasi pada gen FucT, dan 73% pada gen XylT. Tanaman mutant yang dihasilkan menunjukkan pengurangan signifikan dalam tingkat a(1,3)-fucose dan b(1,2)-xylose. Produksi rituximab dalam tanaman mutant menghasilkan 55% glikofor yang tidak memiliki kedua residu tersebut, dibandingkan dengan hanya 2% pada tanaman liar.</p>
8.	<p>Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi efektivitas antibodi monoklonal (mAb) anti-chikungunya yang diproduksi</p>	<p>Antibodi anti-E1 chikungunya (CHKV mab)</p>	<p>Vektor yang digunakan adalah vektor berbasis MagnICON yang memungkinkan ekspresi gen penyandi antibodi dalam <i>Agrobacterium</i></p>	<p>CHKVmab diekspresikan dalam daun tanaman yang diinfiltrasi dengan <i>Agrobacterium</i> dan kemudian dipurifikasi menggunakan skema ekstraksi dan pemurnian dua</p>	<p>Kedua varian CHKVmab (WT dan ΔXFT) menunjukkan aktivitas netralisasi yang kuat terhadap CHIKV di laboratorium. Pada model tikus, kedua mAb menunjukkan</p>

	dalam tanaman <i>Nicotiana benthamiana</i> , baik yang wild-type (WT) maupun yang glycoengineered (Δ XFT), dalam mengobati infeksi chikungunya pada model tikus (Hurtado et al., 2020)	<i>tumefaciens</i> . Tanaman <i>N. benthamiana</i> digunakan sebagai host untuk produksi antibodi, dengan dua varian tanaman: wild-type (WT) dan glycoengineered (Δ XFT).	langkah. Uji netralisasi dilakukan dengan metode plaque reduction neutralization test (PRNT) untuk menilai efektivitas antibodi terhadap virus chikungunya, serta uji in vivo pada model tikus untuk mengukur viral load.	pengurangan signifikan dalam viral load, dengan CHKVmab yang diproduksi dari Δ XFT menunjukkan sedikit peningkatan efektivitas dibandingkan dengan WT. CHKVmab dari Δ XFT memiliki profil N-glikosilasi yang lebih seragam dan mirip dengan mAb yang diproduksi dalam sel mamalia, yang memberikan pengaruh pada potensi terapeutik yang lebih baik.	
9.	Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi penargetan vakuolar dan deposisi antibodi monoklonal (mAb) 14D9 dalam daun <i>Nicotiana benthamiana</i> , serta untuk memahami mekanisme jalur transportasi dan pemrosesan N-glikan di dalam kompartemen subseluler ini (Ocampo et al., 2016)	Antibodi monoklonal 14D9, yang merupakan antibodi IgG.	<i>Vektor</i> yang digunakan adalah paduan dari dua sinyal penargetan vakuolar (KISIA dan NIFRGF) yang dihubungkan dengan rantai berat antibodi 14D9. <i>Host</i> yang digunakan adalah daun <i>Nicotiana benthamiana</i> untuk ekspresi transien antibodi.	Metode yang digunakan meliputi infiltrasi daun dengan <i>Agrobacterium</i> yang membawa konstruksi antibodi, diikuti dengan analisis akumulasi antibodi menggunakan sandwich ELISA, serta pemantauan lokalisasi subseluler menggunakan mikroskop konfokal.	variasi antibodi yang ditargetkan ke vakuola (vac-Abs) terakumulasi 10-hingga 15 kali lebih tinggi dibandingkan bentuk yang disekresikan. Gambar N-glikan menunjukkan bahwa vac-Abs terutama mengandung struktur oligomannosidik, sedangkan bentuk yang disekresikan memiliki glikan kompleks. Analisis mikroskop konfokal mengonfirmasi bahwa vac-Abs terlokalisasi di dalam vakuola sentral, menunjukkan bahwa jalur transportasi yang berbeda dapat digunakan untuk memindahkan antibodi ke vakuola.
10.	Merealisasikan proses produksi antibodi monoklonal secara terintegrasi dan berkelanjutan pada skala laboratorium (Steinebach et al., 2017)	Antibodi monoklonal yang diproduksi adalah antibodi IgG1.	vektornya adalah plasmid yang dikonjugasikan ke dalam sel CHO. Sedangkan host selnya adalah sel CHO (Chinese Hamster Ovary).	Metode yang digunakan meliputi kultivasi sel CHO secara berkelanjutan menggunakan bioreaktor perfusi. Proses tangkapan menggunakan dua kolom tangkapan Protein A. Inaktivasi virus menggunakan	Hasil penelitian menunjukkan tercapainya proses produksi antibodi monoklonal yang stabil selama 17 siklus dengan kualitas produk yang seragam, serta Konsentrasi dan kandungan impuras agregat dan fragmen

			superloop. Pemurnian pertama (MCSGP) menggunakan dua kolom pertukaran kation secara semisirkuler. Pemurnian terakhir menggunakan satu kolom pertukaran anion. Selanjutnya, Integrasi seluruh unit proses menjadi satu sistem produksi terintegrasi secara kontinyu serta onitoring kualitas produk dan stabilisasi.	produk akhir tetap konstan.	
11.	Menghasilkan antibodi monoklonal (mAb) anti- Δ -THC rekombinan dengan ekspresi transien menggunakan <i>N. benthamiana</i> (Boonyayothin et al., 2022)	-	Vektor berupa vektor pBY3R Host berupa tanaman <i>Nicotiana benthamiana</i>	Metode meliputi konstruksi vektor ekspresi tanaman, Transformasi <i>Agrobacterium tumefaciens</i> , ekspresi transien dalam <i>N. benthamiana</i> , Analisis SDS-Page dan Western Blot, uji ELISA, dan analisis menggunakan HPLC	Antibodi monoklonal yang diuji secara in vitro memiliki ikatan afinitas dengan Δ 9-THC dan metabolit Δ 9-THC seperti cannabiniol (CBN)
12.	Mengekspresikan antibodi monoklonal D54 pada tanaman <i>Nicotiana benthamiana</i> (Krittanaï et al., 2024)	Antibodi monoklonal D54	Vektor ekspresi pBY2eK Host berupa tanaman <i>Nicotiana benthamiana</i>	Metode meliputi Konstruksi gen dan transformasi Bakteri, ekspresi transien pada tanaman, Pemurnian Protein, analisis SDS-PAGE dan Western Blot, analisis glikosilasi N, dan uji uji netralisasi dan ade (antibody-dependent enhancement)	Antibodi monoklonal D54 yang dihasilkan dari <i>N. benthamiana</i> dapat digunakan sebagai sumber antibodi pengobatan Dengue virus
13.	Membandingkan ekspresi antibodi monoklonal mAb675 dan mAbJ08-MUT terhadap netralisasi SARS-CoV-2 (Frigerio et al., 2022)	Antibodi monoklonal mAb675 dan mAbJ08-MUT	Vektor biner pBI- Δ yang dimodifikasi untuk ekspresi di tanaman <i>Nicotiana benthamiana</i> . Host berupa tanaman <i>Nicotiana benthamiana</i>	Metode meliputi konstruksi antibodi rekombinan untuk mensintesis antibodi, ekspresi transien pada tanaman, pemurnian antibodi, analisis ELISA dan Western Blot, Analisis SDS-PAGE dan kromatografi, analisis proteomik dan glikosilasi, dan uji netralisasi virus	Uji netralisasi SARS CoV-2 pada mAbJ08-MUT menunjukkan potensi netralisasi yang tinggi dengan nilai IC100<17 ng/mL. Sedangkan antibodi monoklonal mAb675 menunjukkan potensi netralisasi yang sedang dengan nilai IC100 sekitar 200 ng/mL.

<p>14. Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi produksi antibodi monoklonal (MAbs) yang berasal dari tanaman untuk pencegahan dan pengobatan penyakit infeksi (Hiatt et al., 2015)</p>	<p>Antibodi monoklonal (MAbs) adalah protein yang diproduksi oleh sel-sel imun</p>	<p>Vektornya adalah Agrobacterium tumefaciens, digunakan untuk mentransfer gen antibodi ke dalam sel tanaman. Tanaman <i>Nicotiana benthamiana</i> dan <i>Nicotiana tabacum</i> digunakan sebagai host untuk ekspresi antibodi.</p>	<p>Menggunakan teknik transformasi untuk memasukkan gen antibodi ke dalam tanaman, yang kemudian dapat disilangkan untuk menghasilkan antibodi kompleks. Metode ekspresi sementara yang memungkinkan produksi antibodi dalam waktu singkat (sekitar 14 hari) dengan efisiensi tinggi.</p>	<p>Hasil penelitian menunjukkan bahwa MAbs yang diproduksi dalam tanaman memiliki kemampuan netralisasi yang tinggi terhadap berbagai patogen, termasuk virus Ebola, HIV, dan bakteri penyebab anthrax. Beberapa MAbs yang dihasilkan menunjukkan efikasi yang signifikan dalam model hewan, dan beberapa telah memasuki uji klinis, menunjukkan potensi untuk pengobatan dan pencegahan penyakit infeksi.</p>
<p>15. Mengkaji hubungan antara praktik kultural, pola pertumbuhan tanaman inang dan hasil produksi protein rekombinan pada daun <i>Nicotiana benthamiana</i>, yang digunakan untuk produksi vaksin antigen hemaglutinin virus influenza H1 (Goulet et al., 2019).</p>	<p>Protein yang digunakan adalah antigen hemaglutinin (HA) dari virus influenza jenis H1.</p>	<p>Vektor yang digunakan untuk menyisipkan gen DNA coding antigen H1 kedalam tanaman adalah vektor proprieter dari Medicago Inc. Vektor ini berisi sekuens DNA kode untuk antigen H1. Host tanaman yang digunakan untuk ekspresi heterolog dari antigen H1 ini adalah <i>Nicotiana benthamiana</i>.</p>	<p>Metode digunakan adalah inokulasi daun tanaman menggunakan agrobacteria, dilanjutkan dengan ekspresi protein, lalu pemisahan daun, kemudian ekstraksi protein dan pengukuran aktivitas H1 menggunakan assay hemaglutinasi, dan analisis data untuk menentukan hasil H1 per satuan berat daun dan total per tanaman.</p>	<p>Daun muda di batang utama dan cabang sisi memberikan kontribusi signifikan terhadap hasil antigen H1 total meskipun berbiomasa lebih kecil dibandingkan daun tua, serta Praktik kultural seperti penerangan tinggi dan fotoperiode panjang berpengaruh positif pada pertumbuhan cabang sisi dalam meningkatkan hasil H1 total melalui peningkatan biomassa.</p>
<p>16. Mengembangkan metode produksi antibodi monoklonal (mAb) berbasis tanaman menggunakan <i>Nicotiana benthamiana</i>. Tujuannya adalah mengatasi masalah terkait stabilitas genetik dan keterbatasan infektivitas virus rekombinan serta menghasilkan mAb dalam</p>	<p>VRC01 (untuk HIV) dan CR6261 (untuk influenza).</p>	<p>Vektor yang digunakan adalah magnICON®, sebuah sistem berbasis tobamovirus yang dirancang untuk ekspresi protein pada tanaman. Host yang dipilih adalah <i>N. benthamiana</i> karena kemampuannya untuk mengekspresikan protein dalam jumlah besar dan rentan terhadap</p>	<p>Proses produksi mAb meliputi transformasi sel <i>Agrobacterium tumefaciens</i> dengan DNA plasmid vektor magnICON®, kultur sel bakteri, dan infiltrasi ke daun <i>N. benthamiana</i>. Daun yang terinfeksi dipanen 7 hari setelah infiltrasi. Ekstraksi dilakukan dengan buffer dingin, diikuti filtrasi dan pemurnian melalui kromatografi cair bertekanan tinggi (FPLC) dengan</p>	<p>Teknik ini mampu mengekspresikan mAb hingga beberapa ratus mg per kg daun dalam waktu 7 hari. Metode ini efisien untuk produksi mAb dalam skala besar dengan waktu yang relatif singkat. Pengujian kemurnian mAb menunjukkan hasil yang baik melalui SDS-PAGE, sementara aktivitas biologisnya dikonfirmasi menggunakan ELISA, surface plasmon</p>

jumlah besar dengan cepat dan efisien untuk aplikasi terapeutik dan penelitian (Husk et al., 2016).	infeksi oleh vektor virus. Sistem ini memungkinkan produksi mAb dalam jaringan daun dalam waktu singkat, biasanya sekitar 7 hari.	kolom Protein A dan Phenyl HP.	resonance, dan uji netralisasi virus.
---	---	--------------------------------	---------------------------------------

Pembahasan

Sistem ekspresi pada tanaman

Pada penelitian oleh Ocampo *et al.* (2016), Dilakukan penargetan vakuolar dan akumulasi antibodi monoklonal (mAb) 14D9 dalam daun *Nicotiana benthamiana*, dengan tujuan untuk meningkatkan produksi antibodi melalui pemahaman mekanisme transportasi intraseluler. Penelitian menunjukkan bahwa antibodi yang menggunakan sinyal penargetan vakuolar (VSS) yang berbeda (KISIA dan NIFRGF) dapat terakumulasi 10- hingga 15 kali lebih tinggi dibandingkan dengan versi yang disekresikan. Analisis profil N-glikan menunjukkan bahwa antibodi yang disekresikan didominasi oleh struktur glikan kompleks, sementara antibodi yang ditargetkan ke vakuola memiliki struktur oligomannosidik. Melalui mikroskopi konfokal, ditemukan bahwa antibodi yang ditargetkan ke vakuola terakumulasi secara efisien di vakuola pusat, menunjukkan bahwa jalur transportasi yang berbeda digunakan untuk antibodi tersebut. Hasil ini menunjukkan bahwa produksi antibodi dalam vakuola dapat menjadi strategi yang efektif untuk meningkatkan hasil produksi protein terapeutik dengan modifikasi pascatranslasi yang tepat.

Penelitian oleh Li et al (2016) penggunaan teknologi pengeditan gen TALEN (*Transcription Activator-Like Effector Nucleases*) untuk memodifikasi jalur N-glikosilasi pada tanaman *Nicotiana benthamiana*, bertujuan meningkatkan produksi glikoprotein biopharmaceutical dengan struktur N-glikan mirip mamalia. Dengan menghapus gen fucosyltransferase (FucT) dan xylosyltransferase (XylT), tanaman yang dihasilkan mampu memproduksi antibodi monoklonal hampir sepenuhnya bebas dari residu spesifik tanaman, seperti a(1,3)-fucose dan b(1,2)-xylose, yang dapat memengaruhi aktivitas dan stabilitas produk. Sekitar 50-73% tanaman yang diregenerasi menunjukkan mutasi pada gen target, dengan beberapa tanaman

berhasil menghilangkan semua alel dari gen tersebut. Analisis glikoprotein menunjukkan penurunan signifikan kadar residu yang tidak diinginkan dan peningkatan proporsi bentuk glikoprotein yang diinginkan dalam antibodi rituximab.

Alur Penelitian– design produksi

Penelitian oleh Steinebach et al. (2017), membahas terkait desain proses produksi antibodi monoclonal. Proses dimulai dengan desain kultur sel secara berkelanjutan menggunakan bioreaktor perfusi. Bioreaktor dirancang untuk menjaga kepadatan sel secara optimal sehingga dapat memproduksi antibodi secara terus menerus. Selanjutnya dilakukan desain tangkapan target protein menggunakan dua kolom sekuensial untuk memaksimalkan kapasitas. Setelah itu, dilakukan desain tahap inaktivasi virus agar seluruh target protein mendapatkan efek inaktivasi yang memadai. Tahap berikutnya adalah desain pemurnian pertama untuk memisahkan kontaminan awal menggunakan dua kolom secara beruntun. Proses ini dilakukan secara semi-berkelanjutan untuk meningkatkan efisiensi. Kemudian dilakukan desain pemurnian akhir dengan satu kolom yang bertujuan untuk menghilangkan kontaminan terakhir secara singkat. Selanjutnya dilakukan integrasi keseluruhan desain proses agar dapat berjalan secara sinergis dari hulu ke hilir tanpa penyimpanan antar tahap. Selain itu, monitoring setiap tahap juga perlu dilakukan untuk mengendalikan kualitas produk. Dengan desain produksi tersebut diharapkan dapat memaksimalkan kapasitas dan efisiensi setiap tahap secara berkelanjutan untuk memperoleh produksi antibodi yang berkualitas.

Produksi Antibodi monoklonal untuk penyakit

Infeksi bakteri

Penelitian oleh Sangprasat et al. (2024), Botulinum neurotoxin (BoNT) merupakan toksin

yang dihasilkan oleh bakteri *Clostridium botulinum* yang menyebabkan terjadinya botulisme. Botulisme diterapi menggunakan anti-toksin botulinum yang diperoleh dari hewan. Namun tingginya risiko kontaminasi dan biaya produksi menjadikan penggunaan sistem ekspresi tanaman menjadi pilihan alternatif. Dari studi ini, antibodi monoklonal anti-BoNT jenis 1B18, C25 dan M2 diperoleh tingkat ekspresi tertinggi pada 6 dpi, berturut-turut sebanyak 54.5 µg/g, 144.4 µg/g dan 111.9 µg/g bobot sampel segar. Antibodi monoklonal anti-BoNT C25 efektif untuk memblokir antigen BoNT/A, antibodi M2 efektif untuk memblokir antigen BoNT/B pada model tikus, sedangkan tipe 1B18 dapat memblokir keduanya. Produksi antibodi monoklonal dengan hasil dan kemurnian tinggi serta memiliki aktivitas netralisasi yang baik terhadap toksin botulinum dapat dilakukan menggunakan sistem ekspresi tanaman.

Penelitian oleh Morel et al., (2024) berfokus pada pengembangan antibodi monoklonal M1 untuk Canine Atopic Dermatitis (CAD), suatu kondisi alergi kronis pada anjing yang menyebabkan inflamasi dan pruritus intens. CAD seringkali dipicu oleh produksi imunoglobulin E (IgE) terhadap alergen lingkungan, dengan IL-31 sebagai mediator utama pruritus. Antibodi monoklonal Lokivetmab, yang telah tersedia secara komersial, berfungsi dengan menghambat IL-31, sehingga mengurangi gejala gatal akibat dermatitis. Namun, produksi Lokivetmab di sel mamalia (CHO cells) memerlukan biaya tinggi dan proses yang memakan waktu. Sebagai alternatif, penelitian ini menggunakan ekspresi sementara pada tanaman *Nicotiana benthamiana* untuk menghasilkan M1, antibodi biosimilar yang dapat menargetkan IL-31. Dengan memanfaatkan infiltrasi *Agrobacterium tumefaciens* yang membawa vektor ekspresi pAG01, antibodi M1 diproduksi secara efisien di dalam jaringan daun tanaman. Setelah pemurnian menggunakan kromatografi Protein A, M1 dievaluasi dalam uji in vivo pada model anjing. Hasil menunjukkan bahwa M1 memiliki tingkat kemurnian dan stabilitas yang tinggi, serta mampu menurunkan pruritus yang diinduksi IL-31 pada anjing dengan tingkat efektivitas yang setara dengan Lokivetmab. Tidak ada efek samping yang diamati pada hewan uji, dan antibodi M1 tetap stabil dalam serum hingga 30

hari setelah injeksi, menunjukkan waktu paruh yang baik dan profil keamanan yang serupa dengan Lokivetmab. Analisis lebih lanjut juga mengungkap bahwa profil glikosilasi M1, terutama pada garis tanaman mutan ΔXF yang bebas dari xilosa dan fukosa, serupa dengan glikan tipe mamalia, mendukung afinitas pengikatan terhadap reseptor FcRn dan stabilitas in vivo. Studi ini mengindikasikan bahwa platform berbasis tanaman dapat menjadi metode produksi antibodi yang lebih hemat biaya dan skalabel untuk terapi veteriner, membuka potensi luas untuk aplikasi serupa pada penyakit lain yang melibatkan antibodi terapeutik (Rattanapisit et al., 2019).

Infeksi virus

Pada penelitian Frigerio et al. (2022), dijelaskan bahwa antibodi monoklonal dapat digunakan sebagai pengobatan pada pasien covid. Antibodi monoklonal yang diproduksi adalah mAb675 dan mAbJ08-MUT. Antibodi mAbJ08-MUT diperoleh dari hasil isolasi pasien pemulihan covid. Sedangkan mAb675 diisolasi dari pasien yang telah melakukan vaksinasi. Antibodi diproduksi menggunakan teknik infiltrasi transien dengan *Agrobacterium tumefaciens*, di mana gen antibodi dimasukkan ke dalam sel tanaman yang kemudian menghasilkan antibodi dalam daun mereka. Pengukuran netralisasi dilakukan dengan menghitung persentase penghambatan replikasi virus pada berbagai konsentrasi antibodi, yang kemudian dinyatakan sebagai konsentrasi penghambatan pada tingkat tertentu, seperti IC50, IC90, atau IC100. IC100 adalah konsentrasi antibodi di mana virus benar-benar terhambat. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa uji netralisasi SARS CoV-2 pada mAbJ08-MUT yang diproduksi di dalam tanaman *Nicotiana benthamiana* menunjukkan IC100 sebesar 16,8 ng/mL, yang hampir sama dengan versi antibodi yang diproduksi pada sel mamalia dengan IC100 7,2 ng/mL. Sedangkan antibodi monoklonal mAb675 menunjukkan potensi netralisasi yang sedang dengan nilai IC100 sekitar 200 ng/mL (Frigerio et al., 2022).

Penelitian oleh Shanmugaraj et al., (2020) Antibodi monoklonal untuk SARS-CoV yang akan dikembangkan yakni mAb B38 dan H4 menggunakan inang berupa *N. benthamiana*. Keduanya terakumulasi secara efisien pada daun

N.benthamiana pada 4 dpi dengan kadar B38 sebesar 4 µg/g dan H4 sebesar 35 µg/g bobot sampel segar. Dari hasil pengujian kemampuan berikatan dengan antigen menggunakan ELISA, diperoleh hasil bahwa antibodi monoklonal anti-SARS-CoV-2 dapat berikatan dengan protein RBD dari virus SARS-CoV-2, namun antibodi H4 memiliki afinitas dan aktivitas netralisasi yang lebih baik dibandingkan B38. Kemampuan netralisasi yang efektif dari antibodi monoklonal H4 dan B38 dihasilkan dari kemampuannya dalam mengenali epitop yang berbeda pada RBD virus SARS-CoV-2 sehingga mencegah virus berikatan dengan reseptor seluler ACE2.

Penelitian oleh Diamos et al., (2020) Penggunaan vektor BeYDV yang dioptimasi dapat secara efisien melakukan koekspresi dari multiprotein dengan konfigurasi bervariasi dengan cara koinfiltrasi berbagai vektor T-DNA. Antibodi yang diproduksi pada penelitian ini berupa antibodi 2A10G6 versi chimeric dimana rantai berat dan ringan murin digabungkan secara genetik ke dalam antibodi manusia. Antibodi yang diperoleh dapat digabungkan secara tepat dan dimurnikan hingga >95% dengan proses pemurnian sederhana serta memiliki kemampuan dalam menetralkan dengan cara berikatan pada protein di amplop virus zika. Selain itu, diproduksi juga antibodi monoklonal anti-ebola GP1 berupa mAb 6D8 menggunakan vektor yang tidak dioptimasi. Hal ini bertujuan untuk membandingkan kemampuan antara vektor yang telah dioptimasi dan yang tidak. Diperoleh adanya peningkatan hasil sebanyak 4-5 kali lipat pada vektor yang dioptimasi.

Antibodi monoklonal juga dapat digunakan untuk penyakit demam berdarah yang disebabkan oleh infeksi Dengue Virus (DENV) (Krittana et al., 2024). Demam berdarah merupakan penyakit yang dapat ditularkan oleh nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus*. Virus dengue (DENV) umumnya menyebabkan gejala ringan pada infeksi primer. Namun saat terjadi infeksi sekunder dapat menyebabkan keparahan gejala karena peningkatan ketergantungan antibodi. Untuk mengatasi hal tersebut, dikembangkan antibodi anti-DENV untuk menetralkan infeksi tanpa menimbulkan ketergantungan antibodi. serotipe DENV 1-4 digunakan untuk menguji efektivitas dan spesifisitas antibodi monoklonal D54 dalam menetralkan semua varian utama virus dengue.

Dengan menggunakan keempat serotipe ini, peneliti dapat menilai kemampuan D54 untuk memberikan perlindungan lintas serotipe (*cross-neutralizing activity*) dan menentukan apakah antibodi ini efektif melawan setiap serotipe DENV, yang penting karena infeksi sekunder oleh serotipe yang berbeda dapat meningkatkan risiko penyakit berat akibat *antibody-dependent enhancement* (ADE). Selain itu, serotipe DENV1-4 juga diuji dalam uji ADE untuk melihat apakah antibodi D54, yang diproduksi di tanaman *Nicotiana benthamiana*, memiliki risiko meningkatkan infeksi virus pada konsentrasi sub-netralisasi. Hal ini dibandingkan dengan antibodi yang diproduksi pada sel mamalia (54_hG1), yang menunjukkan efek ADE pada beberapa serotipe. Antibodi monoklonal D54 yang dihasilkan dari *N. benthamiana* dapat digunakan sebagai sumber antibodi pengobatan Dengue virus (Krittana et al., 2024).

Hurtado et al. (2020), dalam penelitiannya, memaparkan bahwa antibodi monoklonal dapat diproduksi dalam *Nicotiana benthamiana* dan diuji efeknya secara in vitro dan in vivo, baik dalam bentuk wild-type (WT) maupun glikogenik (Δ XFT). CHIKV, virus yang ditularkan oleh nyamuk, dapat menyebabkan artritis berkepanjangan pada manusia tanpa adanya vaksin atau terapi yang disetujui. Hasil menunjukkan bahwa antibodi dari kedua jenis tanaman dapat dinyatakan dan dimurnikan dengan baik, di mana Δ XFT menghasilkan glikan yang lebih seragam dan mendekati tipe mamalia. Keduanya menunjukkan aktivitas netralisasi yang kuat terhadap CHIKV dan mampu mengurangi viral load dalam model tikus. Hasil ini menunjukkan potensi tanaman sebagai platform efektif untuk memproduksi antibodi terapeutik dan pentingnya modifikasi glikasi untuk meningkatkan aktivitas in vivo.

Asma

Penelitian oleh Hanittina et al., (2022) Anti IgE merupakan terapi esensial pada gejala alergi saluran pernapasan, dimana salah satunya adalah omalizumab yang telah disetujui sebagai pilihan terapi pada kondisi asma kronis. Antibodi anti IgE yang sedang dikembangkan menggunakan transformasi yang dimediasi oleh *Agrobacterium* dan menggunakan sistem inang dari *N.benthamiana*. Ekspresi antibodi anti IgE berbasis organel retikulum endoplasma menjadi

target dikarenakan adanya manosa non-immunogenik tipe N-glikan. Dari hasil studi ini, anti IgE mAb dapat dibuat ke dalam bentuk monomer IgG natif dengan ekspresi tertinggi sebesar 41,2 µg/g bobot sampel segar pada 4 dpi. Berdasarkan uji immunoassay dan uji aktivasi basofil, diperoleh interaksi IgE dan inhibisi aktivasi dari basofil oleh ikatan IgE crosslinking yang sama dengan omalizumab komersil. Oleh karena itu dapat dikatakan penggunaan ekspresi tanaman dapat digunakan untuk produksi antibodi monoklonal yang mirip dengan obat komersil.

Diagnostik penyakit

Penelitian oleh Do. (2023), menguraikan strategi inovatif untuk produksi cepat antibodi monoklonal terhadap cyclic citrullinated peptide (CCP mAb) dalam tanaman *Nicotiana benthamiana* sebagai metode diagnostik dini rheumatoid arthritis (RA). RA merupakan penyakit autoimun yang mengakibatkan inflamasi kronis pada sendi, berujung pada kerusakan sendi yang permanen, penurunan kemampuan fungsional, dan peningkatan angka mortalitas. Deteksi dini RA sangatlah penting untuk menghindari kerusakan sendi yang tidak dapat dipulihkan. Salah satu indikator awal RA yang andal adalah antibodi anti-CCP, karena keberadaannya menunjukkan adanya proses autoimun yang aktif bahkan sebelum timbulnya gejala klinis. Anti-CCP sangat spesifik terhadap RA dan terbukti terkait dengan kerusakan sendi yang lebih parah, sehingga menjadi target utama dalam pengembangan diagnostik berbasis serologi. Dalam penelitian ini, antibodi monoklonal CCP (CCP mAb) diproduksi di daun tembakau dengan memanfaatkan ekspresi sementara berbasis vektor virus tanaman, yang memungkinkan produksi antibodi dalam jumlah besar secara cepat. Proses ini melibatkan kloning rantai berat (heavy chain) dan ringan (light chain) antibodi CCP dari sel hybridoma ke dalam vektor ekspresi berbasis Tobacco Mosaic Virus (TMV) dan Potato Virus X (PVX), yang keduanya mendukung ekspresi gen yang cepat dan efisien di dalam sel tanaman. Gen-gen antibodi ini kemudian dimasukkan ke *Agrobacterium tumefaciens*, yang di-infiltrasikan ke jaringan daun tembakau menggunakan metode agroinfiltrasi. Setelah tujuh hari infiltrasi, daun tembakau diekstraksi dan diuji melalui Western

blot dan Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) untuk memverifikasi keberhasilan ekspresi antibodi serta kemampuan ikatnya terhadap antigen CCP sintetis. Proses ekspresi ini menunjukkan hasil positif di mana antibodi CCP terakumulasi di daun hingga 0,35% dari total protein larut. Ekstraksi antibodi dilakukan menggunakan kromatografi afinitas dengan protein G, yang mengisolasi CCP mAb dengan kemurnian tinggi. Dalam uji ELISA, antibodi CCP yang dihasilkan berhasil mengenali antigen CCP sintetis dengan spesifisitas tinggi, tanpa reaktivitas terhadap peptida non-sitruinasi (CRP). Uji dot blot lebih lanjut mengonfirmasi afinitas tinggi antibodi terhadap CCP, menjadikannya kandidat diagnostik yang menjanjikan untuk deteksi RA. Secara keseluruhan, produksi antibodi melalui ekspresi sementara di tanaman memberikan alternatif yang cepat, efisien, dan ekonomis dibandingkan dengan metode tradisional berbasis sel mamalia atau mikroba. Melalui penelitian ini, penggunaan ekspresi berbasis virus di tanaman membuka potensi besar dalam produksi cepat protein terapeutik, khususnya untuk memenuhi kebutuhan mendesak dalam diagnostik dan terapi penyakit autoimun seperti RA. Keberhasilan dalam produksi CCP mAb ini juga menunjukkan bahwa tanaman dapat dijadikan platform yang handal untuk memproduksi biomarker spesifik dalam jumlah besar untuk aplikasi klinis, mendukung metode diagnostik yang lebih cepat, spesifik, dan terjangkau di masa depan.

Analisis senyawa dalam sampel

Berdasarkan penelitian Boonyayothin et al. (2022), pengembangan antibodi monoklonal rekombinan pada tanaman *Nicotiana benthamiana* digunakan untuk mendeteksi Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) yang merupakan senyawa psikoaktif utama dalam tanaman ganja. Antibodi ini diproduksi menggunakan sistem ekspresi transien pada daun *N. benthamiana* dengan bantuan vektor *imu*. Hasil penelitian pada jurnal tersebut menunjukkan bahwa mAb anti- Δ^9 -THC diproduksi dengan cepat di *N. benthamiana* melalui sistem ekspresi geminivirus. Waktu produksi optimal diamati pada hari ke-4 pasca-infiltrasi, dan tingkat ekspresi tertinggi adalah 0,33 µg/g berat daun segar. Selanjutnya, sifat pengikatan mAb yang diproduksi tanaman

menunjukkan spesifisitas dan sensitivitas yang mengikat $\Delta 9$ -THC dan cannabiniol (CBN) yang merupakan salah satu metabolit $\Delta 9$ -THC (Boonyayothin et al., 2022).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil *literatur review* dapat disimpulkan bahwa pengembangan antibodi monoklonal berbasis tanaman *Nicotiana benthamiana* dapat digunakan untuk menghasilkan antibodi dengan kualitas yang sebanding dan jauh lebih efisien khususnya untuk beberapa penyakit seperti infeksi bakteri, virus, dan asma. Selain itu juga dapat digunakan untuk diagnostik penyakit dan analisa senyawa dalam sampel.

Ucapan terima kasih

Kami sebagai penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen pengampu mata kuliah Bioteknologi yang telah memberikan kami bimbingan dan wawasan terkait penyusunan jurnal ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.

Referensi

- Boonyayothin, W., Kobtrakul, K., Khositanon, P., Vimolmangkang, S., & Phoolcharoen, W. (2022). Development of a plant-produced recombinant monoclonal antibody against $\Delta 9$ -tetrahydrocannabinol ($\Delta 9$ -THC) for immunoassay application. *Biotechnology Reports*, 34(December 2021), 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2022.e00725>
- Diamos, A. G., Hunter, J. G. L., Pardhe, M. D., Rosenthal, S. H., Sun, H., Foster, B. C., DiPalma, M. P., Chen, Q., & Mason, H. S. (2020). High Level Production of Monoclonal Antibodies Using an Optimized Plant Expression System. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7(January), 1-15. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00472>
- Do, V. G. (2023). Rapid Production of Cyclic Citrullinated Peptide Monoclonal Antibody in *Nicotiana benthamiana* for the Early Detection and Diagnosis of Rheumatoid Arthritis. *SynBio*, 1(1), 103–115. <https://doi.org/10.3390/synbio1010008>
- Frigerio, R., Marusic, C., Villani, M. E., Lico, C., Capodicasa, C., Andreano, E., Paciello, I., Rappuoli, R., Salzano, A. M., Scaloni, A., Baschieri, S., & Donini, M. (2022). Production of two SARS-CoV-2 neutralizing antibodies with different potencies in *Nicotiana benthamiana*. *Frontiers in Plant Science*, 13.(September), 1-14 <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.956741>
- Goulet, M. C., Gaudreau, L., Gagné, M., Maltais, A. M., Laliberté, A. C., Éthier, G., Bechtold, N., Martel, M., D'Aoust, M. A., Gosselin, A., Pepin, S., & Michaud, D. (2019). Production of biopharmaceuticals in *Nicotiana benthamiana* axillary stem growth as a key determinant of total protein yield. *Frontiers in Plant Science*, 10(June), 1-9 <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00735>
- Hanittinan, O., Rattanapisit, K., Malla, A., Tharakhet, K., Ketloy, C., Prompetchara, E., & Phoolcharoen, W. (2022). Feasibility of plant-expression system for production of recombinant anti-human IgE: An alternative production platform for therapeutic monoclonal antibodies. *Frontiers in Plant Science*, 13(December), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1012583>
- Hiatt, A., Whaley, K. J., & Zeitlin, L. (2015). Plant-derived monoclonal antibodies for prevention and treatment of infectious disease. *Antibodies for Infectious Diseases*, 411–425. <https://doi.org/10.1128/9781555817411.ch24>
- Hurtado, J., Acharya, D., Lai, H., Sun, H., Kallolimath, S., Steinkellner, H., Bai, F., & Chen, Q. (2020). In vitro and in vivo efficacy of anti-chikungunya virus monoclonal antibodies produced in wild-type and glycoengineered *Nicotiana benthamiana* plants. *Plant Biotechnology Journal*, 18(1), 266–273. <https://doi.org/10.1111/pbi.13194>
- Husk, A., Hamorsky, K. T., & Matoba, N. (2016). Monoclonal Antibody Purification (*Nicotiana benthamiana* Plants). *Bio Protoc*, 176(1), 1–7, e1034-e1034.

- Krittanaei, S., Rattanapisit, K., Bulaon, C. J. I., Pitaksajjakul, P., Keadsanti, S., Ramasoota, P., Strasser, R., & Phoolcharoen, W. (2024). *Nicotiana benthamiana* as a potential source for producing anti-dengue virus D54 neutralizing therapeutic antibody. *Biotechnology Reports*, 42(May), 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2024.e00844>
- Li, J., Stoddard, T. J., Demorest, Z. L., Lavoie, P. O., Luo, S., Clasen, B. M., Cedrone, F., Ray, E. E., Coffman, A. P., Daulhac, A., Yabandith, A., Retterath, A. J., Mathis, L., Voytas, D. F., D'Aoust, M. A., & Zhang, F. (2016). Multiplexed, targeted gene editing in *Nicotiana benthamiana* for glyco-engineering and monoclonal antibody production. *Plant Biotechnology Journal*, 14(2), 533–542. <https://doi.org/10.1111/pbi.12403>
- Morel, B., Favrot, C., Mirande, L., Grünwald-Gruber, C., Stordeur, V., Vezina, L. P., Faye, L., & Gomord, V. (2024). Exploring the Potentiality of a Plant Platform for Monoclonal Antibody Production in Veterinary Medicine. *Vaccines*, 12(6), 1–17. <https://doi.org/10.3390/vaccines12060620>
- Ocampo, C. G., Lareu, J. F., Marin Viegas, V. S., Mangano, S., Loos, A., Steinkellner, H., & Petruccielli, S. (2016). Vacuolar targeting of recombinant antibodies in *Nicotiana benthamiana*. *Plant Biotechnology Journal*, 14(12), 2265–2275. <https://doi.org/10.1111/pbi.12580>
- Phakham, T., Bulaon, C. J. I., Khorattanakulchai, N., Shanmugaraj, B., Buranapraditkun, S., Boonkrai, C., Sooksai, S., Hirankarn, N., Abe, Y., Strasser, R., Rattanapisit, K., & Phoolcharoen, W. (2021). Functional Characterization of Pembrolizumab Produced in *Nicotiana benthamiana* Using a Rapid Transient Expression System. *Frontiers in Plant Science*, 12(September), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.736299>
- Pisuttinussart, N., Rattanapisit, K., Srisaowakarn, C., Thitithanyanont, A., Strasser, R., Shanmugaraj, B., & Phoolcharoen, W. (2024). Neutralizing activity of anti-respiratory syncytial virus monoclonal antibody produced in *Nicotiana benthamiana*. *Human Vaccines and Immunotherapeutics*, 20(1), 1–10. <https://doi.org/10.1080/21645515.2024.2327142>
- Rattanapisit, K., Phakham, T., Buranapraditkun, S., Siri wattananon, K., Boonkrai, C., Pisitkun, T., Hirankarn, N., Strasser, R., Abe, Y., & Phoolcharoen, W. (2019). Structural and In Vitro Functional Analyses of Novel Plant-Produced Anti-Human PD1 Antibody. *Scientific Reports*, 9(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51656-1>
- Sangprasat, K., Bulaon, C. J. I., Rattanapisit, K., Srisangsung, T., Jirarojwattana, P., Wongwatanasin, A., & Phoolcharoen, W. (2024). Production of monoclonal antibodies against botulinum neurotoxin in *Nicotiana benthamiana*. *Human Vaccines and Immunotherapeutics*, 20(1), 1-11. <https://doi.org/10.1080/21645515.2024.2329446>
- Shanmugaraj, B., Rattanapisit, K., Manopwisedjaroen, S., Thitithanyanont, A., & Phoolcharoen, W. (2020). Monoclonal Antibodies B38 and H4 Produced in *Nicotiana benthamiana* Neutralize SARS-CoV-2 in vitro. *Frontiers in Plant Science*, 11(November), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.589995>
- Steinebach, F., Ulmer, N., Wolf, M., Decker, L., Schneider, V., Wälchli, R., Karst, D., Souquet, J., & Morbidelli, M. (2017). Design and operation of a continuous integrated monoclonal antibody production process. *Biotechnology Progress*, 33(5), 1303–1313. <https://doi.org/10.1002/btpr.2522>
- Swope, K., Morton, J., Pogue, G. P., Burden, L., Partain, N., Hume, S., Shepherd, J., Simpson, C. A., Brennan, M. B., Furman, T. C., Kingrey-Gebe, S., Martinez, T., McDonough, J., Pauly, M. H., Whaley, K. J., Zeitlin, L., Bratcher, B., & Haydon, H. (2022). Reproducibility and flexibility of monoclonal antibody production with *Nicotiana benthamiana*. *MAbs*, 14(1), 1–13. <https://doi.org/10.1080/19420862.2021.2013594>