

Struktur dan Ekspresi Gen

Oleh: [Suharsono](#)

Jurusan Biologi FMIPA, Institut Pertanian Bogor

E-mail: sony-sh@indo.net.id

Kehidupan ditandai oleh adanya proses metabolisme yang terjadi di dalam sel. Metabolisme merupakan proses perubahan kimiawi dari satu bentuk ke bentuk yang lainnya, misalnya dari bentuk yang sederhana menjadi bentuk yang lebih rumit, atau sebaliknya. Proses metabolisme melibatkan transformasi materi dan energi.

Penampilan morfologi yang merupakan fenotipe dari suatu organisme adalah hasil proses metabolisme yang terjadi di dalam setiap sel penyusun organisme tersebut. Keragaman morfologi di antara individu anggota suatu populasi sangat tergantung dari keragaman proses dan hasil metabolisme yang terjadi pada masing-masing individu. Perbedaan warna bunga dari satu varietas dengan varietas lain tergantung dari proses metabolisme yang terjadi di dalam sel dari varietas yang bersangkutan.

Proses metabolisme di dalam sel merupakan reaksi biokimia yang dikatalisis oleh enzim tertentu, sehingga keragaman proses dan hasil metabolisme ditentukan oleh enzim yang terlibat dalam reaksi tersebut. Keragaman enzim (baik struktur maupun susunan asam aminonya) itu sendiri sangat ditentukan oleh susunan cetaknya yaitu asam deoksiribonukleat (DNA). Ruas DNA yang menjadi cetakan untuk mensintesis enzim (protein) disebut dengan gen, sehingga gen merupakan pengendali proses metabolisme atau pengendali kehidupan. Keragaman morfologi suatu organisme merupakan penampakan keragaman gen-gennya. Ilmu yang mempelajari struktur, fungsi, dan perilaku gen disebut dengan genetika.

Struktur gen yang dipelajari di dalam genetika meliputi struktur kimia gen, proses pembentukannya dan pewarisannya serta perubahannya atau mutasi. Fungsi gen dipelajari melalui peranannya di dalam sintesis protein/enzim. Pada akhirnya genetika digunakan sebagai landasan yang bermanfaat bagi kehidupan manusia seperti dalam pertanian, kesehatan, dan industri.

Sifat bahan genetik

Bahan genetik mempunyai beberapa sifat atau fungsi: dapat menggandakan diri (replikasi), sebagai penyimpan informasi, dapat mengekspresikan informasi yang dikandungnya, dapat bervariasi melalui mutasi.

Penggandaan (replikasi) bahan genetik merupakan tahapan yang sangat penting dalam pembelahan sel. Setelah bahan genetik di dalam sel somatik menggandakan diri, maka bahan genetik ini dapat memisah sama rata ke sel-sel anaknya selama proses mitosis. Selama pembentukan sel gamet, bahan genetik mengalami replikasi sebelum memisah ke sel-sel anaknya, hanya saja pada proses ini sel anak hanya mengandung bahan genetik setengah dari sel tetuanya. Proses ini disebut dengan proses meiosis.

Sel sperma mengandung bahan genetik yang tidak diekspresikan, sehingga bahan genetik di dalam sperma merupakan penyimpan informasi. Produk-produk dari gen yang tersimpan di dalam bahan genetik, seperti haemoglobin yang merupakan molekul pembawa oksigen, tripsin dan chymotrypsin yang merupakan enzim pencernaan, atau melanin yang merupakan molekul pigmen, tidak didapati di dalam sel sperma. Informasi yang tersimpan di dalam bahan genetik di sel sperma dapat diekspresikan kemudian, misal bila terjadi zigot, kemudian terbentuk individu baru.

Ekspresi dari informasi yang disimpan di dalam bahan genetik merupakan suatu proses yang rumit/kompleks yang berdasarkan pada konsep aliran informasi di dalam sel. Awal dari proses ekspresi adalah transkripsi dari informasi genetik yang disimpan di dalam molekul DNA yang menghasilkan 3 jenis molekul RNA (asam ribonukleat): RNA duta (mRNA), RNA transfer (tRNA), dan RNA ribosomal (rRNA). Hanya molekul mRNA yang diterjemahkan (ditranslasikan) ke dalam protein.

Translasi atau sintesis protein melibatkan banyak molekul, energi dan ribosom. Ribosom dibentuk oleh beberapa jenis molekul rRNA dan beberapa protein ribosomal. Jadi, rRNA berperan di dalam penyusunan ribosom. tRNA berperan membawa asam amino yang sesuai dengan informasi yang ada di dalam molekul mRNA di dalam proses translasi. Pada organisme eukaryot, misalnya tumbuhan dan hewan, proses transkripsi terjadi di dalam inti sel, sedangkan proses translasi berlangsung di sitoplasma.

Bahan genetik bertanggung jawab terhadap munculnya variasi baru dari suatu organisme melalui proses mutasi. Perubahan komposisi kimia DNA dapat mengubah proses transkripsi dan translasi, yang pada akhirnya dapat mengubah protein yang disintesis. Dengan terjadinya perubahan protein, maka akan mengubah proses metabolisme di dalam sel/organisme, yang akan mengakibatkan perubahan penampakan organismenya.

Mutasi yang terjadi di dalam sel gamet akan diteruskan ke generasi berikutnya, dan dengan berjalannya waktu akan didistribusikan ke dalam suatu populasi. Variasi genetik, termasuk di dalamnya pengaturan kembali susunan molekul di dalam kromosom yang sama atau di antara kromosom, merupakan bahan bagi proses evolusi.

Identifikasi bahan genetik

Mulai akhir abad kesembilan-belas, usaha untuk mengidentifikasi struktur kimia bahan genetik sangat intensif dilakukan. Dua molekul yang dianggap berpotensi sebagai bahan genetik waktu itu adalah: protein, dan asam nukleat. Walaupun demikian, para genetikawan sampai dengan tahun 1940an lebih cenderung berpendapat bahwa proteinlah yang berperan sebagai bahan genetik. Tiga faktor yang mendukung kecenderungan pendapat ini.

Pertama, protein terdapat dalam jumlah besar di dalam sel, sekitar 50% dari berat kering sel. Karena sel mengandung demikian besar baik jumlah dan variasinya, maka para genetikawan waktu itu berpendapat bahwa beberapa dari protein tersebut berperan sebagai bahan genetik.

Faktor kedua adalah diterimanya pendapat tentang struktur kimia asam nukleat pada pertengahan tahun 1900an. Friedrich Meischer, seorang kimiawan Swiss, pada tahun 1868 mempelajari DNA. Dia berhasil memisahkan inti dari sitoplasma sel dan mengisolasi senyawa asam dari inti yang disebutnya nuklein (nuclein). Dia menunjukkan bahwa nuklein mengandung fosfor dalam jumlah besar, dan tidak mengandung sulfur. Hal ini merupakan sifat/ciri yang sangat berbeda dari protein.

Pada tahun 1910 Phoebus A. Levene menyampaikan hipotesis tetranukleotida untuk menjelaskan susunan kimia nukleotida di dalam asam nukleat. Hipotesis Levene ini didasarkan pada komposisi asam nukleat yang tersusun dari empat jenis nukleotida.

Karena struktur tetranukleotida yang mengandung ikatan kovalen tunggal sangat sederhana, maka asam nukleat tidak dapat menjamin adanya variasi kimia yang sangat besar yang diharapkan oleh molekul yang berperan sebagai bahan genetik. Di sisi lain protein disusun oleh 20 jenis asam amino sehingga dapat menghasilkan variasi yang besar. Dari kenyataan ini para genetawan berpendapat bahwa protein merupakan bahan genetik.

Faktor ketiga adalah bahwa penelitian di bidang genetika pada waktu itu dipusatkan pada penelitian pewarisan bahan genetik dan mutasi, sehingga penelitian tentang molekul kimia yang tepat yang berfungsi sebagai bahan genetik kurang diperhatikan. Karena protein sudah dianggap sebagai calon kuat bagi bahan genetik, dan tidak adanya perhatian para peneliti untuk mengetahui secara cermat molekul yang berperan sebagai bahan genetik, maka pendapat bahwa protein merupakan bahan genetik diterima walaupun secara pasif.

Penelitian lebih lanjut untuk mengetahui secara tepat molekul yang berperan sebagai bahan genetik dilakukan dengan menggunakan bakteri sebagai organisme prokaryot dan virus yang menginfeksi. Penggunaan bahan ini disebabkan oleh beberapa alasan. Pertama, bakteri dan virus dapat tumbuh dengan cepat. Dalam waktu satu jam, bakteri dan virus dapat menyelesaikan satu siklus hidup. Kedua, kedua bahan tersebut mudah dimanipulasi dan diinduksi untuk membentuk mutan, dan mudah untuk menyeleksi.

Usaha untuk mengidentifikasi bahan genetik dimulai sejak 1927 yang dilakukan oleh Frederick Griffith. Dia menggunakan *D. pneumoniae* untuk percobaannya. Ada dua galur (strain) yang digunakannya, yaitu galur virulen yang menyebabkan penyakit pneumonia pada beberapa vertebrata seperti manusia dan tikus, dan galur avirulen yang tidak dapat menyebabkan penyakit. Virulensi dari bakteri tersebut disebabkan oleh adanya kapsul polisakarida yang menyelimuti bakteri. Bakteri virulen mempunyai kapsul sedangkan yang avirulen tidak mempunyainya. Bakteri yang tidak mempunyai kapsul mudah dihancurkan oleh sistem pertahanan tubuh sel inangnya, sedangkan yang mempunyai kapsul tidak mudah dihancurkan oleh sistem pertahanan tubuh.

Bakteri yang diselaputi kapsul membentuk permukaan yang halus sehingga disebut galur S (S=smooth) dan yang tidak diselaputi kapsul mempunyai permukaan kasar sehingga disebut galur R (R=rough). Dengan adanya tanda ini, maka virulensi dari bakteri ini mudah untuk diamati.

Griffith menggunakan dua serotipe yang berbeda, yaitu: II dan III. Dia memilih serotipe IIR yang merupakan bakteri avirulen, dan serotipe IIIS yang merupakan bakteri virulen. Hanya bakteri virulen yang hidup yang dapat menyebabkan penyakit pneumonia.

Pada percobaannya, Griffith menginjeksikan galur IIIS, galur IIR, galur IIIS yang telah dimatikan dengan pemanasan, dan campuran galur IIR hidup dan galur IIIS yang telah dimatikan dengan pemanasan sebelumnya, secara terpisah pada kelinci. Tikus yang diinjeksi dengan galur IIIS mati, sedangkan tikus yang diinjeksi dengan galur IIR tetap hidup. Tikus yang diinjeksi dengan galur IIIS yang telah dimatikan dengan pemanasan tidak menyebabkan kematian tikus tersebut. Campuran galur IIR hidup dan galur IIIS yang telah dimatikan dengan pemanasan bila diinjeksikan ke dalam tikus menyebabkan kematian tikus tersebut. Griffith kemudian mengamati darah dari tikus yang mati ini, dan dia mendapatkan bakteri yang ada di dalam darah tikus tersebut identik dengan bakteri galur IIIS yang telah dimatikan dengan pemanasan.

Dari hasil tersebut Griffith menyatakan bahwa bakteri galur IIIS yang telah dimatikan berperan di dalam konversi dari bakteri avirulen IIR menjadi virulen IIIS. Fenomena ini disebut dengan transformasi. Dia menyimpulkan bahwa terdapat bahan yang utama untuk terjadinya proses transformasi (transforming principle) yang berperan dalam konversi tersebut yang mungkin merupakan beberapa bagian dari kapsul polisakarida atau beberapa senyawa yang dibutuhkan untuk sintesis kapsul walaupun kapsul itu sendiri tidak dapat menyebabkan pneumonia.

Hasil percobaan Griffith dikonfirmasi lagi oleh Henry Dawson pada 1931. Lebih lanjut, Dawson menunjukkan bahwa transformasi dapat terjadi secara *in vitro* (di dalam tabung reaksi), tanpa harus menginjeksikan bakteri ke dalam tikus. Tahun 1933, Lionel J. Alloway memperhalus sistem *in vitro* ini dengan hanya menggunakan ekstrak kasar sel S dan sel R hidup. Filtrat dari sel S sama efektifnya dalam menginduksi transformasi dengan sel utuhnya.

Setelah selama sepuluh tahun melakukan penelitian, Avery, MacLeod, dan McCarty pada tahun 1944 mempublikasikan hasil penelitiannya. Mereka menyimpulkan bahwa faktor yang bertanggung jawab dalam proses transformasi adalah DNA. Avery, MacLeod, dan McCarty melakukan penelitian berlandaskan pada hasil yang dicapai oleh Griffith, dengan menggunakan galur IIIS dari *D. pneumoniae*.

Pada percobaannya, mereka mengkulturkan galur IIIS dalam jumlah volume yang besar, kemudian mengendapkannya dengan sentrifugasi dan mensuspensikannya kembali menjadi volume yang lebih kecil untuk memudahkan penanganan berikutnya.

Sel-sel ini kemudian dimatikan dengan pemanasan. Setelah dilakukan pencucian dan ekstraksi dengan detergen, sebagian filtrat yang dihasilkan digunakan untuk transformasi dengan mencampurnya dengan sel hidup galur IIR. Ternyata filtrat ini masih mampu menginduksi transformasi. Sebagian filtrat lagi dibuang proteinnya, dan sebagian lagi dibuang polisakaridanya, dan sebagian lagi dibuang protein dan polisakaridanya. Filtrat-filtrat ini masih aktif menginduksi proses transformasi. Setelah pembuangan protein dan polisakarida, filtrat ini dipresipitaskan dengan etanol dan didapatkan benang-benang asam nukleat yang masih mempunyai kemampuan untuk menginduksi transformasi.

Untuk mengkonfirmasi hasil tersebut, filtrat dari sel IIS yang telah dimatikan diperlakukan dengan protease (suatu enzim yang dapat menghancurkan protein), dan RNase (suatu enzim yang dapat menghancurkan molekul RNA) secara terpisah, kemudian dicampur dengan sel galur IIR. Pencampuran ini masih menghasilkan bakteri galur IIS, yang berarti bahwa protein dan RNA bukan merupakan bahan untuk transformasi (transforming principle). Percobaan lainnya adalah dengan menambahkan DNase (suatu enzim yang dapat menghancurkan DNA) pada filtrat dari sel IIS. Filtrat yang telah dicampur dengan DNase ini ternyata tidak mampu menghasilkan sel IIS bila dicampur dengan sel IIR, yang berarti tidak mampu menginduksi transformasi. Dari hasil percobaan ini, Avery, MacLeod, dan McCarty tidak ragu lagi untuk menyatakan bahwa DNA adalah bahan utama untuk transformasi.

Bahan utama untuk transformasi berinteraksi dengan sel IIR yang menimbulkan berbagai reaksi enzimatik yang berakhir dengan sintesis kapsul polisakarida tipe IIS. Bila transformasi telah berlangsung, kapsul polisakarida akan disintesis terus pada generasi berikutnya, dan bahan utama untuk transformasi digandakan pada sel-sel anaknya. Oleh sebab itu transformasi merupakan proses yang mempengaruhi bahan genetik dan dapat diwariskan ke generasi berikutnya.

Bukti bahwa DNA sebagai bahan genetik didukung oleh studi tentang virus atau disebut juga dengan bakteriofage atau fage T2 yang menginfeksi *Escherichia coli*. Fage T2 mempunyai kepala heksagonal (bersisi enam) dan ekor seperti benang/serat. Bagian luar dari T2 merupakan protein, sehingga sering disebut dengan mantel protein (coat protein), menyelimuti bagian dalam yang merupakan molekul DNA.

Pada 1952, Alfred Hershey dan Martha Chase mendapatkan hasil dari penelitiannya tentang fage T2 bahwa: (1) fage T2 tersusun dari 50% protein dan 50% DNA, (2) infeksi dimulai dengan proses penempelan (adsorpsi) fage bagian ekor berupa serat pada sel bakteri, dan (3) produksi virus yang baru berlangsung di dalam sel bakteri. Mereka ingin mengetahui lebih lanjut tentang komponen atau molekul yang mana, apakah protein atau DNA, yang masuk ke dalam bakteri yang mengatur proses reproduksi (perbanyak) virus.

Untuk penelitiannya Hershey dan Chase menggunakan radioisotop untuk melacak molekul yang masuk ke dalam bakteri selama infeksi. Mereka menggunakan radioisotop ^{32}P dan ^{35}S . Karena DNA mengandung fosfor (P) tetapi tidak mengandung sulfur (S), maka ^{32}P efisien untuk menandai (melabel) DNA. Sebaliknya, protein mengandung sulfur tetapi tidak mengandung fosfor, sehingga ^{35}S efisien digunakan untuk menandai protein. Pemberian tanda (pelabelan) inilah yang merupakan kunci keberhasilan penelitian Hershey dan Chase.

E. coli yang ditumbuhkan di medium yang mengandung radioisotop ^{35}S atau ^{32}P , kemudian diinfeksi dengan fage T2, maka fage keturunannya secara berturut-turut akan mengandung radioisotop pada mantel proteinnya atau pada DNA yang ada di bagian dalam. Fage yang mengandung radioisotop ini dapat dikumpulkan dan digunakan untuk menginfeksi *E. coli* yang tidak ditandai dengan radioisotop.

Pencampuran fage T2 yang telah mengandung radioisotop dengan *E. coli* yang tidak ditandai dengan radioisotop dapat membentuk kompleks adsorpsi karena fage T2 menempelkan benang-benang ekornya pada bakteri. Fage T2 ini kemudian dipisahkan dari bakteri, kemudian dilakukan analisis secara terpisah. Dengan menelusuri radioaktivitasnya, Hershey dan Chase mampu menunjukkan bahwa sebagian besar DNA yang ditandai dengan radioisotop telah ditransfer (dipindahkan) ke dalam sel bakteri setelah proses adsorpsi, sebaliknya protein yang ditandai dengan ^{35}S tetap berada di luar sel bakteri, dan virus ini sudah tidak mempunyai isi (kosong). Setelah pemisahan ini, sel bakteri yang mengandung DNA virus mengalami lisis dan membebaskan fage yang baru.

Menurut Hershey dan Chase mantel (protein) fage tetap berada di luar sel inang dan tidak terlibat di dalam proses perbanyak (reproduksi) virus. Di sisi lain, ini yang sangat penting, bahwa DNA fage masuk ke dalam sel inang dan mengatur proses perbanyak virus. Jadi, Hershey dan Chase telah menunjukkan bahwa DNA merupakan bahan genetik, bukannya protein seperti yang dianut oleh banyak genetawan sebelum tahun 1940an.

Struktur DNA

DNA merupakan bahan genetik pada semua organisme kecuali beberapa virus tertentu yang mempunyai RNA sebagai bahan genetiknya. Bersamaan dengan pembuktian bahwa DNA merupakan bahan genetik, penelitian tentang struktur asam nukleat sangat intensif dilakukan karena diharapkan pengetahuan ini dapat menjelaskan hubungan antara struktur dan fungsi dari bahan genetik seperti dapat melakukan replikasi, merupakan penyimpanan informasi, dapat diekspresikan, dan dapat mengalami perubahan (mutasi).

Antara tahun 1940 dan 1953 banyak ahli yang tertarik untuk mengetahui struktur DNA termasuk di dalamnya adalah: Erwin Chargaff, Maurice Wilkins, Rosalind Franklin, Linus Pauling, Francis Crick, dan James Watson. Di antara usaha pencarian struktur DNA ini, pada tahun 1953 Watson dan Crick mengemukakan model struktur molekul DNA yang sampai saat ini diakui kebenarannya.

Nukleotida

Asam nukleat merupakan molekul polimer, polinukleotida, yang tersusun dari monomer nukleotida. Dengan demikian maka nukleotida merupakan unit dasar penyusun asam nukleat.

Nukleotida tersusun dari tiga komponen yang penting, yaitu: basa nitrogen, gula pentosa yang mempunyai lima karbon, dan gugus fosfat. Ada dua jenis basa nitrogen penyusun nukleotida yaitu: basa purin yang berstruktur cincin ganda, dan basa pirimidin yang berstruktur cincin tunggal. Basa purin yang terdapat di dalam nukleotida ada dua tipe yaitu: adenin (A) dan guanin (G), sedangkan 3 tipe basa pirimidin biasa terdapat di nukleotida adalah: sitosin (C), timin (T), dan urasil (U) (Gambar 2.6). DNA dan RNA mengandung basa nitrogen A, G, C. Basa T hanya terdapat di DNA, sedangkan basa U hanya terdapat di molekul RNA.

Gula pentosa yang terdapat di dalam molekul RNA adalah ribosa, sedangkan yang terdapat di molekul DNA adalah deoksiribosa. Deoksiribosa mirip dengan ribosa, hanya saja pada atom C2' pada deoksiribosa kekurangan gugus hidroksil dibandingkan dengan ribosa.

Basa purin atau pirimidin yang bergabung dengan gula pentosa (ribosa atau deoksiribosa) membentuk molekul nukleosida. Jika gugus fosfat bergabung dengan nukleosida, maka membentuk nukleotida. Berdasarkan gula pentosanya, terdapat dua macam nukleosida yaitu: ribonukleosida yang mengandung gula ribosa, dan deoksiribonukleosida yang mengandung gula deoksiribosa. Nukleosida dan nukleotida dinamai berdasarkan pada basa nitrogen yang spesifik. Ikatan di antara tiga komponen penyusun nukleotida adalah sangat spesifik. C1' dari gula pentosa berikatan dengan basa nitrogen. Bila biasanya purin, maka C1' pentosa berikatan dengan N9 purin, dan bila biasanya pirimidin, C1' berikatan dengan N1 pirimidin. Pada molekul nukleotida, gugus fosfat dapat diikat pada C2', C3', C5' dari pentosa.

Bila satu gugus fosfat diikatkan pada nukleosida akan membentuk nukleosida monofosfat, bila dua fosfat, menjadi nukleosida difosfat, dan bila tiga fosfat menjadi nukleosida trifosfat. Bila nukleotida tersusun dari gula ribosa, basa adenin dan tiga gugus fosfat maka disebut dengan adenosin trifosfat (ATP). Sedangkan nukleotida yang tersusun oleh gula deoksiribosa, basa adenin dan tiga gugus fosfat disebut dengan deoksiadenosin trifosfat (dATP). Pada molekul nukleotida di sini, gugus fosfat diikat pada C5' dari pentosa.

Polinukleotida

Nukleotida yang satu diikatkan dengan nukleotida yang lain membentuk rantai polinukleotida dengan ikatan kovalen fosfodiester. Ikatan ini terbentuk antara gugus hidroksil (OH) pada C3' dari satu nukleotida dengan gugus fosfat pada C5' dari nukleotida lainnya, sehingga membentuk ikatan fosfodiester 3'-5'. Nukleotida yang baru dapat ditambahkan pada gugus OH dari C3' pada rantai nukleotida yang sedang tumbuh. Jadi, penambahan nukleotida pada rantai polinukleotida selalu terletak pada gula yang melibatkan gugus fosfat, sedangkan basa nitrogennya bebas, sehingga bentuk polinukleotida merupakan rantai yang tersusun dari tulang punggung yang berupa gula-fosfat dengan nitrogen sebagai percabangannya.

Menurut Watson dan Crick, DNA mempunyai utas ganda, dan kedua utas tersebut saling berpilin. Masing-masing utas tersusun dari rantai polinukleotida. Antara polinukleotida yang satu dengan polinukleotida yang lainnya diikat dengan ikatan-ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen, yang merupakan ikatan yang lemah, terbentuk antara dua basa nitrogen.

Basa guanin (G) selalu berikatan dengan basa sitosin (C) dan basa adenin (A) selalu berikatan dengan timin (T). Perpasangan ini didasarkan pada penelitian Chargaff, sehingga biasa disebut dengan aturan Chargaff.

Chargaff telah mengisolasi DNA dari beberapa organisme, dan mendapatkan bahwa banyaknya basa purin selalu sama dengan banyaknya basa pirimidin, banyaknya A selalu sama dengan T, dan jumlah G sama dengan jumlah C atau $(A+G)/(T+C)=1$. Jumlah G+C tidak sama dengan A+T, atau perbandingan $(G+C)/(A+T)$ tidak sama dengan satu tetapi bervariasi tergantung dari organismenya.

Antara basa G dan C dapat terbentuk 3 ikatan hidrogen, dan antara A dan T dihubungkan dengan 2 ikatan hidrogen, sehingga ikatan antara G-C lebih kuat dibandingkan dengan A-T. Oleh sebab itu DNA yang banyak mengandung G dan C lebih sulit didenaturasi (dirusak atau diuraikan) dibandingkan dengan DNA yang banyak mengandung A dan T.

Utas ganda DNA berpilin searah dengan jarum jam ke arah kanan. Dalam satu putaran terdapat 10 pasang nukleotida. Panjang satu putaran 34 Å sehingga pasangan nukleotida yang satu dengan pasangan nukleotida yang berikutnya berjarak 3,4 Å. DNA utas ganda berpilin berdiameter 20 Å. Utas ganda yang berpilin ini menciptakan suatu celah. Dalam satu putaran terdapat satu celah lebar (major groove) dan satu celah sempit (minor groove). Struktur DNA yang demikian, yang umumnya dijumpai disebut dengan B-DNA. Dari hasil penelitian selanjutnya ternyata ditemukan adanya modifikasi dari struktur B-DNA. A-DNA mempunyai arah pilinan sama dengan B-DNA tetapi lebih kompak, yang berdiameter 23 Å, dan dalam satu putaran terdapat 11 pasang nukleotida. Struktur lainnya adalah Z-DNA yang mempunyai arah pilinan ke kiri (berlawanan dengan arah jarum jam), yang mempunyai diameter 18 Å dan setiap putaran terdapat 12 pasang nukleotida.

Struktur kromosom

Penyusunan DNA di dalam organisme prokaryot berbeda dengan penyusunannya di dalam organisme eukaryot. Di dalam organisme prokaryot atau di dalam mitokondria dan kloroplast, DNA tidak berasosiasi dengan molekul lain. Di dalam inti sel pada organisme eukaryot, DNA berasosiasi dengan protein histon.

DNA yang berasosiasi dengan protein histon disebut kromatin. Histon merupakan suatu protein yang bermuatan positif karena banyak mengandung asam amino lisin dan arginin. Kromatin tersusun dari nukleosom. Satu nukleosom tersusun dari 2 jenis molekul tetramer dan 200 pasang nukleotida serta satu histon H1.

Molekul tetramer terdiri dari 2 protein histon H2A dan 2 protein histon H2B, sedangkan tetramer lainnya tersusun dari 2 molekul protein histon H3 dan 2 protein histon H4. Kedua tetramer ini membentuk oktomer. Molekul oktomer ini dililit oleh DNA utas ganda sepanjang 146 pb, membentuk unsur atau partikel inti nukleosom. Histon H1 menempel pada bagian dasar partikel inti dan mengikat masing-masing 10 pb pada bagian kiri dan kanan dari partikel inti nukleosom. Selain itu, nukleosom mengandung 34 pb DNA yang merupakan DNA penghubung (linker DNA) dengan nukleosom lainnya. Jadi, dalam satu nukleosom terdapat 200 pb DNA, dan 9 molekul protein histon (1 H1, 2 H2A, 2 H2B, 2 H3, 2 H4). Nukleosom ini mempunyai diameter 100 Ao.

Nukleosom-nukleosom ini membentuk suatu gulungan sehingga membentuk struktur selenoid atau kumparan. Setiap gulungan terdiri dari 6 nukleosom, dan berdiameter 300 Ao. Gulungan-gulungan ini membentuk simpul, dan setiap 50 gulungan membentuk satu simpul yang diikat oleh suatu matriks. Simpul-simpul ini menggulung, dan satu putaran mengandung 18 simpul yang berdiameter 0,84 μ m. Simpul-simpul yang menggulung ini membentuk kromosom.

Salah satu fungsi bahan genetik adalah sebagai penyimpan informasi genetik. Sesuai dengan fungsi ini, maka informasi yang dikandung oleh DNA harus dapat dipertahankan atau diwariskan ke generasi berikutnya. Pewarisan informasi yang dikandung oleh DNA dilakukan melalui proses replikasi. Replikasi atau penggandaan DNA merupakan proses pembentukan molekul DNA yang baru berdasarkan molekul DNA yang sudah ada.

Fungsi lain dari bahan genetik adalah bahwa informasi genetik yang dikandungnya dapat diekspresikan. Ekspresi gen dilakukan melalui dua tahapan yaitu: transkripsi dan translasi.

Replikasi DNA

Di dalam siklus hidupnya, sel melalui beberapa tahap (Gambar 3.1), yaitu: (1) tahap pertumbuhan awal sel (G1), (2) tahap replikasi kromosom atau DNA (S), (3) tahap pertumbuhan sel (G2), dan (4) tahap pembelahan (M). Pada tahap pertumbuhan, baik pada G1 maupun pada G2 sel mensintesis berbagai senyawa yang dibutuhkannya seperti protein, lipid, dan karbohidrat yang diperlukan untuk replikasi atau pembelahan sel. Pada tahap S, DNA mengalami penggandaan dengan menggunakan berbagai senyawa yang disintesis selama tahap G1. Setelah DNA mengalami penggandaan, sel tumbuh terus (tahap G2) dengan mensintesis senyawa-senyawa yang diperlukan untuk tahap berikutnya, yaitu tahap pembelahan (M). Pada tahap G2 jumlah DNA yang terdapat di dalam sel berlipat ganda. Pada tahap M, yang terbagi lagi ke dalam tahapan profase, metafase, anafase, dan telofase, DNA membagi diri ke dalam dua sel anak melalui proses pembelahan. Jadi, DNA melakukan replikasi pada saat sel akan memperbanyak diri.

DNA melakukan replikasi dengan mengikuti pola semikonservatif. Dengan pola semikonservatif artinya bahwa setiap utas DNA menjadi cetakan bagi pembentukan utas baru, sehingga pada akhir proses replikasi akan ditemukan dua utas ganda yang masing-masing mengandung satu utas baru dan satu utas lama.

Terdapat dua model replikasi lainnya yaitu pola konservatif dan pola dispersif. Pada pola konservatif, dua utas dari utas ganda DNA secara bersama-sama membentuk dua utas baru, sehingga akan dihasilkan satu utas ganda baru dan satu utas ganda lama. Replikasi yang mengikuti pola dispersif akan menghasilkan dua utas ganda baru yang masing-masing terdiri dari utas lama dan utas baru yang disusun secara selang-seling. Meselson dan Stahl telah membuktikan bahwa kedua pola ini tidak benar, dan yang benar adalah bahwa replikasi DNA mengikuti pola semikonservatif.

Meselson dan Stahl (1958) melakukan percobaannya dengan menggunakan radioisotop ^{15}N dan ^{14}N . Unsur nitrogen ^{15}N berbeda dari ^{14}N karena ^{15}N lebih berat. Mula-mula mereka menumbuhkan *E. coli* di dalam media yang mengandung ^{15}N pada senyawa-senyawa basa nitrogennya (generasi 0). Sebagian bakteri ini diisolasi DNANYA, sebagian lagi ditumbuhkan pada media yang mengandung ^{14}N . Sebagian dari generasi 1 ini diisolasi DNANYA dan sebagian lagi dibiarkan tumbuh pada media yang sama untuk mendapatkan generasi 2, dan seterusnya.

DNA yang diisolasi dari masing-masing generasi kemudian disentrifugasi secara terpisah di dalam gradien kerapatan CsCl. Hasil dari sentrifugasi menunjukkan bahwa DNA generasi 0 hanya membentuk satu pita yang terdapat di bagian bawah tabung. Pada generasi 1, terdapat satu pita yang letaknya berbeda dari generasi 0, yaitu terletak sedikit di atas pita generasi 0. Ini menunjukkan bahwa DNA generasi 1 lebih ringan dari generasi 0. Pada generasi 2, hasil sentrifugasi menunjukkan adanya 2 pita, satu terletak pada posisi yang sama dengan generasi 1 dan satu pita lagi terdapat di atasnya, dengan intensitas yang sama. Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat lagi utas ganda berat yang disusun hanya oleh ^{15}N , tetapi terdapat utas-utas ganda yang lebih ringan, yaitu yang disusun oleh ^{15}N dan ^{14}N atau keduanya oleh ^{14}N . Pada generasi 3, hasil sentrifugasi DNA menunjukkan pola pita yang sama dengan generasi 2 hanya saja intensitas pita yang paling atas lebih kuat dari pita yang di tengah. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi DNA utas ganda yang tersusun dari ^{14}N dan ^{14}N lebih besar dari pada DNA yang tersusun dari ^{14}N dan ^{15}N . Pada generasi-generasi berikutnya, pita yang di tengah makin lama makin tipis dibandingkan dengan pita yang di atas. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi utas ganda yang terdiri dari $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ makin lama makin berkurang, sedangkan yang tersusun oleh $^{14}\text{N}/^{14}\text{N}$ semakin besar konsentrasinya. Dari hasil percobaannya, Meselson dan Stahl menyimpulkan bahwa DNA melakukan replikasi dengan pola semikonservatif.

Sintesis DNA hanya bisa dimulai bila utas ganda DNA terurai menjadi dua utas tunggal, karena utas-utas tunggal ini yang digunakan sebagai cetakan bagi sintesis DNA yang baru. Utas ganda DNA dapat terurai menjadi utas tunggal pada daerah yang disebut dengan titik awal replikasi (ori). Hanya DNA yang mempunyai ori dapat melakukan replikasi. DNA yang demikian disebut dengan replikon.

Penguraian utas ganda DNA menjadi utas-utas tunggal dilakukan oleh enzim helikase. Pada awal replikasi, helikase menyisip pada daerah ori, kemudian diawali dari ori ini utas ganda DNA diurai menjadi dua utas tunggal. Penguraian utas ganda ini menyebabkan tegangan pada utas ganda di atas yang terurai. Tegangan tersebut dikurangi oleh kerja enzim DNA girase. Setelah utas ganda DNA terurai, molekul RNA berukuran pendek disintesis dan menempel pada ujung 3'OH dari utas DNA sesuai dengan aturan chargaff (A-T, G-C) dengan bantuan enzim RNA polimerase atau disebut juga primase. RNA berukuran pendek ini disebut dengan primer. Dari RNA primer ini DNA disintesis dengan menggunakan cetakan utas DNA yang sudah ada dengan arah sintesis dari 5'P ke 3'OH dan mengikuti aturan chargaff. Sintesis DNA yang berawal dari RNA primer dikatalisis oleh enzim DNA polimerase III.

DNA utas ganda yang diuraikan helikase menimbulkan bentuk garpu, dimana percabangan garpu berakhir pada DNA yang belum terurai. Utas tunggal hasil penguraian utas ganda oleh enzim helikase dipertahankan kestabilannya oleh protein pengikat utas tunggal SSBP (single-stranded binding protein).

Sintesis DNA mempunyai arah 5' ke 3' sehingga pada saat percabangan garpu memanjang, maka pada salah satu utas akan disintesis DNA secara kontinyu, sedangkan pada utas lainnya sintesis DNA tidak kontinyu. Utas DNA yang digunakan sebagai cetakan bagi DNA yang disintesis secara kontinyu disebut dengan utas leading, sedangkan utas DNA yang digunakan sebagai cetakan bagi DNA yang disintesis secara tidak kontinyu disebut dengan utas lagging. Pada utas lagging terdapat beberapa fragmen atau potongan DNA. Potongan-potongan ini disebut dengan fragmen Okazaki. Antara satu fragmen dan fragmen lainnya terdapat celah. DNA polimerase I berfungsi untuk menghilangkan RNA primer dan sekaligus mensintesis DNA pada celah di antara dua fragmen Okazaki. Setelah disintesis oleh DNA polimerase I, kedua potongan DNA yang sudah berdekatan disambungkan satu dengan lainnya oleh enzim ligase.

Ekspresi Gen

Ekspresi gen adalah proses penentuan sifat dari suatu organisme oleh gen. Suatu sifat yang dipunyai oleh suatu organisme merupakan hasil proses metabolisme yang terjadi di dalam sel. Proses metabolisme dapat berlangsung karena adanya enzim yang berfungsi sebagai katalisator proses-proses biokimia. Enzim dan protein lainnya diterjemahkan dari urutan nukleotida yang ada pada molekul mRNA, dan mRNA itu sendiri disintesis berdasarkan utas cetakan DNA. Gen tersusun dari molekul DNA, sehingga gen menentukan sifat suatu organisme.

Seperti telah disinggung di depan bahwa ekspresi gen dilakukan melalui dua tahap, yaitu: transkripsi dan translasi. Proses transkripsi terjadi di dalam inti sel, sedangkan translasi berlangsung di sitoplasma, sehingga RNA harus dikeluarkan dari inti sel ke sitoplasma.

Transkripsi

Transkripsi merupakan proses pembentukan molekul RNA dengan menggunakan DNA sebagai cetaknya. Tidak semua bagian DNA akan ditranskripsikan, tetapi hanya bagian tertentu saja. Bagian tertentu tersebut disebut dengan gen. Keseluruhan DNA baik gen maupun sekuensi DNA bukan penyandi (non-coding) yang dikandung oleh suatu organisme disebut dengan genom.

Ruas DNA yang akan ditranskripsikan dibatasi oleh promoter dan terminator. Hanya satu dari dua utas DNA yang digunakan sebagai cetakan sintesis RNA. Utas DNA yang digunakan sebagai cetakan bagi sintesis RNA disebut dengan utas cetakan (template), sedangkan utas DNA lainnya disebut dengan utas pendamping. Walaupun hanya satu utas yang berfungsi sebagai cetakan, tetapi tidak selalu utas yang sama digunakan sebagai utas cetakan sepanjang molekul DNA di dalam genom suatu organisme. Jadi, pada satu gen, utas yang satu digunakan sebagai cetakan, tetapi pada gen lainnya, kemungkinan utas yang lain digunakan sebagai cetakan.

Proses transkripsi menghasilkan tiga jenis RNA, yaitu: RNA duta (mRNA= messenger RNA), RNA transfer (tRNA= transfer RNA), dan RNA ribosomal (rRNA= ribosomal RNA). Ketiga jenis RNA ini berperan di dalam proses translasi. Hanya mRNA yang akan diterjemahkan kedalam protein. tRNA berperan sebagai molekul pembawa asam amino yang akan dirangkaikan menjadi polipeptida sesuai dengan sandi yang terdapat pada mRNA. rRNA berfungsi sebagai salah satu molekul penyusun ribosom.

Proses transkripsi dikatalisis oleh enzim transkriptase atau RNA polimerase. Pada organisme prokaryot seperti *E. coli*, hanya terdapat satu jenis RNA polimerase untuk mengkatalisis sintesis semua jenis RNA. Pada organisme eukaryot, terdapat tiga jenis RNA polimerase, yaitu: (1) RNA polimerase I yang berfungsi untuk mengkatalisis pembentukan rRNA, (2) RNA polimerase II yang berperan dalam sintesis tRNA dan beberapa molekul rRNA, dan (3) RNA polimerase III yang bertugas mengkatalisis proses sintesis mRNA.

Enzim RNA polimerase lengkap (disebut holoenzim) tersusun dari enzim inti dan faktor transkripsi. Enzim inti tersusun dari dua subunit. Proses transkripsi mempunyai beberapa karakteristik yaitu bahwa: proses sintesis mempunyai arah dari 5'P ke 3'OH, berlangsung secara anti paralel bila dibandingkan dengan utas cetaknya, dan mengikuti aturan chargaff atau basa-basanya berpasangan secara komplementer (A-T; G-C). Proses transkripsi dapat dibagi kedalam tiga tahap, yaitu: inisiasi sintesis RNA, pemanjangan (elongasi) RNA dan penyelesaian (terminasi) sintesis RNA.

Inisiasi dimulai pada saat RNA polimerase menempel pada molekul DNA utas ganda. RNA polimerase dapat menempel pada situs DNA secara spesifik karena adanya faktor sigma. Pada daerah penempelan RNA polimerase ini, utas ganda DNA terurai menjadi utas tunggal secara lokal. Nukleotida pertama kemudian ditempatkan di depan utas cetakan kemudian disintesis nukleotida berikutnya sesuai dengan utas cetakan yang ada didepannya. Titik atau situs dimana nukleotida pertama diletakkan di depan utas cetakan disebut dengan titik atau situs inisiasi. Setelah terbentuk rangkaian RNA yang tersusun dari 2-9 nukleotida, faktor sigma meninggalkan kompleks enzim inti.

Promoter adalah situs (daerah) yang dikenali pertama kali oleh RNA polimerase sebagai tempat penempelannya. Promoter ini merupakan sekuensi DNA yang terdiri dari sekitar 40 pb yang terletak tepat sebelum situs mulainya transkripsi. Untuk memudahkan pada ahli, pemberian kode +1 berarti bahwa pada situs tersebut nukleotida pertama disintesis. Jadi, promoter terletak di daerah sebelum atau di depan (up-stream) situs +1. Daerah sebelum +1 diberi kode mulai -1, -2, dan seterusnya.

Pada prokaryot, dua daerah yang hampir selalu ada pada promoter adalah sekuensi -35 dan -10. Kedua daerah tersebut terdiri dari 6 pb yang keduanya dipisahkan oleh sekitar 25 pb. Pada daerah -35 (antara -35 - -30), tiga basa yang hampir selalu (75%) ada adalah: TTG.... Pada daerah -10 (antara -12 - -7), basa yang dikonservasi adalah: TA...T. Daerah ini disebut juga dengan kotak Pribnow (Pribnow box) yang merupakan daerah peringatan bagi RNA polimerase untuk memulai transkripsi.

Pada eukaryot, RNA polimerase II akan mengenali daerah promoter yang lebih awal yaitu pada -130 yang disebut juga dengan kotak CAAT (CAAT box) dan -30 yang disebut dengan kotak TATA (TATA box) atau disebut juga kotak Goldberg-Hogness yang kaya basa AT. Kotak TATA ini mempunyai kesamaan dengan kotak Pribnow pada prokaryot.

Proses pemanjangan RNA dilakukan oleh RNA polimerase yang sudah tidak mengandung faktor sigma. Posisi faktor sigma digantikan oleh NusA. Pada tahap ini ribonukleotida secara suksesif menempel pada utas RNA yang sedang tumbuh membentuk hibrid DNA/RNA. RNA polimerase bergerak terus sepanjang utas DNA sambil memisahkan kedua utas DNA. Utas DNA yang terurai secara lokal ini besarnya sekitar 17 pb. Pada tahap pemanjangan ini RNA polimerase menutupi DNA sepanjang sekitar 60 pb. Dengan Bergeraknya sintesis RNA, pada bagian tertentu dari utas RNA yang telah disintesis berpisah dengan utas DNA, sedangkan bagian lain masih membentuk hibrid RNA/DNA dengan panjang sekitar 12 pb.

Pada daerah terminator, RNA polimerase tidak mampu lagi menempelkan ribonukleotida pada RNA yang telah terbentuk. Pada saat ini disebut dengan tahap terminasi. Pada tahap ini NusA diganti oleh faktor rho. Pada tahap ini RNA polimerase dan RNA dibebaskan dari DNA, dan DNA membentuk utas ganda kembali. Terminator pada prokaryot ditandai oleh daerah yang simetri tidak sempurna, dan daerah tersebut biasanya kaya basa AT yang mengikuti daerah simetri tidak sempurna.

Translasi

Dalam proses translasi asam amino akan dirangkaikan dengan asam amino lainnya untuk membentuk rantai polipeptida atau protein. Jenis asam amino yang dirangkaikan ditentukan oleh urutan nukleotida yang terdapat pada molekul mRNA. Jadi, mRNA digunakan sebagai model cetakan bagi sintesis protein. Asam amino dirangkaikan dengan asam amino lain dengan ikatan peptida yang dilakukan oleh ribosom.

Asam amino yang akan dirangkaikan dengan asam amino lainnya dibawa oleh tRNA. Setiap asam amino akan dibawa oleh tRNA yang spesifik ke dalam kompleks mRNA-ribosom.

mRNA merupakan rangkaian kodon yang akan dibaca oleh ribosom. Kodon pada mRNA akan berpasangan dengan antikodon yang ada pada tRNA. Setiap tRNA mempunyai antikodon yang spesifik. Translasi berlangsung mulai dari kodon awal sampai kodon akhir. Hubungan antara kodon dengan asam amino diatur melalui sandi genetik. Dalam proses translasi ini hanya ada satu kodon awal yaitu AUG yang menyandi asam amino metionin dan tiga kodon akhir: UAA, UAG, dan UGA.

Seperti pada proses transkripsi, proses translasi dapat dibagi ke dalam tiga tahap: inisiasi, pemanjangan, dan penyelesaian.

Pada tahap inisiasi, ribosom akan menempel pada mRNA pada daerah yang spesifik. Ribosom mempunyai dua situs penempelan untuk tRNA, yaitu situs P (peptidil) dan situs A (aminoasil). Bilamana ribosom ini bertemu dengan kodon awal (AUG pada mRNA), maka tRNA yang membawa metionin akan masuk ke dalam situs P di dalam ribosom, dan ribosom akan membaca kodon disebelahnya (yang ada di bawahnya). Sesuai dengan kodonnya, tRNA yang membawa asam amino tertentu akan memasuki situs A.

Proses pemanjangan dimulai bilamana ribosom bergerak ke bawah (ke arah 3'OH). tRNA yang tadinya berada pada situs P akan keluar dari kompleks ribosom-mRNA sambil memindahkan asam amino yang dibawanya kepada tRNA yang berada pada situs P yang tadinya berada pada situs A.

Pada saat yang bersamaan situs A menjadi kosong. Situs yang kosong ini akan diisi oleh tRNA yang membawa asam amino tertentu. Bilamana ribosom ini bergerak lagi ke bawah sambil membaca kodon berikutnya, tRNA yang berada pada situs P keluar dari situs tersebut sambil memindahkan polipeptida yang sedang tumbuh yang dibawanya ke pada asam amino yang dibawa oleh tRNA yang berada pada situs P yang berasal dari situs A. Situs A akan diisi oleh tRNA yang baru lagi. Ribosom ini akan bergerak terus dengan arah 5'P ke 3'OH sepanjang mRNA sambil merangkai asam amino.

Proses penyelesaian atau terminasi ditandai bila ribosom bertemu dengan kodon akhir. Pada saat ini tidak satupun asam amino yang dirangkai sehingga proses sintesis protein berakhir. Ribosom kemudian berpisah dari mRNA dan terurai menjadi 2 subunit, yaitu sub unit besar dan sub unit kecil. Selama proses translasi, subunit kecil menempel pada mRNA sedangkan subunit besar berperan sebagai tempat tRNA (situs P dan situs A).

Contoh proses pembentukan protein dari molekul DNA secara sederhana:

U. pendamping: 5'-A T G G G T A C C C A T G C T T T T G C C -3'

U. cetakan : 3'-T A C C C A T G G G T A C G A A A A C G G -5'

mRNA : 5'-A U G G G U A C C C A U G C U U U U G C C -3'

Protein : Met - Gly - Thr - His - Ser - Phe - Ala -