

GENETIKA MOLEKULER



universitas
MALIKUSSALEH

dr. SRI WAHYUNI, M.Sc

GENETIKA MOLEKULER

UNIMAL PRESS

Judul: **Genetika Molekuler**

x + 102 hal., 15 cm x 23 cm

Cetakan Pertama: September, 2016.

Hak Cipta © dilindungi Undang-undang. *All Rights Reserved.*

Penulis: **Sri Wahyuni**

Perancang Sampul:

Penata Letak: Eriyanto

Pracetak dan Produksi: **Unimal Press**

Penerbit:

UNIMAL PRESS

Unimal Press

Jl. Sulawesi No.1-2

Kampus Bukit Indah Lhokseumawe 24351

PO.Box. 141. Telp. 0645-41373. Fax. 0645-44450

Laman: www.unimal.ac.id/unimalpress.

Email: unimalpress@gmail.com

ISBN: **978-602-1373-66-8**



Dilarang keras memfotocopy atau memperbanyak sebahagian atau seluruh buku ini tanpa seizin tertulis dari Penerbit

Kata Pengantar

Dengan mengucapkan syukur ke hadirat Allah SWT, akhirnya penulis dapat menyelesaikan sebuah Buku Ajar yang berjudul “**Genetika Molekuler**”. Buku Ajar ini berisikan pengantar tentang aspek biokimia genetika pada manusia. Dimulai dari genetika umum, pewarisan gen dalam keluarga, pewarisan penyakit hereditas, bagaimana informasi genetik diwariskan antar individu, faktor yang menyebabkan terjadi mutasi pada suatu DNA normal, serta teknologi rekombinan DNA yang semakin banyak dipergunakan baik untuk diagnosis maupun terapi.

Buku ajar ini diperuntukkan bagi mahasiswa semester I Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Unimal untuk menunjang pembelajaran dalam mata kuliah Blok 1.1 Ilmu Dasar Kedokteran dan Profesi. Salah satu modul dalam mata kuliah ini membahas mengenai genetika manusia yang dijabarkan dalam tujuan pembelajaran tutorial dan kuliah pengantar. Buku ini juga dimaksudkan untuk memberikan dasar-dasar pemahaman tentang struktur DNA dan RNA, sintesis protein dan teknik rekayasa genetika yang semakin kompleks serta kaitannya dengan bidang kedokteran.

Untuk memudahkan pemahaman mengenai isi buku yang ditulis, bahasa yang digunakan lebih mudah dimengerti dan diperjelas dengan skema dan gambar dari literatur yang sudah tersedia. Uraian tentang substansi buku ajar ini diperoleh dari berbagai literatur asing, baik dari *text-book* maupun *review jurnal* internasional. Pada buku ini hasil penelitian dan pengalaman penulis sendiri yang memang meneliti di bidang genetika populasi dan nutrigenomik.

Walaupun demikian, penulis menyadari mungkin masih banyak terdapat kekurangan sehingga saran dan koreksi masih sangat dibutuhkan untuk meningkatkan kualitas buku ajar ini dalam mentransfer pengetahuan kepada mahasiswa. Semoga buku ajar ini bermanfaat bagi para mahasiswa yang kuliah di Fakultas Kedokteran ataupun bidang kesehatan lainnya.

Akhir kata, penulis tidak lupa memberikan apresiasi kepada Penerbit Unimal Press Universitas Malikussaleh yang membuka kesempatan mengikuti hibah Buku Ajar sehingga dapat diterbitkan dengan kualitas yang sangat baik.

Penulis,

dr. Sri Wahyuni, M.Sc.

Daftar isi

Kata Pengantar	v
Daftar isi.....	vii
BAB I. DASAR GENETIKA MANUSIA	1
1.1. Pewarisan Gen Dalam Keluarga.....	1
1.2. Sifat/Penyakit Yang Dapat Diturunkan Dalam Keluarga/Penyakit Herediter	4
1.2.1. Pewarisan Sifat Autosomal Pada Manusia.....	4
a. <i>Polidaktili</i> (Jari lebih).....	6
b. Kemampuan mengecap <i>phenylthiocarbamida</i> (PTC).....	7
c. <i>Thalasemia</i>	8
d. <i>Dentinogenesis imperfecta</i> (gigi opalesen)	10
e. <i>Anonychia</i>	10
f. <i>Retinal aplasia</i>	10
g. <i>Katarak</i>	10
1.2.2. Pewarisan Sifat <i>Autosom Resesif</i> Pada Manusia	11
a. Mata biru.....	11
b. “ <i>Cystic fibrosis</i> ” (CF)	12
c. Penyakit <i>Tay-Sachs</i>	13
1.2.3. <i>X-Linked Inheritance</i>	13
1.2.4. Alel Ganda Pada Manusia.....	13
BAB II. INFORMASI GENETIKA	18
2.1. Kromosom, Gen dan Kromatin.....	18
2.1.1. Struktur Kromosom.....	18
2.1.2. Gen	21
a. Sifat fisik gen	21
b. Sub unit dari Gen	21
c. Sifat Dari Gen	22
d. Klasifikasi Gen.....	22
2.1.3. Kromatin	23
2.1.4. Pengemasan DNA Di Dalam Sel.....	24
2.1.5. Genom Manusia	25
2.2. Struktur Asam Nukleat.....	26
a. Basa	26
b. Molekul pentosa	27
c. Nukleotida dan nukleosida	28
2.3. Organisasi DNA Manusia	29
2.3.1. Letak DNA.....	29

2.3.2. Struktur primer DNA	29
2.3.3. Konsep Pasangan Basa.....	31
2.3.4. Untai DNA Adalah Antiparalel.....	32
2.3.5. Heliks Ganda.....	33
a. Bentuk B (B-DNA)	34
b. Bentuk A (A-DNA)	34
c. Bentuk Z (Z-DNA)	34
2.3.6. Karakteristik DNA	36
2.3.7. Struktur RNA.....	37
1. Struktur mRNA	38
2. Struktur rRNA	39
3. Struktur tRNA.....	40
2.4. Sintesis/Replikasi DNA.....	41
2.4.1. Prinsip dan Komponen Yang Dibutuhkan	42
2.4.2. Mekanisme Dasar Replikasi DNA.....	45
2.4.2.1. Peran Primer Dalam Replikasi DNA.....	48
2.4.2.2. Terminasi Replikasi DNA	50
2.5. Transkripsi: Sintesis RNA.....	52
1. Promotor.....	53
2. Bagian struktural.....	54
3. Terminator.....	55
2.5.1. Kerja dan Jenis RNA Polimerase.....	55
2.5.2. Sintesis mRNA	56
1. Pembentukan cap RNA (<i>5' capping</i>).....	56
2. Penambahan ekor poli(A)	57
3. Pengeluaran intron (<i>splicing</i>).....	57
4. Migrasi mRNA ke sitoplasma	58
2.5.3. Sintesis rRNA	59
2.5.4. Sintesis tRNA.....	61
2.5.5. Mekanisme Dasar Transkripsi.....	62
1. Inisiasi Transkripsi.....	63
2. Proses Elongasi/Pemanjangan Transkrip.....	64
3. Terminasi Transkripsi.....	65
2.6. Translasi: Sintesis Protein.....	66
2.6.1. Kode Genetik dan Sifatnya.....	67
2.6.2. Pembentukan Aminoasil-tRNA	69
2.6.3. Proses Translasi Protein	71
1. Inisiasi translasi	71
2. Perpanjangan rantai polipeptida (elongasi).....	72
a. Pengikatan aminoasil-tRNA ke tempat A.....	72
b. Pembentukan ikatan peptida.....	73
c. Translokasi peptidil-tRNA ke tempat P.....	73
3. Penghentian translasi.....	74

2.6.4. Modifikasi Rantai Polipeptida Pascatranslasi.....	74
a. Pemotongan (<i>Trimming</i>).....	74
b. Perubahan <i>Kovalen</i>	75
c. Degradasi <i>protein</i>	75
BAB III. Mutagen dan DNA Mutasi	82
1.1. Mutagen.....	82
1.2. DNA Mutasi	83
1.3. Tipe Mutasi DNA	83
1. Mutasi titik.....	83
a. <i>Mutasi silent (samar)</i>	83
b. <i>Mutasi missense</i>	83
c. <i>Mutasi nonsense</i>	83
d. Substitusi basa	84
2. <i>Insersi (sisipan)</i>	84
3. <i>Delesi (penghilangan)</i>	84
4. <i>Mutasi frameshift</i>	84
1.4. Mekanisme <i>DNA Repair</i>	84
BAB IV. BIOTEKNOLOGI MOLEKULER DALAM KEDOKTERAN.....	90
4.1. Teknologi Rekombinan DNA.....	90
4.1.1. Strategi Untuk Memperoleh Salinan Gen Atau Fragmen DNA.....	90
4.1.1.1 Fragmen Restriksi.....	90
4.1.1.2. DNA Dari <i>Reverse Transcriptase</i>	92
4.1.1.3. Sintesis DNA Secara Kimia.....	93
4.2. Teknik Untuk Mengidentifikasi Urutan DNA.....	93
4.2.1. <i>Probe</i>	93
4.2.2. <i>Elektroforesis Gel</i>	93
4.3. Teknik untuk amplifikasi DNA <i>Polimerase Chain Reaction (PCR)</i>	94
4.4. Penggunaan teknik DNA rekombinan untuk diagnosis penyakit.....	95
4.4.1. Deteksi Polimorfisme DNA.....	95
1. <i>Restriction Fragment Length Polymorphisms (RFLP)</i>	96
2. <i>Deteksi mutasi DNA oleh PCR</i>	96
3. <i>Deteksi mutasi yang mengandung regio yang sangat variabel</i>	96
GLOSSARIUM.....	100

BAB I

DASAR GENETIKA MANUSIA

Tujuan Instruksional Umum:

Pada akhir pembelajaran, mahasiswa mampu memahami tentang dasar genetika secara umum pada manusia.

Tujuan Instruksional Khusus:

Pada akhir pembelajaran mahasiswa mampu:

1. Menjelaskan pewarisan gen terangkai X-resesif
2. Menjelaskan kemungkinan genotip kedua orang tuanya
3. Menjelaskan pola pewarisan gen terangkai X-resesif
4. Menjelaskan alel ganda (alel dan genotip golongan darah ABO)
5. Menjelaskan cara pewarisan golongan darah ABO
6. Menjelaskan tentang kromosom sex manusia
7. Menjelaskan penyakit yang terkait pada kromosom sex manusia

1.1. Pewarisan Gen Dalam Keluarga

Orang yang pertama-tama menaruh perhatian dan membuat perhitungan-perhitungan yang cermat dari hasil berbagai macam persilangan dengan menggunakan tanaman kapri atau ercis (*Pisum sativum*) selama delapan tahun (1856-1863) ialah Gregor Johann Mendel. Mendel dapat memberi beberapa kesimpulan penting dari hasil penelitiannya, yaitu:

1. Hibrid ialah hasil persilangan dua individu dengan tanda beda, memiliki sifat yang mirip dengan induknya dan setiap hibrid mempunyai sifat yang sama dengan hibrid yang lain dari spesies yang sama.
2. Karakter (sifat) dari keturunan hibrid selalu timbul kembali secara teratur dan inilah yang memberi petunjuk kepada Mendel bahwa tentu ada faktor-faktor tertentu yang mengambil peranan dalam pemindahan sifat dari satu generasi ke generasi berikutnya
3. Mendel merasa bahwa apabila “faktor-faktor keturunan” itu mengikuti distribusi logis, maka suatu hukum atau pola akan dapat diketahui dengan cara mengadakan banyak persilangan

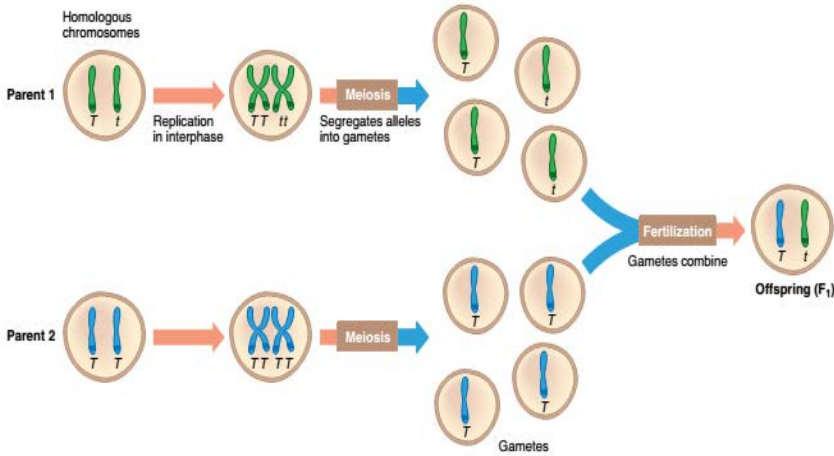
dan menghitung bentuk-bentuk berbeda seperti yang tampak dalam keturunan.

Terminologi yang harus dipahami untuk mengetahui pola pewarisan Mendel adalah sebagai berikut:

- P = singkatan dari kata Parental, yang berarti induk
- F = singkatan dari kata Filial, yang berarti keturunan
- Fenotip = karakter (sifat) yang dapat kita amati (bentuk, ukuran, warna, golongan darah, dan sebagainya)
- Genotip = susunan genetik suatu individu (sesuatu yang tidak dapat diamati)
- Simbol untuk gen dikemukakan dengan sebuah huruf yang biasanya merupakan huruf pertama dari suatu sifat. Sifat dominan ditulis dengan huruf kapital, sedangkan sifat resesif ditulis dengan huruf kecil.
- Genotip suatu individu diberi simbol dengan huruf dobel karena individu itu umumnya diploid.
- Alel = anggota dari sepasang gen. Contoh R dan r merupakan alel satu sama lain, sedangkan R dan t bukan merupakan alel.
- Homozigot = individu dengan dua alel gen identik. Jika kedua alel resesif, disebut homozigot resesif (contoh tt; rr). Jika kedua alel dominan, disebut homozigot dominan (TT; RR).
- Heterozigot = individu dengan dua alel gen berbeda. Apabila kombinasi alel dominan dan resesif (contoh Tt; Rr).

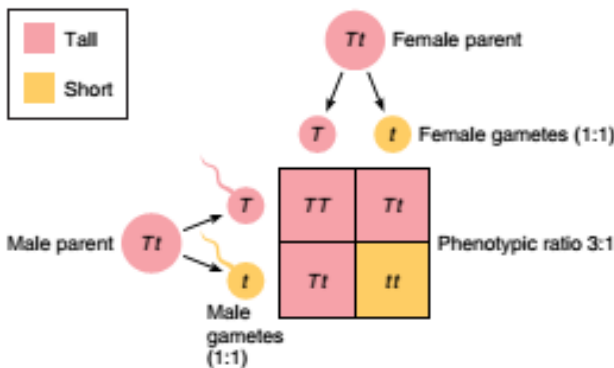
Saat analisis persilangan genetik, generasi pertama disebut generasi parental atau P1, generasi kedua merupakan generasi keturunan pertama atau F1), dan seterusnya. Apabila kakek Anda adalah P1, maka orang tua Anda adalah generasi F1 dan Anda dan saudara sekandung adalah generasi F2.

Observasi Mendel dari pewarisan gen tunggal menggambarkan kejadian meiosis. Ketika sebuah gamet dihasilkan, dua salinan dari gen tertentu akan berpisah. Contoh pada tanaman dengan genotipe Tt, gamet akan membawa bentuk T dan t dalam jumlah yang sama selama anafase. Apabila gamet perlu memulai generasi baru, maka gamet akan berkombinasi secara acak. Oosit pembawa alel t bisa sangat atraktif atau kurang atraktif terhadap sperma dibandingkan oosit pembawa alel T. Dua faktor ini (distribusi yang sama dari gamet dan kombinasi gamet acak) mendasari Hukum Pemisahan Mendel.



Gambar 1-1. Hukum Mendel I-Pemisahan Gen yang sealel (Lewis, 2003)

Persilangan Mendel antara tanaman tinggi dan pendek lebih memperjelas proses meiosis. Mendel menyilangkan tanaman pendek (tt) dengan tanaman tinggi (TT) dan menghasilkan generasi F_1 yang semuanya tinggi (genotip Tt). Berikutnya, ia menyilangkan tanaman F_1 dengan persilangan monohibrid dan ditemukan 3 kemungkinan hasil geneotip yaitu TT , tt , dan Tt . Individu Tt terjadi apabila sperma T membuahi oosit T , tanaman tt berasal dari fertilisasi sperma T dengan oosit t , dan TT bisa terjadi apabila sebuah sperma membuahi oosit T atau oosit t . Tampak bahwa bila terdapat dominasi sepenuhnya, maka persilangan monohibrid menghasilkan 4 kombinasi dalam keturunan dengan perbandingan 3:1. Pada saat ini, digunakan diagram yang disebut diagram Punnet untuk menjelaskan rasio ini.



Gambar 1-2. Diagram Punnet (Lewis, 2003)

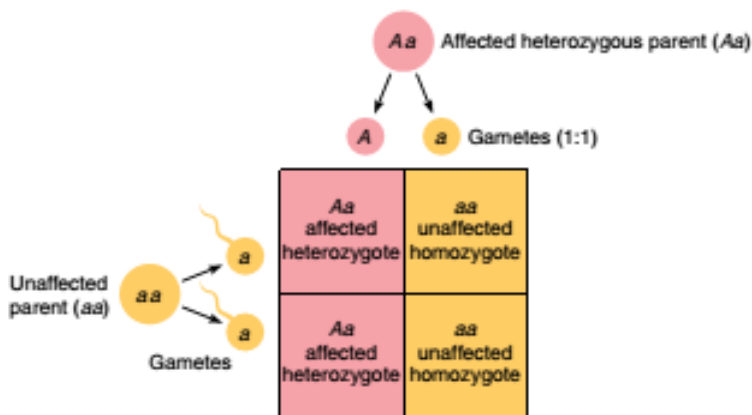
Hukum I Mendel menjelaskan pewarisan oleh gen tunggal dan transmisi gen tunggal pada manusia disebut dengan Mendelian, unifaktorial atau pewarisan gen tunggal. Mendel menjelaskan hukumnya dengan mempelajari pewarisan oleh autosom (kromosom non-seks). Cara hukum ini mempengaruhi model pewarisan tergantung apakah pewarisan ditransmisikan oleh autosom atau kromosom seks dan apakah alelnya dominan atau resesif.

1.2. Sifat/Penyakit Yang Dapat Diturunkan Dalam Keluarga/Penyakit Herediter

1.2.1. Pewarisan Sifat Autosomal Pada Manusia

Yang dimaksud dengan sifat autosomal ialah sifat keturunan yang ditentukan oleh gen pada autosom. Gen ini ada yang dominan dan ada yang resesif. Oleh karena laki-laki dan perempuan mempunyai autosom yang sama, maka sifat keturunan yang ditentukan oleh gen autosomal dapat dijumpai pada laki-laki maupun perempuan.

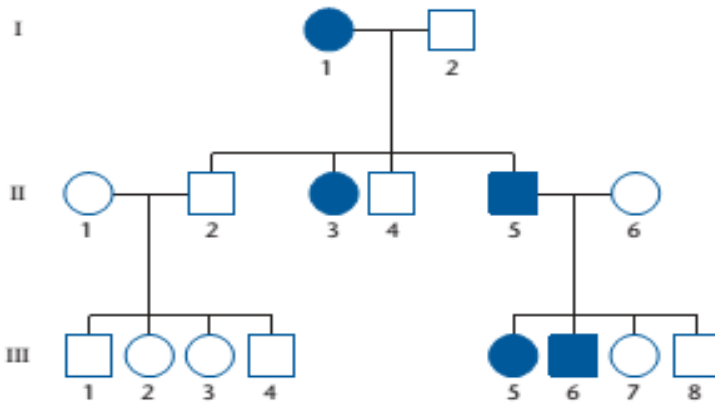
Pewarisan bisa muncul pada kedua jenis kelamin karena autosom membawa gen. Apabila anak mewarisi sifat ini (*trait*), maka minimal salah satu dari orang tua pasti memiliki sifat tersebut. Pewarisan autosomal dominan ada pada tiap generasi. Apabila tidak ada keturunan yang mewarisi sifat tersebut pada satu generasi, transmisinya berhenti karena keturunan hanya dapat melewati bentuk resesif dari gen pembawa.



Gambar 1-3. Pewarisan autosomal dominan dari ibu yang memiliki *autosomal dominant trait* dan ayah yang tidak memiliki kelainan (Lewis, 2003)

Kriteria dari *autosomal dominant trait* adalah:

- 1) Laki-laki dan perempuan dapat terkena
- 2) Adanya individu yang terkena pada generasi yang berturut-turut (*successive generations*)
- 3) Laki-laki dan perempuan mempunyai sifat transmisi sifat/penyakit dengan frekuensi yang sama
- 4) Individu yang terkena minimal mempunyai 1 orang tua yang terkena juga
- 5) Individu sehat yang menikah individu yang sehat jarang mempunyai keturunan yang menderita kelainan yang sama
- 6) Transmisi berhenti apabila generasi tidak ada yang terinfeksi



Gambar 1-4. Contoh *pedigree* dari penyakit/kelainan autosomal dominan

Keterangan:



: Laki-laki



: Perempuan Angka Romawi : Generasi

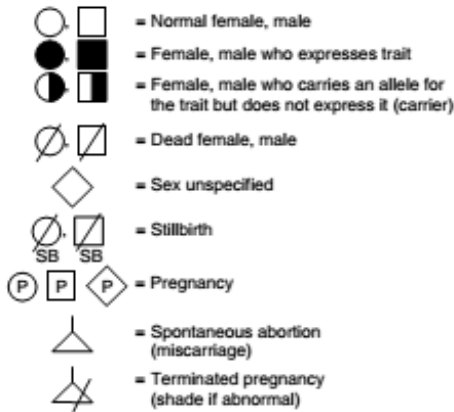
Angka Arab : Individu pada generasi tertentu

Garis horizontal antara tanda laki-laki dan perempuan: hubungan perkawinan

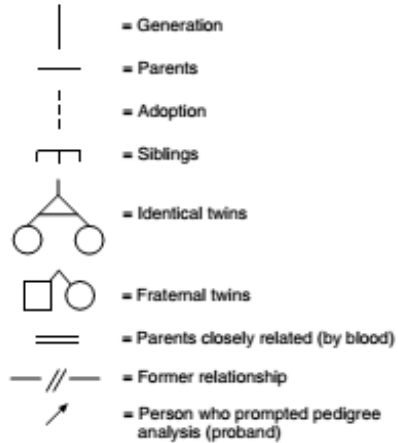
Garis horizontal antar anak : hubungan keluarga

Tanda yang terisi warna biru : yang mengalami kelainan/penyakit

Symbols



Lines



Hadirnya sebuah gen dominan di dalam genotip seseorang sudah menyebabkan sifat itu tampak padanya.

a. *Polidaktili* (Jari lebih)

Polidaktili adalah suatu kelainan yang diwariskan oleh gen autosomal dominan P, sehingga orang mempunyai tambahan jari pada satu atau dua tangan dan/atau pada kakinya. Yang umum dijumpai ialah terdapatnya jari tambahan pada satu atau kedua tangan. Tempatnya jari tambahan itu berbeda-beda, ada yang terdapat di dekat ibu jari dan ada pula yang terdapat di dekat jari kelingking.

Orang normal adalah homozigotik resesif pp. Pada individu heterozigotik Pp derajat ekspresi gen dominan itu berbeda-beda, sehingga lokasi tambahan jari dapat bervariasi. Bila seseorang laki-laki polidaktili heterozigotik menikah dengan orang perempuan normal, maka dalam keturunan kemungkinan timbulnya polidaktili ialah 50%.

Sebuah contoh dari bentuk diagram silsilah suatu keluarga yang memiliki jari lebih dari satu tangan dapat diikuti pada Gambar 4-11. Dapat dilihat bahwa kelainan polidaktili baru akan timbul bila paling sedikit salah seorang dari orang tuanya mempunyai kelainan itu. Menarik perhatian pula bahwa jumlah keturunan yang memiliki kelainan itu kira-kira sama untuk kedua macam seks.

Juga tampak jelas bahwa sifat keturunan ini diwariskan dari satu generasi ke generasi berikutnya secara vertikal. Suatu ciri khas pewarisan sifat keturunan yang ditentukan oleh gen dominan autosomal. Kadang-kadang kelainan ini hanya tampak sebagai

sindaktili, misalnya dua ibu jari pada satu kaki saling melekat menjadi satu. Walaupun polidaktili itu ditentukan oleh sebuah gen dominan autosomal, namun dalam kenyataannya seseorang polidaktili kerap kali mempunyai ayah dan ibu berjari normal. Hal ini tidak perlu diherankan karena pengaruh gen itu pada orang tuanya tidak memperlihatkan ekspresi dan penetrasi yang penuh.

b. Kemampuan mengecap *phenylthiocarbamida* (PTC)

Phenylthiocarbamida (disingkat PTC) atau *phenylthiouracil* merupakan suatu zat kimia. Bagi sementara orang zat ini terasa pahit, sehingga mereka disebut pengecap ("*tester*"). Orang lainnya tidak merasakan apa-apa, sehingga mereka disebut *buta kecap* ("*nontester*").

Dalam tahun 1932 Fox untuk pertama kali menemukan bahwa 71% dari orang-orang yang dites dengan PTC mengatakan bahwa zat itu terasa pahit, sedangkan sisanya tidak merasakan apa-apa. Dalam tahun 1949 Harris dan Kalmus, kemudian disusul oleh Saldanha dan Becak dalam tahun 1959 melaporkan bahwa 70% dari orang kulit putih Amerika dan Eropa adalah *taster*, sedangkan sisanya 30% adalah *non-taster*. Sesudah itu, banyak peneliti telah mengerjakan tes PTC terhadap berbagai suku bangsa di dunia. Hasil penelitian mereka menunjukkan bahwa frekuensi *non-taster* dapat dipakai sebagai salah satu ciri dalam bidang antropologi. Misalnya frekuensi *non-taster* pada bangsa Cina dan Jepang berkisar antara 7,1%-10,6%, Malaysia dan Birma antara 7,77%-9,17% dan India paling tinggi antara 30,2%-42,5%.

Phenylthiocarbamida mudah larut dalam air dan untuk penelitian biasanya disediakan beberapa larutan dari berbagai larutan dengan berbagai konsentrasi. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa itu lebih sensitif terhadap PTC daripada pria. Akan tetapi sampai sekarang belum ada peneliti yang menemukan bahwa ada perbedaan dalam jumlah maupun struktur alat pengecap pada pria dan wanita. Jadi bila ada perbedaan kemampuan merasakan PTC antara wanita dan pria itu disebabkan hal lain.

Selanjutnya Harris dan Kalmus (1949) berpendapat bahwa dengan bertambahnya umur terdapat penurunan kemampuan untuk mengecap PTC. Hal ini sesuai dengan pendapat Arey (1974) yang menemukan bahwa jumlah alat pengecap pada manusia akan berkurang dengan bertambahnya umur.

Balkeslee dalam tahun 1932 berhasil membuktikan bahwa kemampuan untuk mengecap PTC itu herediter (keturunan) yang

diturunkan oleh gen dominan autosomal, yaitu T, sehingga seorang *taster* kemungkinan memiliki genotip TT atau Tt. Sedangkan seorang *non-taster* adalah tt. Seorang laki-laki *taster* (homozigotik) bila menikah dengan perempuan *non-taster* akan mempunyai anak yang semuanya *taster*. Bila ada dua orang *taster* heterozigotik menikah dan mempunyai dua orang anak, yaitu seorang laki-laki *taster* dan seorang perempuan *non-taster* berapakah kemungkinannya bahwa anak laki-laki *taster* itu heterozigotik seperti ayahnya.

Oleh karena suami istri itu heterozigotik, maka $\frac{1}{4}$ dari jumlah anak-anak diperkirakan menjadi *taster*, sedang $\frac{1}{4}$ dari jumlah anak-anak diperkirakan *non-taster*. Karena anaknya laki-laki sudah jelas *taster*, maka bahwa anak itu heterozigotik seperti ayahnya, kemungkinannya ialah $\frac{2}{3}$.

c. Thalasemia

Thalasemia ialah penyakit darah bawaan (keturunan) yang menyebabkan sel darah merah (eritrosit) pecah (hemolisis). Penyakit ini banyak terdapat di negara-negara di sekitar laut tengah (Italia, Yunani, Turki, pantai Utara benua Afrika, di Timur Tengah (Libia, Irak, Afganistan, Iran, Pakistan), India Utara, Muangthai, Laos, Vietnam, Kamboja dan di sekitar khatulistiwa (Indonesia, Afrika Tengah).

Penyakit anemia yang sering juga disebut *Cooley's anemia* ini sangat berbahaya dan terdapat pada bayi dan anak-anak. Thalassemia merupakan kelainan genetik yang ditandai dengan berkurangnya atau tidak ada sama sekali sintesis rantai hemoglobin, sehingga hanya mempunyai kemampuan sedikit untuk mengikat oksigen.

Thalassemia dibedakan atas thalassemia α , thalassemia β , dan thalassemia $\delta\beta$.

1) *Thalassemia* α , sering dijumpai pada penduduk Asia, terutama disebabkan adanya delesi (tidak adanya gen) gen α .

Pada individu normal terdapat 4 gen α pada sepasang kromosom, yaitu 2 gen pada kromosom paternal (berasal dari ayah). Delesi dapat terjadi pada satu gen, 2 gen, 3 gen atau 4 gen. Banyaknya delesi gen α menentukan derajat keparahan keadaan pasien, yaitu:

- Pada delesi 1 gen α (disebut α thalassemia 2) hanya berpengaruh sedikit terhadap kelainan fungsi darah.
- Pada delesi 2 gen α (disebut α thalassemia 1) berakibat anemia ringan.

- Pada delesi 3 gen α (disebut "HbH disease") berakibat anemia berat.
- Pada delesi 4 gen α berakibat fatal pada bayi.

2) *Thalassemia β* , yang biasanya dibedakan lagi dalam β^0 dan β^+ . Pada *thalassemia β^0* , rantai β tidak ditemukan sama sekali, sedangkan pada *thalassemia β^+* rantai β disintesa dalam jumlah kecil. Mekanisme terjadinya *thalassemia β* masih kurang jelas dibanding dengan terjadinya *thalassemia α* . Pada *thalassemia β^+* kelainan yang terjadi adalah pada pemrosesan prekursor ARNd, sedang pada *thalassemia β^0* kelainan yang terjadi lebih kompleks. Pada *thalassemia β* tidak ditemukan adanya delesi gen β , sehingga dapat diperkirakan bahwa jumlah ARNd berkurang pada waktu dikeluarkan dari nukleus menuju sitoplasma, disebabkan adanya kerusakan selama pemrosesan ARNd atau ARNd yang terbentuk tidak stabil.

Thalassemia β yang heterozigotik mengakibatkan anemia ringan dan biasanya tidak memerlukan pengobatan. Dalam keadaan homozigotik terjadi anemia berat dan memerlukan transfusi darah. Pada *thalassemia β^0* yang homozigotik sama sekali tidak ditemukan adanya HbA, sedang pada *thalassemia β^+* yang homozigotik, HbA ditemukan dalam jumlah sedikit sekali.

3) *Thalassemia $\delta\beta$* atau disebut juga *thalassemia F* terjadi penekanan produksi rantai δ pada *thalassemia β* dalam keadaan heterozigotik ditemukan HbA dalam jumlah sedikit dan banyak HbF. Pada keadaan homozigotik hanya ditemukan HbF saja dan penderita mengalami anemia yang agak berat. Itulah hasil berbagai penelitian mutakhir yang dilakukan oleh beberapa ahli.

Seperti telah dikemukakan di muka, *thalassemia* merupakan kelainan genetik, yang secara umum dan untuk mudahnya diketahui ditentukan oleh gen dominan autosomal Th. Orang normal mempunyai genotip thth. Bayi homozigotik dominan ThTh (*Thalassemia mayor*) menderita anemia berat, sehingga berakibat fatal. Individu heterozigotik Thth menderita *Thalassemia minor*, anemia tidak berat, sehingga masih dapat bertahan hidup.

Bila suami-istri masing-masing menderita *thalassemia minor*, maka ada kemungkinan 25% dari jumlah anak mereka akan meninggal dunia karena menderita anemia berat. *Thalassemia mayor*. Di bagian kesehatan anak dari Rumah Sakit Umum Pusat (RSUP) Dr. Cipto Mangunkusumo di DKI Jakarta pernah dijumpai

dua orang anak penderita Thalassemia minor, ialah Linawati (perempuan, 7 tahun) dan Agus Susanto (laki-laki, 5 tahun).

d. Dentinogenesis imperfecta (gigi opalesen)

Dentinogenesis imperfecta (gigi opalesen), ialah suatu kelainan pada gigi manusia. Dentin berwarna putih seperti air susu (opalesen). Penyebabnya gen dominan D, sedangkan alelnya resesif d bila homozigotik menyebabkan gigi normal. Gen ini diwariskan seperti pada polidaktili.

Apabila dibuat foto rontgen gigi orang normal dan kepunyaan pasien Dentinogenesis Imperfecta terdapat beberapa perbedaan yang nyata. Gigi normal memperlihatkan email, dentin dan ruang pulpa serta saluran-saluran akar yang normal. Gigi pasien Dentinogenesis Imperfecta opalesen (putih seperti air susu), email normal, tetapi ruang-ruang pulpa dan saluran-saluran akar pada kebanyakan gigi terhapus dengan dentin abnormal. Terdapat penambahan perbatasan pada hubungan antara mahkota dan akar-akar gigi molar.

e. Anonychia

Suatu kelainan bahwa kuku dari beberapa jari tangan dan/atau kaki tidak ada atau tidak baik tumbuhnya. Kuku biasanya sama sekali absen pada jari telunjuk dan jari tengah, juga kadangkadangkang dari ibu jari. Penyebabnya adalah gen dominan An pada autosom. Gen ini diwariskan seperti pada kejadian lainnya di muka.

f. Retinal aplasia

Suatu kelainan pada mata yang mengakibatkan orang lahir dalam keadaan buta. Ditemukan oleh para dokter Swedia pada tahun 1957. Penyebabnya gen dominan Ra. Dari semua kebutaan di negeri itu, kira-kira 10% disebabkan oleh kelainan ini. Cara pewarisan gen ini sama dengan keterangan di atas.

g. Katarak

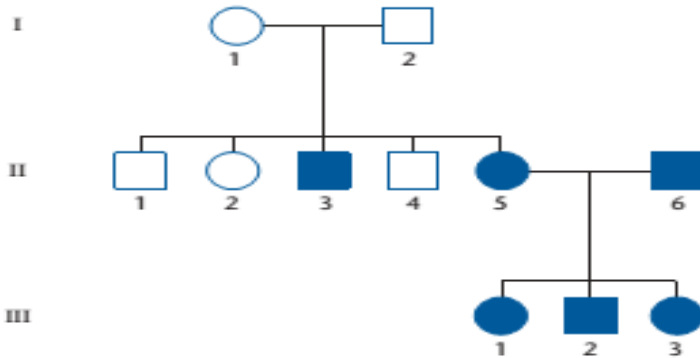
Suatu penyakit mata yang menyebabkan orang menjadi buta. Penyebabnya gen dominan K.

h. Lekuk pipit, leku di dagu, tumbuhnya rambut yang tebal di tangan, lengan dan dada, serta berkemampuan untuk membengkokkan ibu jari dengan sudut yang tajam

1.2.2. Pewarisan Sifat *Autosom Resesif* Pada Manusia

Autosomal *recessive trait* dapat muncul pada kedua jenis kelamin. Individu yang terkena mempunyai genotip homozigot resesif, sedangkan heterozigot disebut *carrier*. Kriteria dari *autosomal recessive trait* adalah:

1. Kedua jenis kelamin dapat terkena
2. Laki-laki atau perempuan yang terkena dapat mewariskan kelainan, kecuali sudah meninggal sebelum usia reproduksi
3. Orangtua dari individu yang terkena merupakan heterozigot atau juga mempunyai kelainan tersebut.
4. Orangtua yang tidak punya kelainan dapat mempunyai keturunan yang sakit



Gambar 1-5. Contoh *pedigree* dari penyakit/kelainan autosomal resesif

Suatu sifat keturunan yang ditentukan oleh sebuah gen resesif pada autosom baru akan tampak apabila suatu individu menerima gen itu dari kedua orang tuanya. Biasanya kedua orang itu nampak normal, meskipun mereka itu sebenarnya pembawa (“carrier”) gen resesif yang dimaksud, berarti bahwa mereka itu masing-masing heterozigotik. Jelaslah kiranya bahwa untuk suatu sifat yang ditentukan oleh sebuah gen resesif, lebih banyak orang yang heterozigotik dalam populasi dibandingkan bila sifat itu ditentukan oleh sebuah gen dominan.

Beberapa sifat keturunan atau penyakit keturunan yang ditentukan oleh gen resesif autosomal ialah:

a. Mata biru

Warna mata timbul sebagai hasil pantulan cahaya dari granula melanin yang terdapat dalam iris. Seperti diketahui, banyaknya granula melanin yang dibentuk oleh gen. Orang yang

memiliki genotip bb hanya mampu membentuk sedikit melanin, sehingga matanya berwarna biru. Orang yang homozigotik dominan BB mampu membentuk melanin dalam jumlah besar, sehingga matanya berwarna coklat tua sampai hitam. Sedangkan orang albino sama sekali tidak dapat membentuk enzim yang diperlukan untuk mengubah tirosin menjadi melanin, sehingga ia tidak memiliki melanin sama sekali dan genotipnya homozigotik aa.

Jadi apabila ada orang bermata coklat tua atau hitam homtozigotik (BB) menikah dengan orang bermata biru (bb), maka keturunannya akan bermata heterozigotik (Bb), sebab warna hitam (B) menunjukkan dominansi penuh.

b. "Cystic Fibrosis" (CF)

Penyakit ini merupakan penyakit keturunan yang paling serius di Amerika Serikat, yang menyerang 5 orang dari 10.000 kelahiran dalam populasi orang kulit putih. Pada orang oriental dan negro, frekuensi itu lebih rendah, yaitu 4 dari 1 juta kelahiran. Penyakit ini ditandai dengan adanya kelainan dalam metabolisme protein, sehingga mengakibatkan kerusakan/kemunduran pada beberapa organ seperti pankreas, infeksi pernafasan yang dari kronis paru-paru. Kebanyakan penderita biasanya meninggal dunia pada umur 18 tahun, tetapi beberapa dapat mencapai usia dewasa. Apabila mereka ini dapat mencapai usia produktif, maka penderita wanita dapat mempunyai keturunan normal, tetapi penderita laki-laki biasanya steril.

Rupa-rupanya penyakit ini timbul pada individu yang homozigotik resesif, sehingga kedua orang tua dari anak yang menderita penyakit ini tentunya harus homozigotik. Simptom dari penyakit ini berbeda-beda menurut umur dan berat ringannya penyakit. Pada usia kanak-kanak menunjukkan tanda-tanda seperti peluhnya sangat asin, keinginan makan bertambah besar. Kira-kira 85% dari pasien CF mempunyai masalah pankreas. Saluran pankreas tersumbat oleh lendir kental, sehingga menghalangi aliran enzim yang diperlukan untuk pencernaan makanan di dalam usus. Kurangnya atau tiadanya enzim pankreas ini mengakibatkan hilangnya 50% dari semua lemak dan protein serta 10% dari semua karbohidrat. Juga kekurangan vitamin A, D, E dan K.

Lendir yang kental itu juga terkumpul di dalam paru-paru sehingga menyukarkan pernafasan. Pasien menderita penyakit paru-paru kronis dan 90% dari kematian akibat CF disebabkan oleh gangguan pada paru-paru ini. Perubahan tekanan di dalam paru-paru juga membatasi aliran darah, sehingga tekanan darah naik. Selain itu

pasien juga mudah kena infeksi. Semua kelainan ini mempercepat meninggalnya pasien.

c. Penyakit Tay-Sachs

Orang yang menderita penyakit ini homozigotik resesif. Urat sarafnya mengalami kemunduran dan akibatnya biasanya kelihatan pada umur 6 bulan. Kehilangan kemampuan intelektualnya dan otot-otot menjadi lemah. Bila gangguan sistem urat saraf itu mengenai indera penglihatan dapat mengakibatkan penderita menjadi buta.

Penyakit ini banyak terdapat pada orang-orang Yahudi Ashkenazy, frekuensinya 1 dari 6.000 kelahiran. Pada orang-orang bukan Yahudi itu, frekuensinya lebih rendah, ialah 1 dari 500.000 kelahiran.

1.2.3. X-Linked Inheritance

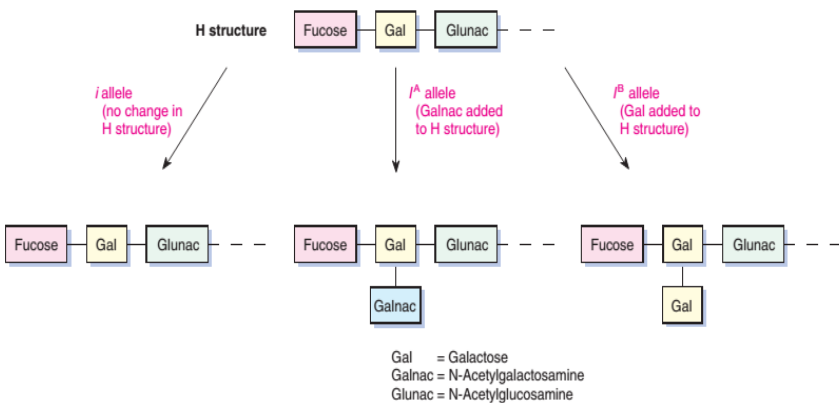
Pada laki-laki sehat, setengah dari spermanya membawa sebuah kromosom X dan separuhnya lagi membawa sebuah kromosom Y. Sel telur yang belum dibuahi menerima kromosom X tunggal. Akibatnya, dalam populasi, setengah dari generasi dapat berjenis kelamin perempuan (XX) dan setengahnya lagi berjenis kelamin laki-laki (XY). Segregasi kromosom X selama meiosis merupakan cara efektif untuk mempertahankan rasio seks mendekati 1:1 dari satu generasi ke generasi berikutnya. Dengan adanya sistem determinasi seks ini, semua anak laki-laki mewarisi sebuah kromosom Y dari ayahnya. Pada manusia, gena penting untuk determinasi pembentukan testis (gen *SRY*) terletak di kromosom Yp.11.3.

1.2.4. Alel Ganda Pada Manusia

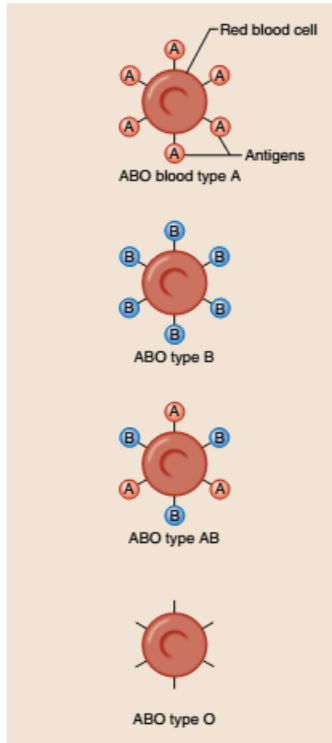
Apabila sebuah lokus dalam sebuah kromosom ditempati oleh beberapa atau suatu seri alel, maka alel-alel demikian disebut alel ganda (*multiple alleles*). Seseorang yang mempunyai dua alel untuk gen autosomal (satu alel pada masing-masing gen homolog), tetapi gen dapat eksis pada lebih dari dua bentuk alel di populasi karena dapat bermutasi dengan berbagai cara. Kombinasi alel berbeda dapat menghasilkan variasi dalam fenotip. Alel berbeda yang keduanya diekspresikan dalam bentuk heterozigot disebut kodominan. Contoh klasik dari alel ganda pada manusia adalah sistem golongan darah ABO yang ditemukan oleh Karl Landsteiner

pada tahun 1990-an. Locus gen kelompok darah ABO adalah di kromosom 9q34.2 dan merupakan contoh yang terkenal dan sering dipakai untuk sistem alel ganda.

Pengelompokkan golongan darah ABO berdasarkan pada ekspresi dari alel-alel kodominan. Tipe golongan darah ditentukan oleh pola molekul permukaan sel darah merah yang disebut antigen. Antigen ini merupakan protein yang terbenam di membran sel yang mengikat gula di permukaan selnya. Hampir setiap orang mensintesis oligosakarida tipe O (substansi H, antigen H). Orang bergolongan darah A mempunyai alel yang mengkodekan enzim glikosiltransferase yang menambahkan gugus N-asetilgalaktosamin ke substansi H untuk membentuk oligosakarida tipe A dan disebut antigen A. Pada golongan darah B, alel dan enzim glikosiltransferase berbeda yaitu menambahkan sebuah gugus galaktosa ke substansi H membentuk oligosakarida B atau disebut antigen B. Golongan darah O menghasilkan protein inaktif yang tidak bisa menggunakan substansi H sebagai substrat. Pada golongan darah AB, kedua glikosiltransferase dan kedua oligosakarida A dan B dihasilkan. Pada tingkat sekuens DNA dari locus gen ABO, alel A dan B berbeda satu sama lainnya yaitu pada 4 pasangan basa dan alel O mengalami delesi pada sepasang nukleotida tunggal.



Gambar 1-6. Fungsi dari alel dalam sistem ABO (Tamarin, 2001)



Gambar 1-7. Kodominan dari golongan darah ABO

Terdapat 4 fenotip tipe golongan darah yang dihasilkan oleh 3 (tiga) alel tersebut. Alel I^A dan I^B bertanggung jawab untuk produksi antigen A dan antigen B di permukaan eritrosit (sel darah merah). Antigen merupakan substansi yang asing bagi tubuh dan mampu menginduksi sistem imunitas untuk menghasilkan antibodi pengikat antigen. Sistem ABO merupakan sistem yang berbeda karena antibodi sudah terdapat sebelum paparan terhadap antigen (contoh antibodi anti-B pada seseorang yang memiliki golongan darah A).

Tabel 1-1. Kelompok Golongan darah ABO

Golongan Darah	Antibodi dalam serum	Antigen dalam eritrosit	Genotip
O	Anti-A dan anti-B	Tidak Ada	ii
A	Anti-B	A	$I^A I^A$ atau $I^A i$
B	Anti-A	B	$I^B I^B$ atau $I^B i$
AB	-	A & B	$I^A I^B$

Jadi, orang dengan antigen ABO pada sel darah merah akan mempunyai antibodi dalam serum untuk melawan antigen lainnya. Seorang dengan golongan darah A mempunyai antigen A di permukaan sel darah merah dan antibodi anti B dalam serum; golongan darah B mempunyai antigen B di permukaan sel darah merah dan antibodi anti A dalam serum; golongan darah O tidak mempunyai antigen A dan antigen B dalam serum; dan golongan darah AB mempunyai antigen A dan antigen B dan juga membentuk antibodi anti-A dan anti-B dalam serumnya.

Rangkuman

Mendel menjelaskan hukumnya dengan mempelajari pewarisan oleh autosom (kromosom non-seks). Cara hukum ini mempengaruhi model pewarisan tergantung apakah pewarisan ditransmisikan oleh autosom atau kromosom seks dan apakah alelnya dominan atau resesif. Yang dimaksud dengan sifat autosomal adalah sifat keturunan yang ditentukan oleh gen pada autosom. Sifat keturunan yang ditentukan oleh gen autosomal dapat dijumpai pada laki-laki maupun perempuan. Kombinasi alel berbeda dapat menghasilkan variasi dalam fenotip. Alel berbeda yang keduanya diekspresikan dalam bentuk heterozigot disebut kodominan. Contoh klasik dari alel ganda pada manusia adalah sistem golongan darah ABO.

Soal-soal Latihan

1. Seorang laki-laki bergolongan darah A ingin menikah dengan seorang perempuan bergolongan darah O. Bagaimana kemungkinan golongan darah anak-anak mereka?
2. Seorang laki-laki bergolongan darah B ingin menikah dengan seorang perempuan bergolongan darah B juga. Bagaimana kemungkinan golongan darah anak-anak mereka?
3. Mutasi yang mengakibatkan penggantian asam amino asam glutamat menjadi valin pada posisi 6 dari rantai β -globin dari hemoglobin S mengganggu fungsi hemoglobin normal dan menyebabkan *sickle cell anemia*. Selain itu, beberapa penyakit pada hereditas juga dapat terjadi pada manusia. Sebutkan 3 (tiga) karakteristik pewarisan penyakit secara autosomal resesif!

Daftar Pustaka

- Marks, D.B., Marks, A.D., Smith, C.M., 2013. Biokimia Kedokteran Dasar: Sebuah pendekatan klinis. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Suryo, 2011. Genetika Manusia. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Champe, P.C., Harvey, R.A., Ferrier, D.R. Biokimia Ulasan Bergambar. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Tamarin, R. Principles of Genetics. 2001. Seventh ed. The McGraw-Hill Company, United States.
- Lewis. 2003. Human Genetics: Concept And Application. Fifth ed. The McGraw-Hill Company, United States.

Kunci Jawaban

1. P Laki-laki A $I^A I^A / I^A i$ x P Perempuan O ii
F1 $I^A i = \text{golongan darah A (50\%)}
ii = \text{golongan darah O (50\%)}$
2. P Laki-laki B $I^B I^B / I^B i$ x P Perempuan B $I^B I^B / I^B i$ F1
 $I^B I^B = \text{golongan darah B}$
 $I^B i = \text{golongan darah B}$ } = 75%
 $I^B i = \text{golongan darah B}$
 $ii = \text{golongan darah O (25\%)}$

Tidak mengherankan bahwa sebagian besar dari anak-anak mempunyai golongan darah seperti orangtua mereka, akan tetapi ada kemungkinan bahwa di antara anak-anak ada yang memiliki golongan darah O walaupun kemungkinan itu kecil yaitu hanya 25% saja.



BAB II

INFORMASI GENETIKA

Tujuan Instruksional Umum:

Pada akhir pembelajaran, mahasiswa mampu menjelaskan tentang materi genetik pada manusia

Tujuan Instruksional Khusus:

Pada akhir pembelajaran mahasiswa mampu:

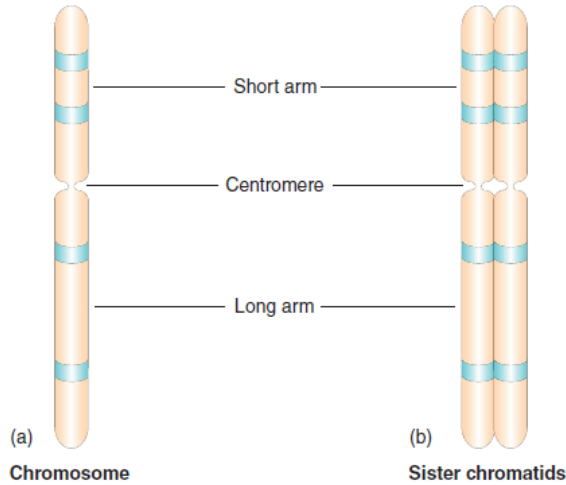
1. Membedakan kromosom, gen dan kromatin
2. Membedakan struktur DNA dan RNA
3. Menjelaskan fungsi-fungsi DNA dan RNA sebagai materi genetik
4. Mengidentifikasi faktor yang mempengaruhi kestabilan DNA
5. Menjelaskan proses replikasi dan transkripsi
6. Menjelaskan proses translasi (biosintesis protein)

2.1. Kromosom, Gen dan Kromatin

2.1.1. Struktur Kromosom

Kromosom ditemukan oleh C. von Nägeli pada tahun 1842. Istilah kromosom yang kemudian diciptakan oleh W. Waldeyer (1888) berarti "colored body". Tubuh makhluk hidup terdiri dari banyak sel dan nukleus merupakan bagian terpenting dari sel. Selama pembelahan sel, nukleus juga mengalami pembelahan. Hofmeisfer (1848) pertama sekali mengamati struktur ini di dalam sel, kemudian Waldeyer (1888) menamakan struktur tersebut sebagai kromosom.

Kebanyakan sel eukariotik bersifat diploid (semua kromosomnya berpasangan), masing-masing pasangan berasal dari masing-masing orangtua. Sel haploid hanya memiliki satu salinan masing-masing kromosom (contoh sel gamet).



Gambar 2-1. Kromosom. (a) kromosom submetasentrik; (b) kromosom submetasentrik saat mitosis

Setiap kromosom punya sebuah kinetokor atau sentromer yang sedikit menyempit (kontriksi). Kedua bagian kinetokor disebut lengan kromosom. Bagian atas dari penyusun nukleolar disebut satelit atau *nucleolar organizer*. Kromonemata tertutup dalam matriks akromatik dan dibungkus oleh sebuah membran. Kromosom memiliki sejumlah besar kromomer yang mempunyai gen-gen. Komponen penting dari kromosom adalah sebagai berikut:

1. Kromonemata

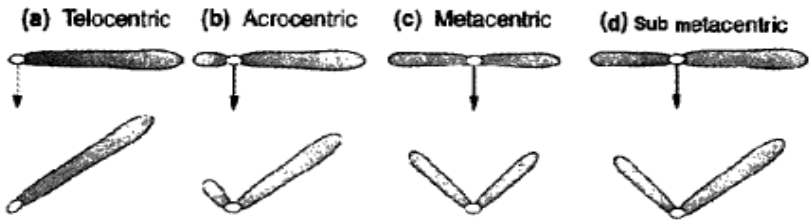
Jumlah kromonemata dalam sebuah kromosom bisa dua atau lebih. Pada beberapa kasus dapat mencapai 32 buah karena adanya pembelahan dari kromonemata. Selama proses pembelahan sel setiap kromosom menghasilkan hanya 2 kromatid.

2. Matriks

Kromonemata tetap berada dalam matriks yang dilindungi oleh sebuah pelapis tipis yang berfungsi sebagai pelindung kromonemata.

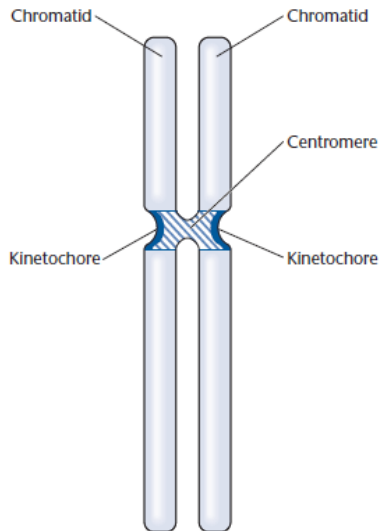
3. Sentromer

Merupakan bagian paling penting dari kromosom, apabila tidak ada sentromer maka selama pembelahan sel kromosom tidak mampu mencapai metafase. Berdasarkan posisi sentromer, bentuk kromosom dibedakan menjadi 4 (empat) (Gambar 2-2).



Gambar 2-2. Bentuk kromosom tergantung pada posisi sentromer

4. *Secondary constriction* : Terdapat di satu atau kedua lengan kromosom.
5. Telomer atau satelit : Merupakan bagian kecil di atas *secondary constriction* dan disebut juga *nucleolar organizer*.
6. Kromomer : tampak seperti manik-manik dalam kromonema. Jumlah, bentuk dan lokasinya konstan pada berbagai organisme. Kromomer ini memiliki gen-gen yang penting sebagai unit herediter dan variasi.



Gambar 2-3. Struktur Kromosom

Bentuk khusus dari kromosom: (1) *Compound chromosomes*; (2) *Salivary gland chromosome*; (3) *Lampbrush chromosomes*, dan (4) *Accessory chromosome*.

2.1.2. Gen

Berdasarkan studi dari Watson dan Crick (1958) dan Eilkins (1962) gen dapat didefinisikan sebagai berikut:

“Gen adalah suatu molekul yang terdiri dari karbon, oksigen, hidrogen, fosfor, nitrogen, dan asam deoksiribonukleat yang melekat pada sebuah rangkaian kromonema terbuat dari protein. Gen diturunkan dari satu sel ke sel yang lain, dari satu generasi ke generasi lain tanpa ada perubahan bentuk dan strukturnya”.

a. Sifat fisik gen

1) Posisi gen

Seperti sudah diketahui sebelumnya bahwa gen berlokasi di kromosom. Namun, dalam kromosom, dimana gen itu berada? Pertanyaan ini terjawab oleh Demerec (1949) yang menjelaskan bahwa bagian paling penting dari kromosom adalah kromonema yang berbentuk untaian tipis sepanjang kromosom. Kromonema bersifat homogen dan serupa sifat fisik dan kimiawinya. Gen terdapat di kromonema ini. Gen berbeda satu dengan lainnya secara kimiawi.

2) Bentuk gen

Sejauh ini, gen belum bisa dilihat secara kasat mata. Berdasarkan penemuan Watson dan Crick (1958) dan Eilkins (1962), bentuk gen adalah spiral yaitu 2 struktur menyerupai batang tumpang tindih (*overlaps*) satu sama lain dalam suatu bentuk heliks.

3) Ukuran gen: Gen adalah suatu makromolekul dengan ukuran berkisar 15 m μ x 100 m μ dan 20 m μ x 150 m μ .

4) Struktur kimiawi gen

Gen terdiri dari 5 elemen yaitu karbon, hidrogen, oksigen, fosfat, dan nitrogen. Semua elemen ini bersatu membentuk asam nukleat. Asam nukleat dibagi dua yaitu *deoxyribonucleic acid* (DNA) yang terdapat dalam nukleus dan *ribonucleic acid* (RNA) yang banyak terdapat di sitoplasma. DNA dan RNA disusun oleh sejumlah nukleosida.

b. Sub unit dari Gen

1. Cistron: Benzer (1962) menamakan bagian terbesar dari gen sebagai cistron berdasarkan segmen DNA yang memiliki rantai

polipeptida. Dalam cistron terdapat rantai panjang nukleotida. Mutasi dan rekombinasi berlangsung di cistron.

2. Muton: merupakan bagian terkecil yang berperan dalam mutasi.
3. Recon: unit terkecil dari DNA yang mampu untuk *crossing over* dan rekombinasi. Sebuah recon ukurannya sekecil sebuah nukleotida DNA atau RNA.

c. Sifat Dari Gen

Berikut ini adalah beberapa sifat gen yang telah ditemukan pada banyak studi penelitian:

- Sifat fisik dari gen serupa dengan virus.
- Semua gen berguna bagi organisme, kecuali gen yang mutasi, meskipun ada beberapa gen mutasi yang bermanfaat.
- Gen memiliki kemampuan untuk replikasi.
- Setiap gen dapat mutasi.
- Setiap gen terdiri dari molekul sugar, fosfat dan basa purin dan basa pirimidin.
- Gen disusun oleh sejumlah nukleosida.
- Dalam kromosom, gen disusun dalam bentuk linear
- Setiap gen punya kemampuan *crossing over* dan rekombinasi.
- Pada satu pembelahan sel, replikasi gen hanya terjadi satu kali.
- Setiap gen mengontrol satu jenis produksi enzim yang mengendalikan fungsi fisiologis dan metabolis. Setiap gen memproduksi mRNA dan mengirimkannya ke sitoplasma. mRNA mengontrol sintesis protein.
- Proses replikasi gen hanya terjadi pada sel hidup.
- Setiap gen disusun oleh 3 sub unit: cistron, muton dan recon.
- Gen yang sangat berdekatan lokasinya dapat menyebabkan *linkage*.

d. Klasifikasi Gen

Berdasarkan sifatnya, gen diklasifikasikan sebagai berikut:

1. *Basic genes*

Gen yang paling banyak terdapat dalam tubuh, dibagi lagi menjadi tipe:

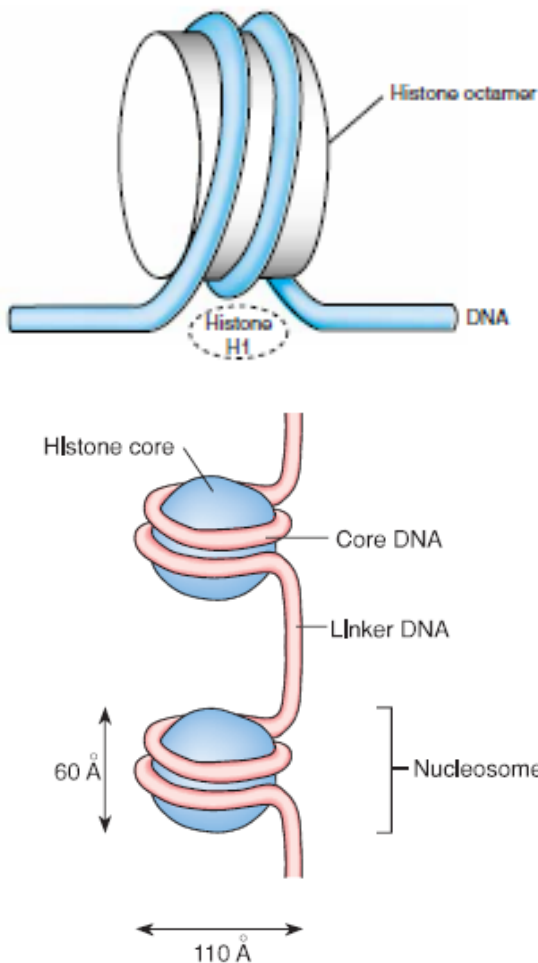
- Gen normal: sepasang gen yang mengekspresikan satu karakter. Contoh: gen warna kulit.

- Gen komplementer: gen yang secara independen punya beberapa efek, namun saat bergabung akan mengekspresikan efek berbeda.
- 2. *Lethal genes*
Gen yang mempunyai efek mematikan/membunuh organisme. Biasanya diekspresikan pada tahap embriogenik atau efeknya baru terjadi kemudian.
- 3. *Multiple genes*
Kadang-kadang 2 atau lebih pasangan gen berinteraksi dan menghasilkan suatu fenotip.
- 4. *Cumulative gene*
Aksi kumulatif dari gen dominan yang mengekspresikan karakter tertentu.
- 5. *Pleiotropic gene*
Gen yang mengekspresikan lebih dari 1 karakter pada satu waktu.
- 6. *Modifying gene*
Gen ini tidak menghasilkan efek namun mampu memodifikasi karakter. Dibagi menjadi *supplementary genes* (interaksinya dengan gen lain meningkatkan atau melemahkan ekspresi karakter tertentu), dan *inhibiting genes* (interaksinya dengan gen lain akan menghambat atau mengurangi aksi gen lain), disebut juga gen epistatik.

2.1.3. Kromatin

Material nukleoprotein kromosom disebut kromatin. Saat berbentuk difus disebut eukromatin; sedangkan saat memadat dan bisa dilihat disebut heterokromatin. Protein yang terdapat dalam kromatin diklasifikasikan sebagai protein histon dan non histon. Histon adalah protein kecil yang langsung berhubungan dengan DNA dan berperan pada struktur kromatin, asam aminonya menetralkan muatan negatif grup fosfat sehingga memungkinkan memadatkan DNA dalam nukleus. Hal ini memudahkan 46 molekul diploid DNA genom manusia yang memiliki 5×10^9 pasang basa, panjang total 2 meter muat dalam sebuah nukleus yang hanya memiliki diameter 10 μm . Histon juga berperan penting dalam mengatur transkripsi. Dua (2) molekul histon masing-masing tipe H2A, H2B, H3 dan H4 membentuk kompleks oktamerik mengelilingi 146 pasang basa DNA yang digulung 1,8 kali. Partikel dengan diameter 7 nm ini disebut

nukleosom. Histon H1 mengikat segmen DNA yang tidak kontak langsung dengan oktamernya (*linker DNA*).



Gambar 2-4. Struktur nukleosom

2.1.4. Pengemasan DNA Di Dalam Sel

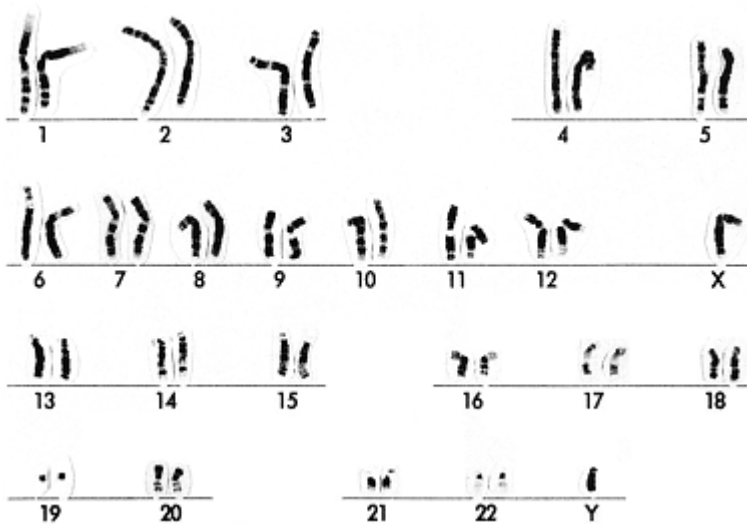
DNA dari sel eukariotik lebih besar dibandingkan dengan DNA bakteri. DNA kromosom manusia yang yang paling panjang memiliki ukuran 7 cm. Pada kenyataannya, DNA dari semua 46 kromosom dalam sebuah sel manusia diploid, apabila disambung ujung ke ujung, akan terentang dengan jarak 2 m (lebih dari 6 kaki). DNA ini mengandung 6×10^9 pasangan basa.

Karena molekul DNA sangat besar, diperlukan kemasan khusus agar molekul tersebut dapat termuat di dalam sel. Eukariot mengandung lebih dari 1.000 kali jumlah DNA yang terdapat dalam prokariot. Akibatnya, metode pengemasan DNA sel eukariotik jauh lebih rumit. DNA eukariot berinteraksi dengan protein basa kecil berukuran setara yang dikenal sebagai histon, yang mengandung banyak arginin dan lisin. Terdapat lima kelas histon: H1, H2A, H2B, H3 dan H4.

Sel-sel eukariotik yang hidup mengalami suatu siklus melalui pembelahan sel. Sel-sel yang tidak dalam periode mitosis mempunyai inti interfase, sedang sel dalam periode pembelahan menunjukkan gambaran batang kromosom. Terdapat perbedaan mendasar antara penampilan inti dalam periode mitosis dan interfase. Penampilan inti dalam periode interfase adalah bentuk untaian butir-butir kromatin yang menempati seluruh ruangan inti. Ini berarti bahwa untaian DNA dikemas tidak terlalu padat. Susunan butir-butir kromatin ini didasarkan pada kebutuhan kegiatan sel tertentu dalam interfase yang menggunakan penggal-penggal molekul DNA tertentu untuk pola sintesis protein yang dimulai dengan transkripsi. Susunan kepadatan pengemasan untaian DNA harus memenuhi kebutuhan sel, di satu pihak kemasan sekedar agar tidak terjadi kekusutan untaian DNA yang sangat panjang, yang harus ditempatkan dalam ruangan inti yang terbatas, di lain pihak harus tidak mempersulit penguraian kemasan jika dibutuhkan.

2.1.5. Genom Manusia

Genom atau kandungan genetik total pada suatu sel haploid manusia (sel sperma atau sel telur) terdistribusi dalam 23 kromosom. Genom manusia mengandung 3 milyar (3×10^9) pasangan basa. Pada sel diploid, masing-masing dari 22 kromosom autosom memiliki sebuah homolog. Kromosom homolog mengandung rangkaian gen yang sama yaitu memiliki urutan DNA yang sama. Selain kromosom autosom, masing-masing sel diploid memiliki dua kromosom seks yang ditandai X dan Y. Wanita memiliki dua kromosom X, dan pria memiliki satu kromosom X dan satu kromosom Y. Jumlah total kromosom per sel diploid adalah 46.



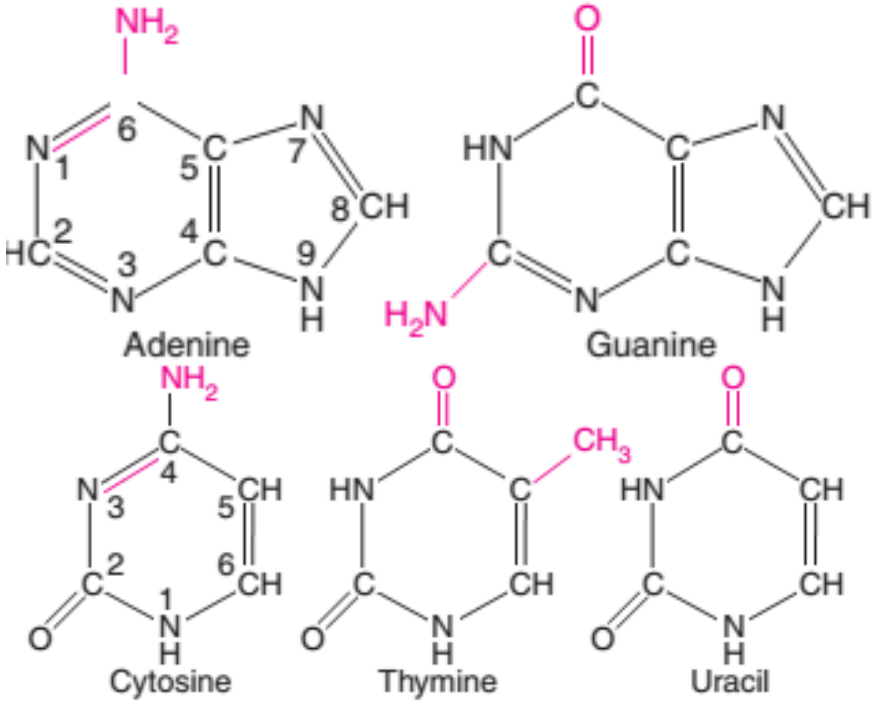
Gambar 2-5. Kromosom manusia

2.2. Struktur Asam Nukleat

Asam nukleat memegang peranan penting dalam penyimpanan dan ekspresi dari informasi genetik. Asam nukleat dibagi menjadi dua kelas utama yaitu *deoxyribonucleic acid* (DNA) dan *ribonucleic acid* (RNA). DNA berperan dalam penyimpanan informasi genetik, sedangkan RNA terlibat dalam proses ekspresi gen dan biosintesis protein. DNA yang merupakan gudang informasi genetik, tidak hanya terdapat pada kromosom di nukleus organisme eukariot, tetapi juga di mitokondria. Semua asam nukleat dibentuk oleh komponen nukleotida yang terdiri dari basa, gula dan residu fosfat.

a. Basa

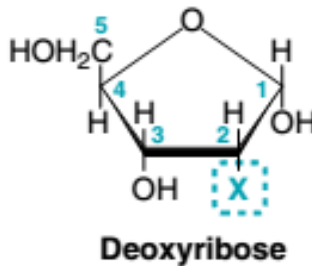
Basa asam nukleat adalah suatu heterosiklik aromatik yang berasal dari pirimidin dan purin. Lima dari basa-basa ini bersama-sama merupakan komponen utama asam nukleat dari seluruh jaringan hidup. Basa purin adenin (Ade) dan guanin (Gua) seperti juga basa sitosin (Cyt) dijumpai pada DNA dan RNA. Sebaliknya urasil (Ura) hanya terdapat dalam RNA. Dalam DNA, urasil digantikan oleh timin (Thy) yaitu derivat 5-metil dari urasil.



Gambar 2-6. Basa asam nukleat

b. Molekul pentosa

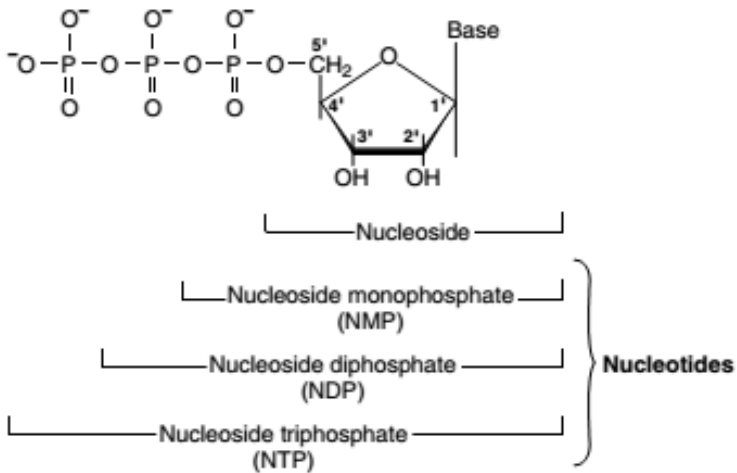
Molekul pentosa yang ikut menyusun asam nukleat adalah deoksiribosa dan ribosa. Oleh karena itu, asam nukleat yang berkaitan dengan ribosa masing-masing disebut deoksiribonukleat (DNA) dan ribonukleat (RNA).



Gambar 2-7. Deoksiribosa dan ribosa. Atom karbon berjumlah 1 sampai 5. Pada deoksiribosa, X = H; pada ribosa X = OH

c. Nukleotida dan nukleosida

Basa nitrogen berikatan dengan gula ribosa disebut nukleosida. Selanjutnya, bila nukleosida berikatan dengan fosfat akan terbentuk nukleotida. Jadi, nukleotida adalah nukleosida fosfat. Contohnya, dari adenin dan ribosa terbentuk nukleosida adenosin. Derivat-derivat yang sesuai dari basa lainnya ialah guanosin (G), uridin (U), timidin (T) dan sitidin (C). Bila komponen gulanya adalah 2-deoksiribosa, maka akan diperoleh suatu deoksi-nukleosida. Di dalam sel, gugus 5'-OH dari komponen gula pada nukleosida umumnya teresterisasi dengan asam fosfat. Dari adenosin akan terbentuk adenosin-5'-monofosfat (AMP). Kalau rantai 5'-fosfat dihubungkan dengan rantai fosfat lainnya melalui ikatan asam anhidrida, maka diperoleh nukleotida difosfat dan trifosfat misalnya ADP dan ATP. Gula dan basa dihubungkan melalui suatu ikatan N-glikosidik antara C1 gula dan N-9 cincin purin atau N-1 cincin pirimidin. Ikatan ini selalu mempunyai konfigurasi β .



Gambar 2-8. Struktur nukleotida dan nukleosida. Tampak ribosa sebagai gula. Deoksiribosa-nukleotida yang sesuai disingkat sebagai dNMP, dNDP, dan dNTP. N = basa apapun (A, G, C, U, atau T).

Nukleosida merupakan komponen yang terdiri dari residu karbohidrat (ribosa atau deoksiribosa) dan sebuah basa nukleotida (Tabel 2-1). Sedangkan nukleotida terdiri dari residu karbohidrat dengan 5 atom C yang melekat pada sebuah basa nukleotida dan grup fosfat.

Tabel 2-1. Nama basa dan nukleosida yang bersangkutan^a

Basa	Nukleosida
Adenin (A)	Adenosin
Guanin (G)	Guanosin
Sitosin (C)	Sitidin
Timin (T)	Timidin
Urasil (U)	Uridin
Hipoxantin	Inosin*

^a Apabila gula adalah deoksiribosa dan bukan ribosa, nukleosida memiliki awalan “deoksi” (misal deoksiadenosin). Nukleotida diberi nama nukleotida ditambah monofosfat, difosfat, atau trifosfat (misal adenosin trifosfat).

* Basa hipoxantin tidak ditemukan dalam DNA atau RNA tetapi dihasilkan selama degradasi basa-basa purin. Nukleosidanya, inosin dihasilkan selama sintesis nukleotida purin.

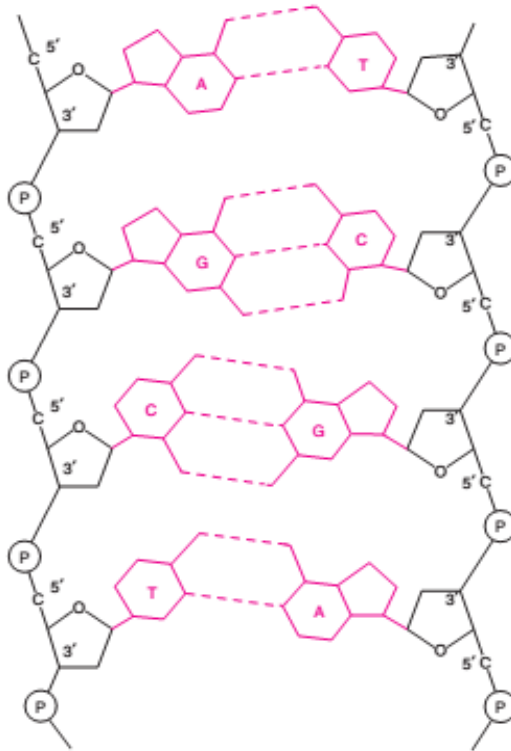
2.3. Organisasi DNA Manusia

2.3.1. Letak DNA

Pada eukariot, DNA terletak di inti sel dipisahkan dari sitoplasma oleh selubung inti. DNA eukariot terikat ke protein membentuk suatu kompleks yang dikenal sebagai kromatin. Selama interfase (sewaktu sel tidak membelah), kromatin dapat berbentuk padat (heterkromatin) atau difus (eukromatin), tetapi tidak dapat diamati struktur yang jelas. Namun, selama mitosis (saat sel berada dalam proses membelah), kromatin memadat membentuk kromosom yang dapat dilihat dan mempunyai ciri tersendiri, masing-masing terdiri dari dua kromatid bersaudara (*sister chromatids*) identik yang disatukan di regio sentromer. Mitokondria mengandung DNA, namun dalam jumlah yang sangat sedikit (kurang dari 0,1% DNA total dalam sel rata-rata).

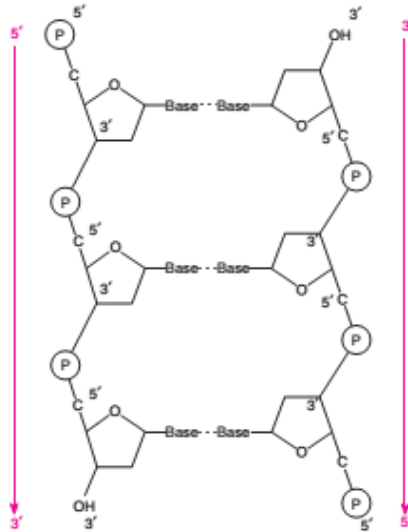
2.3.2. Struktur primer DNA

Struktur primer dapat dilihat pada Gambar 2-9. Menurut literatur, untuk menuliskan urutan asam nukleat adalah dari arah 5' ke 3'. Sebagai contoh, bila urutan dalam suatu nukleotida dalam DNA adalah deoksiadenosin 5'fosfat, deoksisitosin 5'fosfat, deoksitimidin 5'fosfat dan deoksiguanosin 5'fosfat, maka cara menuliskannya adalah 5'-ACTG-3'.



Gambar 2-9. Struktur DNA

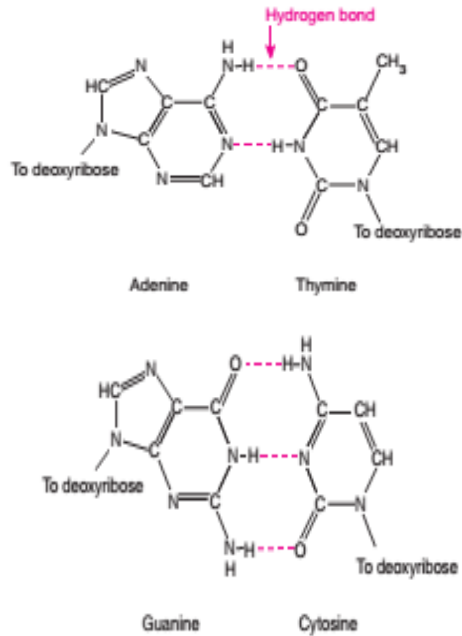
DNA merupakan polideoksiribonukleotida yang mengandung banyak monodeoksiribonukleotida yang dihubungkan secara kovalen melalui ikatan 3'→5'-fosfodiester. Ikatan fosfodiester menghubungkan gugus 5'-hidroksil deoksi-pentosa pada satu nukleotida dengan gugus 3'-hidroksil-deoksipentosa yang berdekatan melalui gugus fosfat. Proses ini menghasilkan rantai panjang yang tidak bercabang yang mempunyai polaritas, dengan ujung 5' (ujung dengan fosfat bebas) dan ujung 3' (ujung dengan hidroksil bebas) yang tidak melekat pada nukleotida lain. Basa yang terletak di sepanjang rangka utama deoksi-ribosa-fosfat yang dihasilkan, menurut konsensus, selalu tertulis dengan urutan dari ujung- 5' ke ujung-3' rantai tersebut.



Gambar 2-10. Polaritas dari untai DNA. Polaritas dibentuk oleh karbon 3' dan 5' dari gula. Contoh, pada untai kiri, polaritasnya adalah 5'→3' (baca: *five-prime to three prime*). Pada untai kanan, polaritasnya adalah 3'→5'.

2.3.3. Konsep Pasangan Basa

Petunjuk pertama adanya interaksi semacam ini didasarkan atas pengamatan bahwa kandungan timin dan adenin pada setiap jenis DNA adalah sama (Hukum Chargaff). Hal yang serupa juga berlaku untuk guanin dan sitosin. Sebaliknya, perbandingan antara jumlah dari A dan T terhadap jumlah G dan C berbeda antara organisme dengan organisme lainnya. Model yang diformulasikan oleh J. Watson dan F. Crick pada tahun 1953 menerangkan perbandingan basa yang konstan ini. DNA yang utuh terdiri atas dua molekul polideoksinukleotida (“untai”). Setiap basa dalam satu untai DNA berhubungan dengan satu basa “sejodoh” (komplementer) dengan basa pada rantai yang lainnya melalui jembatan dua ikatan hidrogen. Dalam hal ini, adenin komplementer dengan timin dan guanin komplementer dengan sitosin. Jadi pada setiap pasangan basa berperan satu basa purin dan satu basa pirimidin. Akibat pembentukan pasangan basa ini, dua untai DNA saling melengkapi (bersifat komplementer). Pasangan basa terletak tegak lurus dengan sumbu heliks. Ikatan hidrogen ini ditambah interaksi hidrofobik antara susunan basa, dapat menstabilkan struktur heliks ganda.

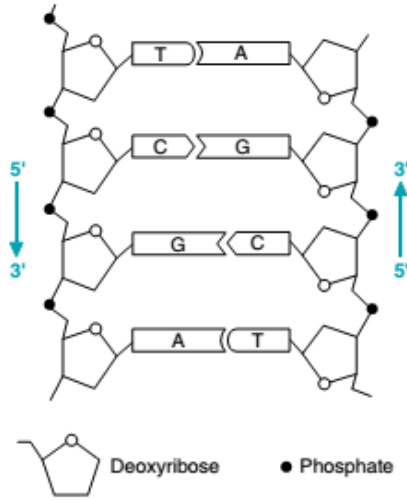


Gambar 2-11. Ikatan hidrogen antara basa nitrogen dalam DNA

Konsep pembentukan pasangan basa terbukti penting untuk menentukan mekanisme replikasi DNA dan mekanisme transkripsi dan translasi. Adanya pembentukan pasangan basa memungkinkan satu untai DNA berfungsi sebagai cetakan untuk sintesis untai yang lain serta sebagai cetakan untuk sintesis RNA yang saling melengkapi.

2.3.4. Untai DNA Adalah Antiparalel

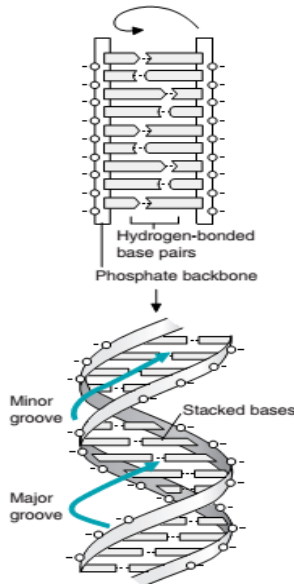
Watson dan Crick menyimpulkan bahwa dua untai DNA yang saling melengkapi berjalan dalam arah yang berlawanan. Seperti yang diperlihatkan pada Gambar 2.12, pada satu untai, oksigen dari setiap cincin gula adalah di atas karbon, sehingga karbon-5' di atas karbon-3'. Untai ini dikatakan berjalan dalam arah 5' ke 3'. Pada untai yang lain, oksigen dari setiap cincin adalah di bawah karbon, sehingga karbon-3' di atas karbon-5'. Untai ini dikatakan berjalan dalam arah 3' ke 5'. Jadi, untai adalah antiparalel yaitu untai berjalan dalam arah yang berlawanan. Konsep pengarah untai asam nukleat penting untuk memahami konsep replikasi dan transkripsi.



Gambar 2-12. Untai antiparalel DNA

2.3.5. Heliks Ganda

Karena setiap pasangan basa mengandung sebuah purin yang terikat ke sebuah pirimidin, jarak antara pasangan basa yaitu antara dua rangka fosfodiester adalah sekitar 11 Å. Apabila dua untai yang sama jauhnya dari masing-masing diputar di bagian atas dan bawah, akan terbentuk heliks ganda (Gambar 2-13).



Gambar 2-13. Dua untai DNA yang memuntir untuk membentuk heliks ganda

Pada heliks ganda DNA, pasangan basa yang menggabung dua untai bertumpuk-tumpuk seperti tangga berbentuk spiral mengelilingi sepanjang aksis sentral molekul gula di dekatnya. Gugus asam ketiga adalah bebas dan melepaskan sebuah proton pada pH fisiologis. Oleh karena itu, setiap heliks DNA memiliki muatan negatif yang menyelimuti permukaannya. Bagian dalam dari heliks ganda DNA bersifat nonpolar. Sebaliknya, permukaan molekul bersifat polar dan bermuatan negatif disebabkan oleh residu gula dan residu fosfat dari tulang punggung DNA.

Heliks mengandung alur yang ukurannya berselang-seling dan dikenal sebagai alur mayor (*major groove*) dan alur minor (*minor groove*). Kedua alur tersebut terbentuk karena ikatan glikosidik dari suatu pasangan basa tidak terletak saling berhadapan. Alur besar dapat terlihat di atas maupun di bawah, sedangkan alur kecil pada bagian tengah. Basa dalam alur tersebut terpajan, dan oleh karena itu, dapat berinteraksi dengan protein atau molekul lain.

Terdapat 3 bentuk struktural utama DNA, yaitu bentuk B yang diuraikan oleh Watson dan Crick pada tahun 1953, bentuk A dan bentuk Z.

a. Bentuk B (B-DNA)

Adalah *right-handed helix* (heliks ganda berputar ke kanan) dengan 10 pasangan basa (disingkat bp) per putaran heliks 360° dan dengan bidang basa yang tegak lurus terhadap sumbu heliks. DNA kromosom diperkirakan terutama terdiri atas B-DNA.

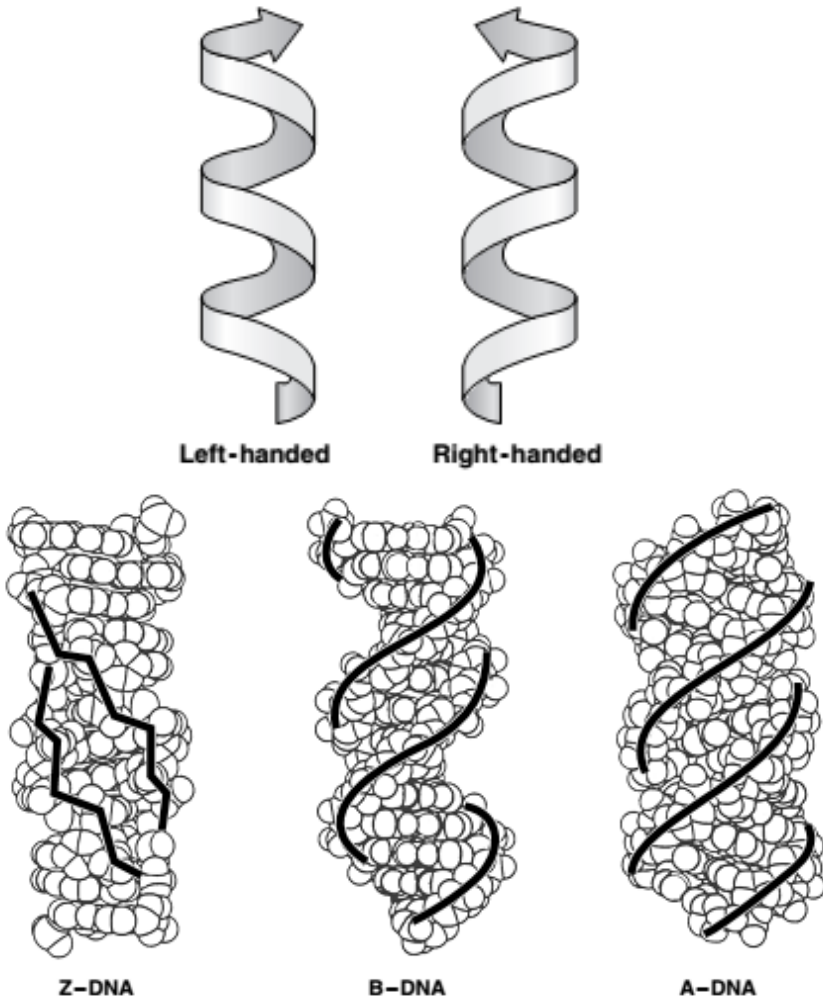
b. Bentuk A (A-DNA)

Dihasilkan dengan cara mendehidrasi sedang bentuk B. Bentuk ini juga termasuk *right-handed helix*, tetapi terdapat 11 pasangan basa per putaran dan bidang pasangan basa dimiringkan sebesar 20° tegak lurus terhadap sumbu heliks. Heliks A lebih lebar dan lebih pendek dibandingkan dengan heliks B. Struktur yang terdapat dalam DNA-RNA hibrid atau regio RNA-RNA untai ganda mungkin sangat mirip dengan DNA bentuk A.

c. Bentuk Z (Z-DNA)

Adalah *left-handed helix* (heliks ganda berputar ke kiri) yang terdiri atas sekitar 12 pasangan basa per putarannya. Rangka utama

deoksiribosa-fosfat berbentuk “zig-zag” sehingga dinamakan “Z”-DNA. Bentuk zig-zag ini merupakan akibat dari kenyataan bahwa satuan-satuan yang berulang lebih merupakan dinukleotida daripada mononukleotida. Z-DNA juga berbeda dari bentuk A dan B karena hanya mempunyai satu alur heliks yang dalam. Walaupun fungsi biologis Z-DNA tidak jelas, namun secara grafis keberadaannya menunjukkan DNA adalah suatu molekul yang fleksibel dan dinamis. Perbandingan antara A-, B-, dan Z-DNA diperlihatkan dalam Tabel 2-2.



Gambar 2-14. Bentuk DNA. Garis hitam menghubungkan satu gugus fosfat kepada gugus fosfat lainnya.

Tabel 2-2. Perbandingan antara A-, B-, dan Z-DNA

	Tipe Heliks		
	A	B	Z
Bentuk	Paling lebar	Menengah	Paling sempit
Jarak antara pasangan basa	2,3 Å	3,4 Å	3,8 Å
Diameter heliks	25,5 Å	23,7 Å	18,4 Å
Putaran	Ke kanan	Ke kanan	Ke kiri
Jumlah pasangan basa setiap putaran heliks	11	10,4	12
Jarak antara puncak putaran heliks	25,3 Å	35,4 Å	45,6 Å
Kemiringan pasangan basa terhadap sumbu heliks	19°	1°	9°
Alur besar	Sempit dan dalam	Lebar dan cukup dalam	datar
Alur kecil	Sangat lebar dan dangkal	Sempit dan cukup dalam	Sangat sempit dan dalam

2.3.6. Karakteristik DNA

Pada kondisi tertentu di laboratorium, dua untai heliks DNA terpisah atau mengalami denaturasi. Banyak teknik digunakan untuk mempelajari DNA atau untuk menghasilkan molekul DNA rekombinan memanfaatkan sifat ini. Kedua untai ganda berpisah ketika ikatan hidrogen di antara pasangan basa terganggu. Gangguan ini dapat terjadi ketika pH larutan DNA diubah sehingga basa nukleotida mengalami ionisasi atau jika larutan DNA dipanaskan. Panas juga dapat digunakan untuk mengubah DNA untai ganda menjadi DNA untai tunggal. Ketika DNA dipanaskan, suhu pada saat setengah bagian struktur heliks hilang disebut sebagai temperatur peleburan (*melting temperature*, T_m). Hilangnya struktur heliks pada DNA yang disebut denaturasi dapat dipantau dengan mengukur daya serap pada panjang gelombang 260 nm (DNA untai tunggal mempunyai daya serap yang relatif tinggi pada panjang gelombang ini dibandingkan DNA untai ganda).

Alkali menyebabkan dua untai DNA terpisah, tetapi berbeda dengan efeknya terhadap RNA, alkali tidak menyebabkan pemutusan ikatan fosfodiester RNA (Gambar 2-15). Apabila suhu diturunkan secara perlahan, untai-untai tunggal yang saling komplementer dapat kembali menyatu dan membentuk pasangan basa, kembali membentuk heliks ganda yang pada dasarnya identik dengan DNA asal. Proses ini dikenal dengan renaturasi atau penyatuan kembali (*reannealing*). Karena terdapat 3 ikatan hidrogen antara G dan C tetapi hanya 2 ikatan hidrogen antara A dan T, DNA yang banyak mengandung kadar A dan T yang tinggi terdenaturasi pada suhu yang lebih rendah dibanding DNA yang kaya G dan C.

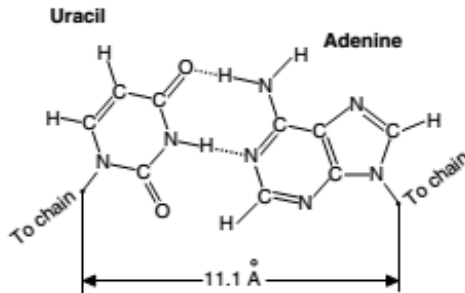
Pemahaman tentang denaturasi dan renaturasi tersebut merupakan dasar manipulasi DNA, khususnya dalam teknologi *Polimerase Chain Reaction* (PCR) dan teknik laboratorium lain. Teknik PCR banyak sekali digunakan dalam bidang kedokteran untuk kepentingan diagnostik dan untuk mempelajari kelainan-kelainan penyakit hereditas dan penyakit lain.

2.3.7. Struktur RNA

Struktur primer dari RNA secara umum mirip dengan DNA, kecuali komponen karbohidrat ribosa punya grup hidroksil pada posisi 2' dan basa timin diganti dengan urasil pada RNA. Grup hidroksil C2 pada ribosa membuat RNA secara kimiawi lebih labil daripada DNA sehingga dapat dipisah menjadi mononukleotida oleh larutan alkali, sedangkan DNA tidak bisa. Tidak seperti DNA yang berupa *double helix* yang sangat panjang, RNA seluler merupakan *single-stranded* dan mempunyai sejumlah variasi konformasi (Gambar 2-15).

Perbedaan dalam ukuran dan konformasi dari berbagai tipe RNA membuatnya mampu melakukan fungsi spesifik dalam sebuah sel. Struktur sekunder sederhana dari RNA dibentuk oleh pasangan basa komplementer. Bentuk *hairpin* disusun oleh pasangan basa \approx 5-10 nukleotida masing-masing dan bentuk *stem-loops* dibentuk oleh pasangan basa yang dipisah oleh $>$ 10 (sampai ratusan) nukleotida. Bentuk tertier lainnya adalah *pseudoknot*.

Seperti pada DNA, pembentukan pasangan basa adalah komplementer dan antiparalel. Tetapi pada RNA, adenin berpasangan dengan urasil dan bukan dengan timin.



Gambar 2-15. Pasangan basa adenin-urasil pada RNA

Terdapat tiga jenis RNA utama yaitu mRNA, rRNA, dan tRNA yang ikut serta dalam proses sintesis protein. RNA lain yang jumlahnya kurang berlimpah terlibat dalam replikasi atau dalam pengolahan RNA yaitu perubahan prekursor RNA menjadi bentuk matangnya.

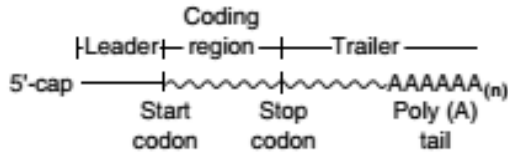
1. Struktur mRNA

RNA *messenger* (mRNA) membawa informasi genetik dari DNA nukleus ke sitosol, tempat mRNA ini digunakan sebagai cetakan untuk sintesis protein. Tipe sel berbeda mempunyai jumlah molekul mRNA yang berbeda pula sesuai dengan fungsinya. Sel otot mempunyai banyak mRNA yang spesifik terhadap protein kontraktilektin dan miosin, sedangkan sel kulit mengandung mRNA yang berhubungan dengan gen pengkode protein keratin.

Pada eukariot, RNA *messenger* (mRNA) ditranskripsikan sebagai transkrip primer panjang dari regio DNA yang mengkode protein. Transkrip primer mengalami proses untuk membentuk mRNA di dalam inti. mRNA berpindah melalui pori-pori inti ke dalam sitoplasma, tempat mRNA mengarahkan insersi urutan asam amino ke dalam rantai polipeptida.

mRNA eukariotik memiliki struktur yang dikenal sebagai *cap* (tudung) di ujung 5'-nya. *Cap* terdiri dari guanosin trifosfat termetilasi yang melekat ke gugus hidroksil-5' pada ribosa di ujung 5' mRNA. Gugus hidroksil-2' pada bagian ribosa dari nukleotida mRNA pertama dan kedua juga mengalami metilasi.

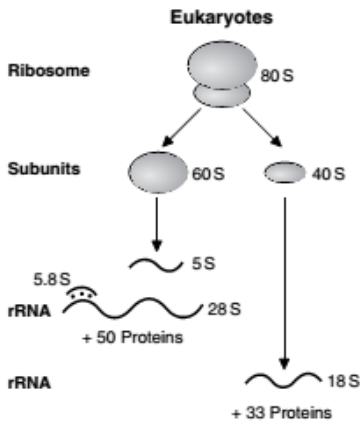
Terdapat sebuah ekor poli(A) yang melekat ke ujung 3' mRNA eukariotik. Ekor terdiri dari serangkaian nukleotida adenosin yang disatukan oleh ikatan fosfodiester-3' ke fosfodiester-5'. Pada ekor poli(A) dapat ditemukan sampai 200 residu adenin.



Gambar 2-16. Regio mRNA eukariotik

2. Struktur rRNA

RNA ribosom (rRNA) ditemukan bergabung bersama dengan beberapa protein sebagai komponen dari ribosom yaitu struktur kompleks yang berperan sebagai tempat sintesis protein. Terdapat empat jenis rRNA yang berbeda ukurannya (28S, 18S dan 5,8S dan 5S) dalam sitosol sel eukariot. rRNA 18S membentuk kompleks dengan protein untuk membentuk subunit ribosomal 40S, sedangkan rRNA 28,5 dn 5,8S membentuk kompleks dengan protein untuk membentuk subunit ribosomal 60S. Subunit ribosomal 60S dan 40S bergabung untuk membentuk ribosom 80S yang ditemukan dalam sitoplasma eukariot. Secara keseluruhan, rRNA menyusun delapan persen total RNA di dalam sel (Catatan: S adalah unit Svedberg yang berkaitan dengan berat molekul dan berat senyawa atau disebut juga *sedimentation coefficient* yaitu kecepatan pengendapan makromolekul yang diputar dalam ultrasentrifus dengan menggunakan media gradien sukrosa). Kecepatan putaran ultrasentrifus dapat mencapai 80.000 rpm yang setara dengan 500.000 kali gravitasi bumi.



Gambar 2-17. Ribosom eukariotik (rRNA)

Dalam sel-sel manusia, panjang molekul pre-rRNA adalah sekitar 13 kb (kilobasa), sedang panjang molekul rRNA 28S adalah

5,1 kb; pada rRNA 5,8S terdapat 160 basa dan rRNA 18S mempunyai panjang 1,9 kb. Maka dari hasil transkripsi rDNA hanya separuh dari molekul rRNA menjadi jenis-jenis rRNA fungsional. Sisa penggal molekul pre-RNA akan segera dihancurkan. Penggal-penggal pre-RNA yang dibuang merupakan pemisah (intron) antara molekul-molekul rRNA fungsional. Dalam ribosom molekul rRNA 5,8S terikat dengan rRNA 28S melalui ikatan hidrogen.

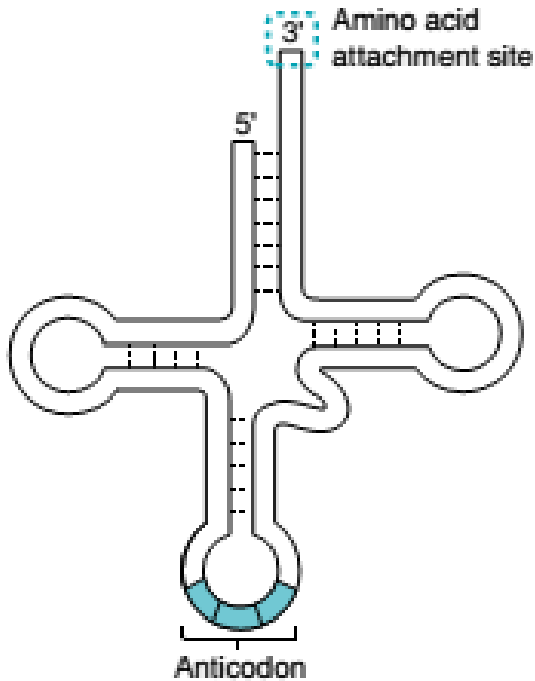
Sebagaimana pada umumnya molekul-molekul pra-bahan (prekursor), waktu yang dibutuhkan untuk mensintesisnya selalu harus lebih cepat daripada waktu untuk pemrosesan menjadi bahan jadi. Dalam sel-sel mamalia, sintesis pre-RNA sebagai prekursor oleh polimerase I membutuhkan 3-4 menit, sedang untuk pemotongan penggal lebih kecil (*splicing*) dibutuhkan waktu lebih lama yaitu sekitar 30 menit. rRNA dengan ukuran 28S, 5,8S, 18S berasal dari pre-RNA 45S dan rRNA 5S berasal dari penggal tersendiri. Untuk membentuk rRNA dalam subunit kecil ribosom dibutuhkan waktu 10 menit atau kurang, sedang waktu untuk sintesis rRNA (40S) dalam sub unit besar diperlukan waktu sebesar 35-40 menit.

3. Struktur tRNA

Bentuknya paling kecil di antara ketiga tipe utama RNA (4S) dan memiliki antara 74 dan 95 residu nukleotida. Setidaknya terdapat satu tipe spesifik molekul tRNA untuk setiap 20 asam amino yang lazim terdapat dalam protein. Bersama-sama, tRNA menyusun sekitar lima belas persen total RNA dalam sel. Molekul tRNA mengandung basa yang tak-lazim dan memiliki pemasangan basa dalam rantai yang luas. Molekul tRNA juga mengandung turunan dari nukleotida yang dihasilkan melalui modifikasi pasca transkripsional.

Pada sel eukariotik, 10-20% nukleotida tRNA mungkin mengalami modifikasi. Sebagian besar molekul tRNA mengandung dihidrouridin (D), dimana satu ikatan rangkap pada basa mengalami reduksi; ribotimidin (T), dimana sebuah gugus metil ditambahkan ke urasil untuk membentuk timin; dan pseudouridin (ψ), dimana urasil melekat ke ribosa melalui sebuah ikatan karbon-karbon dan bukan ikatan nitrogen-karbon. Basa pada ujung-5' antikodon tRNA, yang membentuk pasangan dengan basa pada ujung-3' kodon pada mRNA, sering mengalami modifikasi.

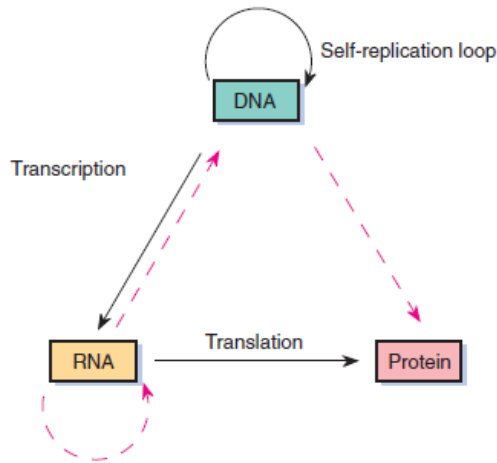
Setiap molekul tRNA bertindak sebagai adaptor yang membawa asam amino spesifiknya secara kovalen berikatan dengan ujung-3'-nya ke tempat sintesis protein. Di sini, tRNA mengenali kode genetik pada suatu mRNA, yang menentukan penambahan asam aminonya ke rantai peptida yang sedang terbentuk.



Gambar 2-18. Struktur khas dari tRNA (*cloverleaf*)

2.4. Sintesis/Replikasi DNA

Pada tahun 1958, Francis Crick pertama kali menjelaskan tentang urutan informasi genetik sebagai suatu *central dogma* yaitu DNA mentransfer informasi ke RNA yang kemudian secara langsung mengontrol sintesis protein. DNA juga mengontrol replikasinya sendiri. Transkripsi adalah proses sintesis RNA dari sebuah DNA *template* menggunakan prinsip pasangan basa (menggunakan “bahasa” nukleotida”). RNA mengontrol sintesis protein melalui proses translasi karena informasi dari nukleotida diterjemahkan ke dalam informasi berupa asam amino.



Gambar 2-19. *Central Dogma* dalam ekspresi gen

2.4.1. Prinsip dan Komponen Yang Dibutuhkan

Setiap sel melakukan pembelahan untuk membuat *copy*/salinan maka salinan tersebut harus dibuat serupa dan diwariskan kepada sel yang baru. Hal ini sangat penting karena DNA merupakan material genetik fundamental bagi setiap organisme. Sebuah salinan komplit dari genom harus dihasilkan sebelum mitosis. Proses ini disebut dengan replikasi DNA. Replikasi genom pada manusia terjadi hanya di waktu tertentu selama masa hidup sel. Periode ini disebut sebagai fase sintesis atau fase S. Sel mempersiapkan sintesis DNA di G1.

Fungsi primer replikasi DNA dipahami sebagai penyediaan informasi genetik organisme dan spesies dapat dipertahankan. Replikasi DNA memutuskan ikatan hidrogen lemah antara basa nukleotida yang akan meninggalkan sebuah untai DNA tunggal yang biasanya tidak berpasangan. Replikasi DNA sangat tergantung pada prinsip pasangan basa komplementer (T-A dan G-C). Contohnya, sebuah untai tunggal dengan sekuens basa ATTGCT akan berikatan dengan seri nukleotida bebas TAACGA. Untai tunggal ini disebut *template* terhadap untai komplementer yang dibentuk. Saat replikasi selesai, maka sebuah molekul untai ganda baru yang identik dengan aslinya terbentuk.

Proses sintesis DNA disebut sebagai replikasi. Pada model DNA Watson-Crick, masing-masing untai dari molekul DNA yang telah ada berperan sebagai suatu cetakan atau *template* untuk menghasilkan sebuah untai baru dan sekuens (urutan) dari

nukleotida dari untai baru tersebut ditentukan oleh basa komplementer. Selama replikasi, grup fosfat dari nukleotida disatukan secara enzimatik oleh *phosphodiester linkage* ke grup 3'-OH dari nukleotida terakhir yang ditambahkan ke untai baru (Gambar). Nukleotida yang digunakan untuk replikasi DNA adalah trifosfat deoksiribonukleotida yang mempunyai 3 grup fosfat berurutan terikat pada 5-C' dari gugus karbohidrat deoksiribosa.

Proses replikasi DNA bersifat kompleks dan melibatkan banyak fungsi sel serta beberapa prosedur verifikasi untuk memastikan ketepatan replikasi. Kelengkapan sintesis DNA termasuk sejumlah protein berbeda yang terikat pada *single-stranded* DNA, *unwind duplex* DNA, protein inisiasi sintesis DNA, protein yang mendeteksi dan mengkoreksi kesalahan replikasi, sintesis DNA dan beragam aktivitas lain. Untuk itu, DNA polimerase berperan untuk mengikat deoksiribonukleat, memasang nukleotida yang tepat sesuai untai cetakan dan membentuk *phosphodiester linkage*.

Sintesis DNA tersebut mengikuti aturan sebagai berikut: a) penambahan setiap nukleotida berurutan satu persatu pada ujung rantai yang disintesis; b) urutan basa yang terdapat pada setiap urutan DNA yang baru adalah komplemen urutan basa DNA induk. Untuk memahami hal tersebut, perlu diketahui tiga prinsip dasar, yaitu:

1. DNA polimerase tidak mampu membuka DNA dupleks menjadi terpisah untuk memulai replikasi.
2. DNA dupleks terdiri dari dua utas yang saling berlawanan arah yaitu satu utas arah 5'→3', sedangkan yang lain dari 3'→5'.
3. DNA polimerase memperpanjang urutan primer yang sudah ada yaitu dengan menambahkan dNTP pada ujung 3'-OH.

Berdasarkan prinsip tersebut, maka untuk replikasi DNA diperlukan bantuan protein lain, termasuk enzim. Berikut protein-protein yang terlibat pada proses replikasi DNA:

Tabel 2-3. Protein-protein yang terlibat pada proses replikasi DNA

Protein	Fungsi
DNA polimerase	Polimerisasi deoksiribonukleotida
Helikase	<i>Unwinding</i> DNA secara prosesif
Topoisomerase	Membebaskan hambatan torsional yang terjadi akibat penguraian yang dipicu oleh helikase
DNA primase	Memulai sintesis primer RNA

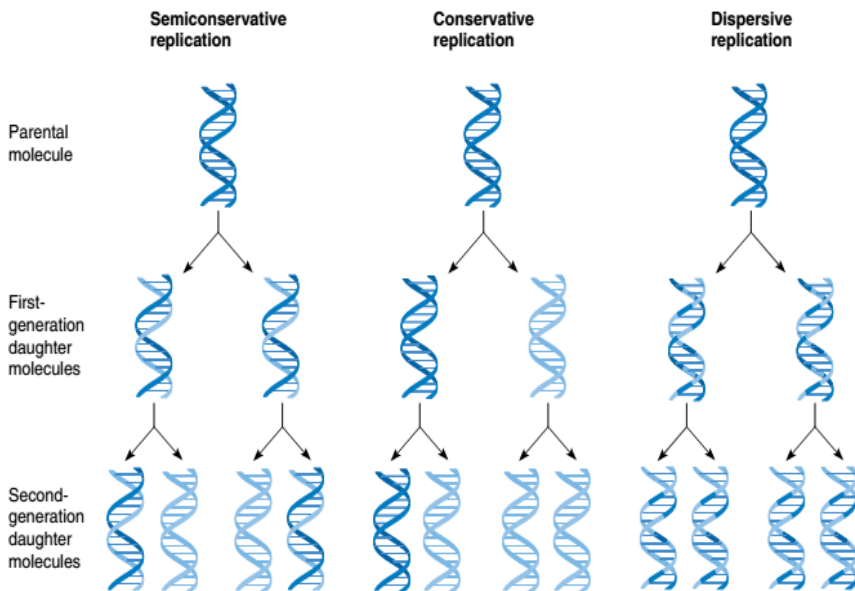
Protein pengikat untai-tunggal (*Single-stranded DNA binding protein/SSB*)

Mencegah penyatuan dini DNA ke bentuk asalnya (untai ganda)

DNA ligase

Menambal celah untai tunggal antara rantai *nascent* dan fragmen Okazaki di untai retrograd.

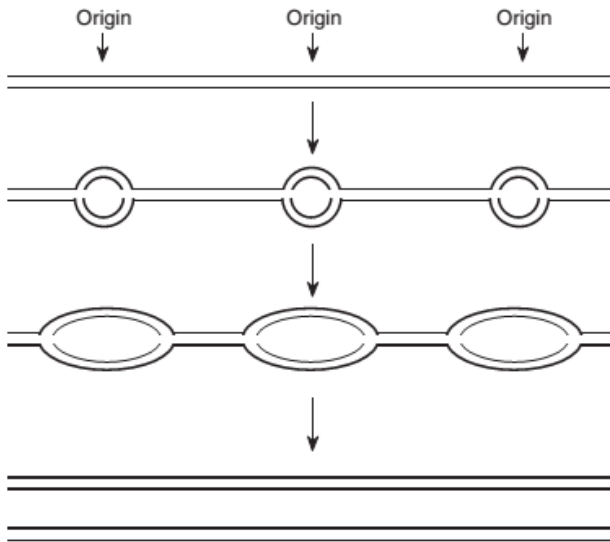
Masing-masing kromosom anak memiliki satu untai DNA induk dan satu untai komplementer yang baru disintesis. Oleh karena itu, replikasi dikatakan sebagai semikonservatif yaitu untai dipertahankan tetapi tidak lagi bersama-sama. Masing-masing untai induk berpasangan dengan untai baru yang disintesis. Pada model replikasi konservatif, molekul DNA untai ganda induk tetap bergabung, sedangkan kedua untaian DNA anakan terdiri atas molekul hasil sintesis baru. Model replikasi lain dispersif menyatakan bahwa molekul DNA induk mengalami fragmentasi sehingga DNA anakan terdiri atas campuran molekul lama (berasal dari DNA induk) dan molekul hasil sintesis baru.



Gambar 2-20. Model replikasi DNA

Replikasi dimulai dari daerah tertentu pada molekul DNA, yang disebut sebagai origin (*ori C*). Dua untaian parental dipisahkan di dalam daerah ini, lalu kedua untaian disalin secara serempak. Kromosom eukariotik memiliki banyak titik awal (*point of origin*)

tempat replikasi dimulai. Di titik awal ini pada kromosom muncul “gelembung” (*replication bubble*) dan dari masing-masing titik berlangsung sintesis DNA dalam dua arah. Jadi, kedua untai adalah salinan dari setiap cabang. Fenomena ini dinamakan replikasi bidireksional.



Gambar 2-21. Gelembung replikasi DNA dan titik awal replikasi (*point of origin*)

Seiring dengan membesarnya gelembung, sintesis-sintesis tersebut bergabung, dan replikasi selesai. Karena kromosom eukariotik mempunyai banyak titik awal replikasi (sehingga memiliki banyak replikon-satuan replikasi), duplikasi kromosom yang paling besar pun dapat berlangsung dalam waktu yang cukup singkat. Dalam tubuh, sel yang membelah menyelesaikan fase S siklus sel dalam periode 10-14 jam.

2.4.2. Mekanisme Dasar Replikasi DNA

Replikasi DNA berlangsung dalam beberapa tahap yaitu: (1) denaturasi (pemisahan) untai DNA induk; (2) peng-“awal”-an (inisiasi) sintesis DNA; (3) pemanjangan untai DNA; (4) ligasi fragmen-fragmen DNA; dan (5) peng-“akhir”-an (terminasi) sintesis DNA.

Helikase menggunakan energi dari ATP untuk memutus ikatan hidrogen yang menyatukan pasangan basa. Hal ini

memungkinkan dua untai DNA parental untuk terurai atau “unwinding” sehingga membentuk garpu replikasi (*replication fork*). Penguraian ini terjadi setiap 10 pasangan nukleotida agar untai dapat memisah.

Single-stranded DNA binding protein (SSB) terikat pada bagian tunggal dari masing-masing untai DNA, mencegah untai tersebut untuk menyatu kembali dan melindunginya dari degradasi oleh nuklease. Protein SSB ini menstabilkan struktur untai-tunggal sewaktu garpu replikasi bergerak maju. Protein stabilisator ini berikatan secara kooperatif dan stoikiometris dengan untai tunggal tanpa mengganggu kemampuan nukleotida berfungsi sebagai cetakan.

Primase mensintesis sebuah RNA primer pendek (sekitar 10 nukleotida) dengan arah $5' \rightarrow 3'$ dan berawal dari asal untai parental masing-masing. Untai parental digunakan sebagai sebuah cetakan/*template* dalam proses ini. RNA primer dibutuhkan karena DNA polimerase tidak mampu menginisiasi sintesis DNA tetapi hanya memperpanjang untai dari ujung primer $3'$ dari primer yang sudah ada.

Sintesis untaian DNA yang baru akan dimulai segera setelah kedua untaian DNA induk terpisah membentuk garpu replikasi. Pemisahan kedua untaian DNA induk yang akan direplikasi dilakukan oleh enzim DNA helikase. Kedua untaian DNA induk digunakan sebagai cetakan untuk menyintesis DNA baru. Sintesis DNA berlangsung dengan orientasi $5'-P \rightarrow 3'-OH$. Oleh karena ada dua untaian DNA cetakan yang orientasinya berlawanan, maka sintesis kedua untaian DNA baru juga berlangsung dengan arah geometris yang berlawanan, namun semuanya tetap dalam orientasi $5' \rightarrow 3'$. Keadaan semacam ini menimbulkan perbedaan dalam hal mekanisme sintesis antara kedua untaian DNA yang baru.

Dalam proses replikasi, garpu replikasi akan membuka secara bertahap dimulai dari titik awal replikasi (*ori*) dan akan bergerak sepanjang DNA cetakan sampai semua molekul DNA induk direplikasi. Salah satu untaian DNA yang baru disintesis dengan arah geometris yang searah dengan pembukaan garpu replikasi, sedangkan untaian DNA yang lain disintesis dengan arah yang berlawanan. Oleh karena itu, sintesis untaian DNA baru yang searah dengan pembukaan garpu replikasi (*replication fork*). akan dapat dilakukan tanpa terputus (sintesis secara kontinu). Untaian DNA yang disintesis secara kontinu semacam ini disebut sebagai untaian DNA awal (*leading strand*). Sebaliknya, sintesis untaian DNA yang berlawanan arah geometrinya dengan arah pembukaan garpu replikasi dilakukan secara tahap demi tahap (sintesis secara

diskontinu). Hal ini terjadi karena proses polimerisasi pada untai DNA ini hanya dapat dilakukan setelah DNA cetakannya membuka seiring dengan membukanya garpu replikasi. Untaian DNA yang disintesis secara lambat semacam ini disebut untai DNA lambat (*lagging strand*). Secara umum dapat dikatakan bahwa mekanisme replikasi DNA berlangsung secara semidiskontinu karena ada perbedaan mekanisme dalam proses sintesis kedua untai DNA.

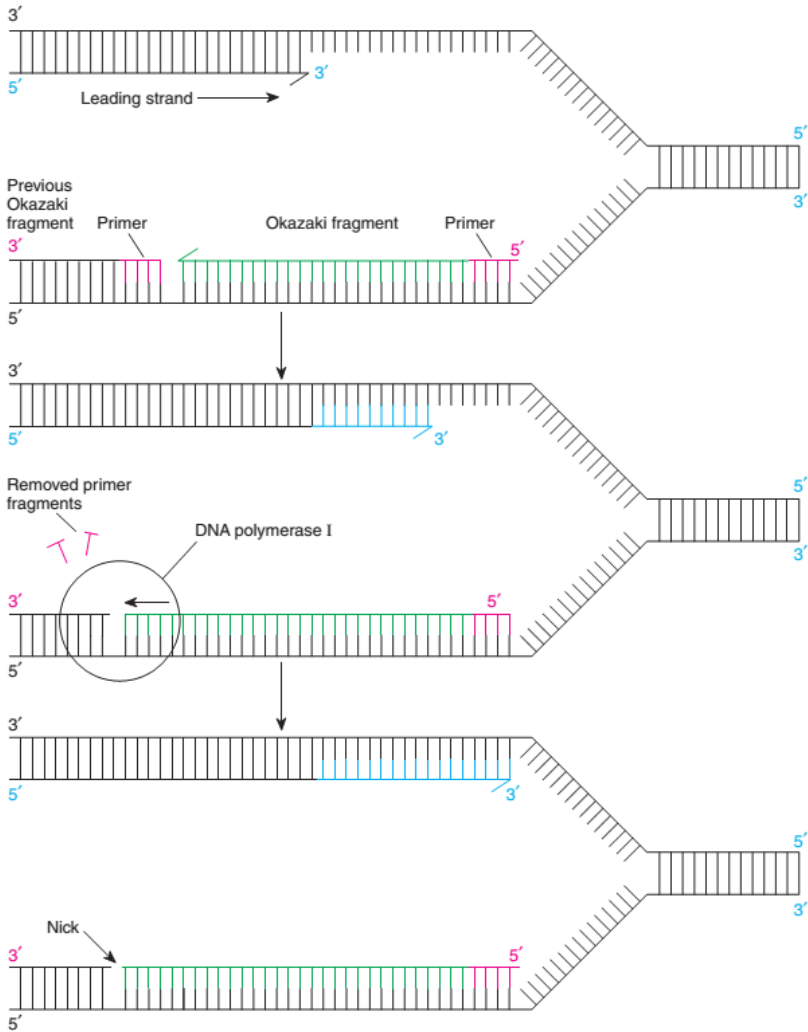
Pada untai DNA awal, polimerisasi DNA berlangsung secara kontinu sehingga molekul DNA yang baru disintesis merupakan satu unit. Sebaliknya, pada untai DNA lambat polimerisasi dilakukan fragmen demi fragmen. Fragmen-fragmen DNA pendek tersebut pada akhirnya disambung (ligasi) dengan enzim DNA ligase sehingga menjadi unit yang utuh. Fragmen-fragmen pendek (sekitar 1000 nukleotida panjangnya) yang disintesis tersebut disebut sebagai Fragmen Okazaki.

Untuk setiap garpu replikasi, harus disintesis beberapa fragmen hingga 250. Untuk memastikan hal ini terjadi, helikase bekerja pada untai retrograd untuk menguraikan dsDNA dalam arah $5' \rightarrow 3'$. Helikase bersama dengan primase menyediakan akses yang sesuai kepada primase untuk menuju cetakan. Hal ini memungkinkan terbentuknya primer RNA, pada gilirannya, polimerase akan memulai replikasi DNA. Proses ini merupakan rangkaian reaksi penting karena DNA polimerase tidak dapat memulai sintesis DNA *de novo*. Kompleks yang *mobile* antara helikase dan primase disebut sebagai suatu primosom. Setelah sintesis Fragmen Okazaki selesai dan polimerase dibebaskan, terbentuklah primer baru. Molekul polimerase yang sama tetap berikatan dengan garpu replikasi dan melanjutkan sintesis Fragmen Okazaki.

DNA girase (DNA topoisomerase II) membuat suatu fungsi "putar" atau *swivel* di depan masing-masing garpu replikasi. Fungsi putar ini dilakukan oleh enzim-enzim spesifik yang memotong ("nick") di satu untai heliks ganda yang sudah lurus sehingga proses *unwinding* dapat berlanjut. Potongan ini segera ditambal kembali tanpa memerlukan asupan energi karena pembentukan ikatan kovalen berenergi tinggi antara tulang punggung fosfodiester yang terpotong dan enzim penambal. Enzim penambal ini disebut DNA topoisomerase. Enzim ini juga mampu menguraikan DNA *supercoiled*. DNA *supercoiled* adalah struktur tingkat tinggi yang terbentuk di molekul DNA sirkular yang memuntir di sekeliling suatu inti.

Kedua DNA polimerase I dan III mempunyai kemampuan untuk "proofread" atau pemeriksaan/koreksi tugasnya dengan aktivitas enzim $3' \rightarrow 5'$ eksonuklease. Apabila DNA polimerase

membuat sebuah kesalahan selama sintesis DNA, basa yang tidak berpasangan pada ujung primer 3' dari untai yang sedang dibuat dibuang sebelum sintesis dilanjutkan.



Gambar 2-22. Proses replikasi DNA dan enzim yang terlibat

2.4.2.1. Peran Primer Dalam Replikasi DNA

Polimerisasi DNA (replikasi DNA) hanya dapat dimulai jika tersedia molekul primer, yaitu suatu molekul yang digunakan untuk mengawali proses polimerisasi untai DNA. Molekul primer dapat

berupa molekul DNA, RNA, atau bahkan protein spesifik. Hal ini berbeda dengan proses polimerisasi untai RNA (proses transkripsi) yang tidak memerlukan primer. Selain itu, polimerisasi DNA juga mutlak memerlukan cetakan (*template*) yang dapat berupa untai DNA atau RNA.

Setelah primer disintesis dan menempel (*anneal*) pada DNA cetakan, kemudian dilakukan sintesis DNA baru. Molekul primer digunakan untuk menempelkan nukleotida pertama pada untai DNA baru. Pada proses sintesis untai DNA lambat (*lagging strand*) diperlukan lebih dari satu primer. Hal ini disebabkan sintesis DNA berlawanan arah dengan arah pembukaan garpu replikasi sehingga terjadi sintesis secara diskontinu. Untai DNA yang baru disintesis dengan menggunakan DNA cetakan (DNA "induk") sebagai acuan sehingga DNA baru bersifat komplementer dengan cetakannya. Jika pada untai DNA cetakan ada nukleotida A misalnya, maka akan diikatkan nukleotida T pada ujung 3'-OH primer, sedang jika pada cetakan ada nukleotida C maka akan diikatkan nukleotida G. Demikian selanjutnya akan dilakukan pengikatan nukleotida-nukleotida pada ujung 3'-OH yang komplementer dengan cetakannya sehingga terjadi pemanjangan untai DNA baru.

Pada prokariot, proses polimerisasi untai DNA baru tersebut dikatalisis oleh enzim DNA polimerase III. Pada untai DNA lambat, proses polimerisasi akan berlanjut sampai DNA polimerase III bertemu dengan ujung 5'-P RNA primer yang menempel pada bagian lain. Pada titik ini, DNA polimerase III akan terdisosiasi dari DNA cetakan.

RNA primer yang menjadi bagian dari fragmen Okazaki selanjutnya akan didegradasi oleh aktivitas eksonuklease 5' → 3' yang ada pada enzim DNA polimerase I. Bagian RNA yang terdegradasi selanjutnya diisi dengan molekul DNA oleh aktivitas polimerase 5' → 3' yang dimiliki oleh DNA polimerase I. Pada keadaan ini sebenarnya antara fragmen DNA yang satu dengan fragmen DNA yang ada di dekatnya masih ada celah (*nick*). Hal ini terjadi karena belum ada ikatan fosfodiester antara ujung 3'-OH pada nukleotida terakhir yang disintesis oleh DNA polimerase I dengan ujung 5'-P fragmen DNA yang ada di dekatnya. Celah ini selanjutnya akan disambung (ligasi) oleh aktivitas enzim DNA ligase dengan menggunakan NAD dan ATP sebagai sumber energi.

Keadaan yang agak berbeda terjadi pada proses sintesis untai DNA awal (*leading strand*). Oleh karena arah sintesis untai DNA awalan adalah searah dengan arah pembukaan garpu replikasi, maka sintesis DNA berlangsung secara kontinu. Selanjutnya untai

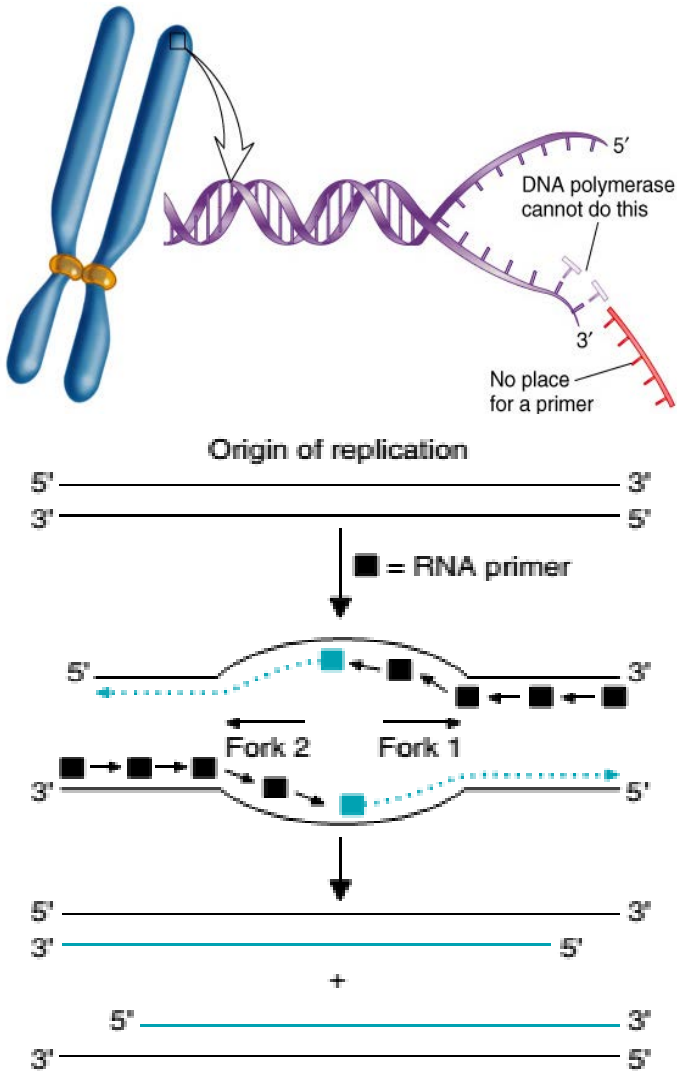
DNA baru disintesis dengan adanya aktivitas DNA polimerase III secara kontinu tanpa ada pembentukan fragmen Okazaki.

2.4.2.2. Terminasi Replikasi DNA

Salah satu struktur genom sel eukariot adalah strukturnya yang linear. Sementara struktur genom prokariot adalah berbentuk DNA lingkar. Perbedaan struktur semacam ini mempunyai implikasi dalam hal proses terminasi replikasi. Pada molekul DNA prokariot yang berbentuk lingkar, terminasi replikasi akan terjadi jika kedua garpu replikasi yang bergerak ke arah yang berbeda bertemu pada sisi terminasi. Pada eukariot keadaannya menjadi lain karena struktur genomnya linear sehingga ada komplikasi terminasi replikasi pada ujung-ujung kromosom.

Telomer adalah sekuens repetitif di ujung molekul DNA linear pada kromosom eukariota. Setiap kali replikasi pada sel normal, telomer memendek karena DNA polimerase tidak dapat melengkapinya sintesis pada ujung primer 5' dari masing-masing untai. Hal ini menyebabkan penuaan sel karena perlahan telomer menjadi pendek sehingga sel tidak berfungsi dengan baik dan sel dapat mati.

Sintesis dari *lagging strand* membutuhkan sebuah primer pendek yang nantinya akan dilepas. Pada ujung kromosom, tidak ada cara untuk mensintesis region ini apabila primer telah dilepas. Untuk itu, *lagging strand* selalu lebih pendek dari cetakannya yaitu hanya sepanjang primer saja. Hal ini disebut "end-replication problem". Bakteri tidak mengalami hal ini karena DNAnya berbentuk sirkuler. Pada eukariota, ujung kromosom atau telomer ini berfungsi untuk: (1) melindungi kromosom dari penyatuan satu sama lain; (2) mengatasi *end-replication problem*. DNA polimerase hanya dapat mensintesis DNA dengan arah 5' → 3' dan tidak mampu menginisiasi sintesis DNA. Dua hal ini menyebabkan masalah pada ujung primer 3' kromosom linear.

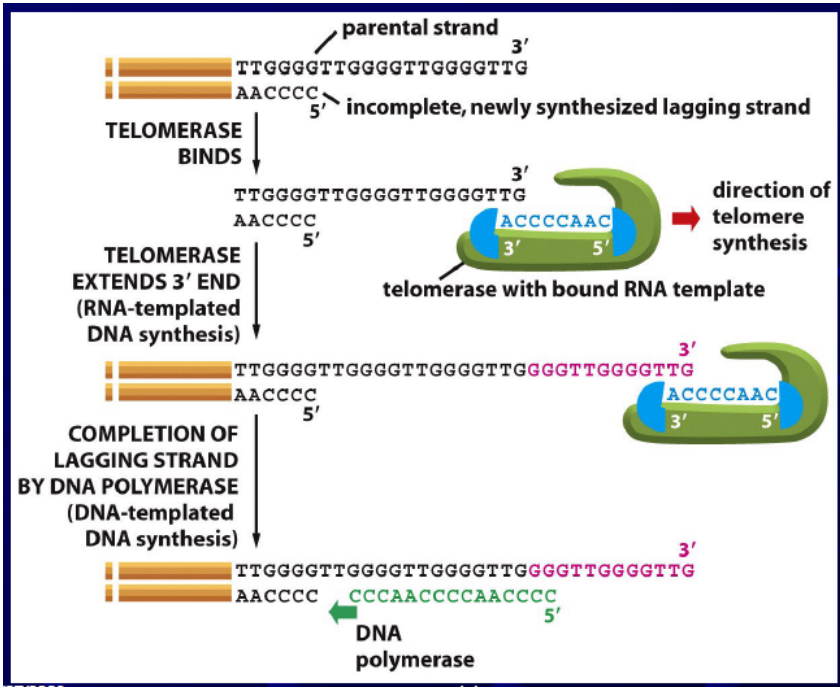


Gambar 2-23. *End-replication problem* pada kromosom linear

Apabila masalah ini tidak diatasi, maka kromosom linear ini secara progresif akan lebih pendek setiap kali replikasi DNA. Sel mengatasi hal ini dengan menambahkan sekuens DNA pada ujung kromosom (telomer) yang dikatalisis oleh enzim telomerase. Telomerase mengandung protein dan RNA sebagai cetakan yang akan komplementer dengan sekuens DNA pada telomere sehingga telomerase dapat terikat pada ujung 3' *overhang*. Telomerase adalah enzim pada eukariota yang berfungsi untuk mempertahankan telomer. Telomerase mengandung cetakan RNA pendek yang

komplementer terhadap urutan sekuens telomer DNA. Normalnya, aktivitas telomerase hanya terdapat pada sel embriogenik, sel germinal, *stem cells* dan tidak terdapat pada sel somatik.

Telomer manusia mempunyai sekuens TTAGGG/AATCCC. Spesifisitas sekuens tersebut ditentukan oleh telomerase dan suatu molekul RNA kecil yang ada pada kompleks telomerase. Molekul RNA kecil tersebut digunakan sebagai cetakan untuk sintesis telomer. Telomerase akan menambahkan banyak sekuens spesifik seperti di atas pada ujung kromosom sehingga sekuens tersebut dapat digunakan sebagai primer dalam sintesis telomer. Dengan cara demikian maka tidak akan ada persoalan dengan pemendekan ujung kromosom. Walaupun sekuens spesifik tersebut hilang maka dapat digantikan lagi oleh aktivitas telomerase berikutnya karena sekuens tersebut bukan sekuens asli kromosom.



Gambar 2-24. Mekanisme kerja telomerase

2.5. Transkripsi: Sintesis RNA

Transkripsi adalah proses penyalinan kode-kode genetik yang ada pada urutan DNA menjadi molekul RNA. Transkripsi adalah proses yang mengawali sifat-sifat genetik yang nantinya akan muncul

sebagai fenotip. Urutan nukleotida pada salah satu untai DNA digunakan sebagai cetakan (*template*) untuk sintesis molekul RNA yang komplementer. Molekul RNA yang disintesis dalam proses transkripsi pada garis besarnya dapat dibedakan menjadi 3 (tiga) kelompok RNA yaitu: (1) mRNA (*messenger* RNA); (2) tRNA (transfer RNA); dan (3) rRNA (ribosomal RNA). Molekul mRNA adalah RNA yang merupakan salinan kode-kode genetik pada DNA yang dalam proses selanjutnya akan diterjemahkan menjadi urutan asam-asam amino yang menyusun suatu polipeptida atau protein tertentu. Molekul tRNA adalah RNA yang berperan membawa asam-asam amino spesifik yang akan digabungkan dalam proses sintesis protein (translasi). Molekul rRNA adalah RNA yang digunakan untuk menyusun ribosom yaitu suatu partikel di dalam sel yang digunakan sebagai tempat sintesis protein. Molekul tRNA dan rRNA tidak pernah ditranslasi karena molekul yang digunakan adalah RNA-nya sendiri.

Dalam proses transkripsi, beberapa komponen utama yang terlibat adalah: (1) urutan DNA yang akan ditranskripsi (*template*), (2) enzim RNA polimerase, (3) faktor-faktor transkripsi, dan (4) prekursor untuk sintesis RNA. Urutan DNA yang akan ditranskripsi adalah gen yang diekspresikan. Secara garis besar, gen adalah suatu urutan DNA yang mengkode urutan lengkap asam amino suatu polipeptida atau molekul RNA tertentu.

Gen yang lengkap terdiri atas tiga bagian utama, yaitu:

1. Promotor

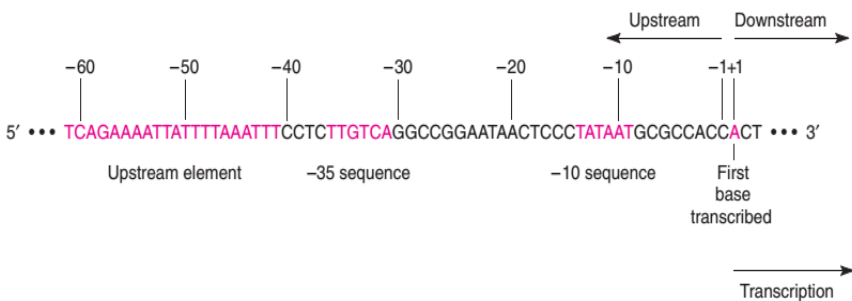
Promotor adalah urutan DNA spesifik yang berperan dalam mengendalikan transkripsi gen struktural dan terletak di sebelah hulu (*upstream*) dari bagian struktural gen. Bagian promotor adalah bagian gen tempat awal pelekatan enzim RNA polimerase yang melakukan transkripsi bagian struktural. Salah satu bagian penting promotor disebut sebagai kotak Pribnow (*Pribnow box*) pada urutan nukleotida posisi -10 dan posisi -35. Angka minus menyatakan letak suatu nukleotida di sebelah hulu dari titik awal transkripsi (pada posisi +1) dan tidak ditranskripsi. Analisis terhadap 100 gen menunjukkan bahwa pada posisi -10 dan -35 terdapat urutan nukleotida konsensus, sebagai berikut:

posisi -10 : T₈₉ A₈₁ T₅₀ A₆₅ A₆₅ T₁₀₀
posisi -35 : T₈₅ T₈₃ G₈₁ A₆₁ C₆₉ A₅₂

Angka yang mengikuti simbol nukleotida (misalnya T) tersebut menyatakan frekuensi persentase adanya nukleotida tersebut pada posisi spesifik di promotor. Urutan nukleotida di antara -35 dan -10, selain urutan yang tersebut di atas, tidak memiliki kekhasan tertentu. Pengubahan jarak antara kotak -35 dan -10 tersebut akan mengakibatkan perubahan aktivitas atau kekuatan promotor. Jarak optimum antara kedua kotak tersebut adalah 17 nukleotida. Oleh karena urutan konsensus pada kotak Pribnow adalah TATAAT, maka seringkali kotak ini disebut juga kotak TATA (TATA box). Kotak -10 dan -35 juga disebut sebagai elemen-elemen promotor inti (*core promotor elements*). Pada eukariot, TATA box disebut Hogness box.

Kotak TATA merupakan daerah pada promotor yang berperan dalam mengarahkan enzim RNA polimerase sehingga arah transkripsinya adalah dari ujung 5' ke ujung 3' seperti yang terjadi pada replikasi. Selain itu, daerah ini merupakan tempat pembukaan heliks DNA untuk membentuk kompleks promotor yang terbuka. Tipe-tipe urutan promotor pada DNA eukariot: TATA box, inisiator, kelompok CpG.

Ekspresi beberapa gen tertentu juga dikendalikan oleh elemen spesifik yang dikenal sebagai *enhancer*/penguat. *Enhancer* adalah urutan DNA atau protein pengikat yang dapat meningkatkan transkripsi gen spesifik. Elemen ini ditemukan pada beberapa tempat biasanya di daerah *upstream*, tetapi dapat pula *downstream* dari *start site* transkripsi.



Gambar 2-25. Promotor dari gen RNA ribosomal *E. coli*

2. Bagian struktural

Bagian yang mengkode urutan asam amino suatu polipeptida atau urutan nukleotida RNA. Gen struktural pada prokariot diawali dengan urutan ATG yang mengkode asam amino metionin. Meskipun demikian perlu diketahui bahwa proses transkripsi tidak dimulai dari urutan ATG tersebut tetapi pada beberapa nukleotida di sebelah

hulu dari ATG. Ciri gen struktural prokariot adalah semua sekuens yang ada pada bagian ini, mulai dari sekuens inisiasi translasi (ATG) sampai kodon terakhir sebelum titik akhir translasi (kodon stop yaitu TAA/TAG/TGA) akan diterjemahkan menjadi rangkaian asam-asam amino. Pada eukariot banyak gen yang tidak semua sekuens nukleotidanya mengkode suatu asam amino. Sekuens yang tidak mengkode asam amino tersebut dinamakan sebagai intron, sedangkan urutan yang mengkode asam amino disebut sebagai ekson.

3. Terminator

Bagian gen yang terletak di sebelah hilir dari gen struktural. Terminator berfungsi untuk memberikan sinyal pada enzim RNA polimerase agar menghentikan proses transkripsi.

2.5.1. Kerja dan Jenis RNA Polimerase

Kerja RNA polimerase sangat mirip dengan kerja DNA polimerase, kecuali bahwa RNA polimerase dapat memulai sintesis rantai baru. Sebuah untai DNA berfungsi sebagai cetakan, yang disalin dalam arah 3' ke 5'. Sintesis berlangsung dalam arah 5' ke 3'. Ribonukleosida trifosfat ATP, GTP, CTP dan UTP berfungsi sebagai prekursor yang membentuk pasangan basa dengan nukleotida komplementer pada cetakan DNA. Fosfat melekat ke gugus 5'-hidroksil pada prekursor membentuk ikatan ester dengan 3'-hidroksil di ujung rantai RNA yang sedang tumbuh. Pelepasan pirofosfat dan pemutusannya oleh pirofosfatase untuk membentuk dua fosfat inorganik menghasilkan energi yang membantu menjalankan reaksi polimerisasi.

Karena RNA memiliki untai tunggal, mekanisme transkripsi RNA tidak serumit seperti pada replikasi DNA. Namun, cetakan DNA memiliki dua untai. Akibatnya, untuk setiap gen, RNA polimerase harus mampu menentukan untai mana yang akan ditranskripsi. Urutan pada DNA menentukan dimana RNA polimerase akan berikatan, seberapa sering dan seberapa kuat ikatannya dan dimana transkripsi gen dimulai. Urutan ini dikenal sebagai promotor yang biasanya terletak dekat dengan titik transkripsi dimulai (*startpoint*).

Terdapat tiga kelas RNA polimerase yang berbeda di dalam nukleus sel eukariotik. Kesemuanya adalah enzim besar dengan subunit multipel. Setiap kelas RNA polimerase mengenali tipe gen tertentu.

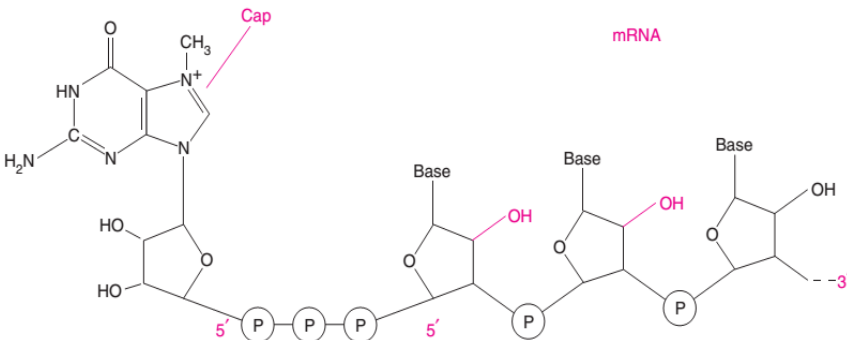
- a) RNA polimerase I: Enzim ini menyintesis prekursor RNA ribosomal besar (28S, 18S, 5,8S) di dalam nukleolus.
- b) RNA polimerase II: enzim ini menyintesis prekursor messenger RNA (mRNA) yang selanjutnya ditranslasi untuk menghasilkan protein.
- c) RNA polimerase III: enzim ini menghasilkan RNA kecil yang meliputi tRNA, RNA ribosomal 5S kecil dan beberapa *small nuclear RNA/sRNA*.

2.5.2. Sintesis mRNA

Molekul RNA yang disintesis oleh RNA polimerase II (transkrip primer) mengandung rangkaian yang ditemukan pada mRNA sitosol. Kumpulan seluruh molekul prekursor untuk mRNA dikenal sebagai RNA nukleus heterogen (hnRNA). Transkrip primer dimodifikasi secara luas di dalam nukleus setelah transkripsi. Modifikasi ini biasanya meliputi:

1. Pembentukan cap RNA (*5' capping*)

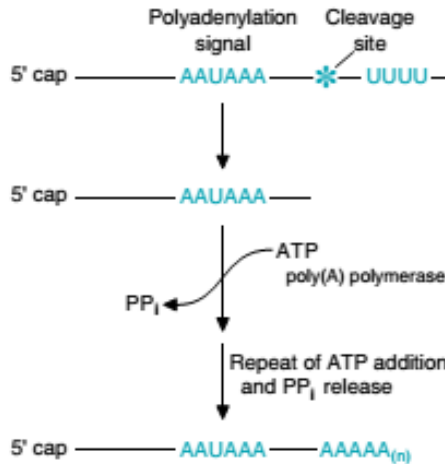
Merupakan reaksi pemrosesan pertama untuk hnRNA. *Cap* (tudung)-nya adalah 7-metil-guanosin yang melekat “mundur” ke ujung terminal-5’ mRNA, yang membentuk ikatan 5’→ 5’ trifosfat yang tidak lazim. Penambahan bagian guanosin trifosfat dari tudung tersebut dikatalisis oleh enzim nukleus guanililtransferase. Metilasi guanin terminal ini terjadi di sitosol dan dikatalisis oleh guanin-7-metiltransferase. Tahap metilasi tambahan ini memungkinkan inisiasi translasi dan membantu menstabilkan mRNA. mRNA eukariotik yang tidak memiliki cap tidak ditranslasi dengan sempurna. Cap ini berfungsi dalam pengikatan mRNA matang ke ribosom selama sintesis protein.



Gambar 2-26. Pembentukan *cap* RNA

2. Penambahan ekor poli(A)

RNA polimerase yang terus mentranskripsikan DNA, transkrip mengalami pemutusan oleh enzim sekitar 10-20 nukleotida ke arah hilir dari urutan poliadenilasi (AAUAAA). Setelah pemutusan ini, terjadi penambahan ekor poli(A) ke transkrip oleh enzim poliadenilat polimerase. Ekor ini membantu menstabilkan mRNA dan mempermudah jalur keluarnya dari nukleus. Setelah mRNA memasuki sitosol, ekor poli(A) secara bertahap memendek.



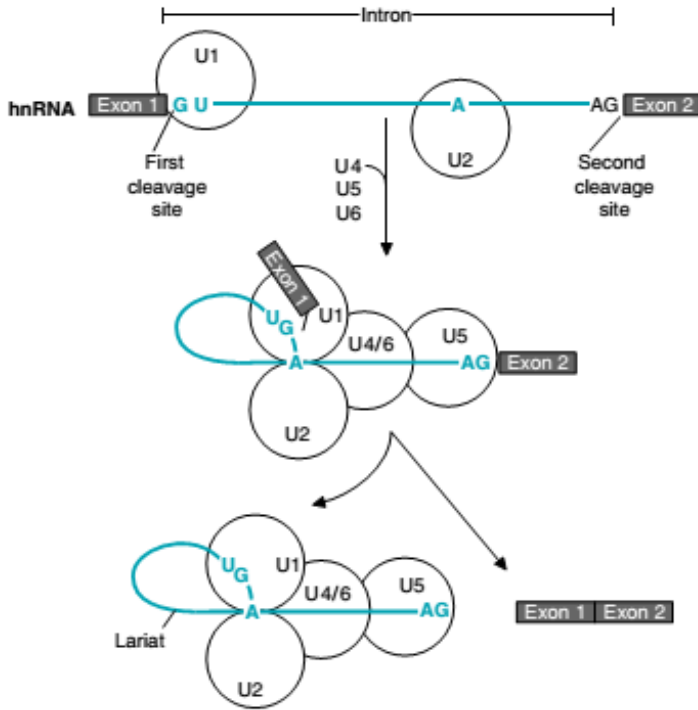
Gambar 2-27. Sintesis dari poli(A)

3. Pengeluaran intron (*splicing*)

Maturasi mRNA eukariotik biasanya melibatkan pembuangan sekuens RNA yang tidak mengkode protein (intron atau *intervening sequence*) dari transkrip primer. Rangkaian pengode sisanya, ekson, digabungkan untuk membentuk mRNA matur. Perangkat molekular yang menyelesaikan tugas ini dikenal sebagai spliseosome.

Ribonukleoprotein inti yang berukuran kecil (snRNP) yang disebut “snurp” berperan dalam pembentukan spliseosome. Karena banyak mengandung urasil, *snurp* diidentifikasi dengan nomor yang didahului oleh huruf U. *Snurp* U1 berikatan dengan taut ekson/intron pertama, U2 berikatan dengan suatu regio di dalam intron yang mengandung sebuah residu adenin nukleotida. Gugus *snurp* lain, U4, U5, dan U6 berikatan dengan kompleks menyebabkannya berbentuk struktur yang melengkung. Pemutusan terjadi di ujung ekson pertama, yang tetap dipertahankan di tempatnya oleh spliseosome.

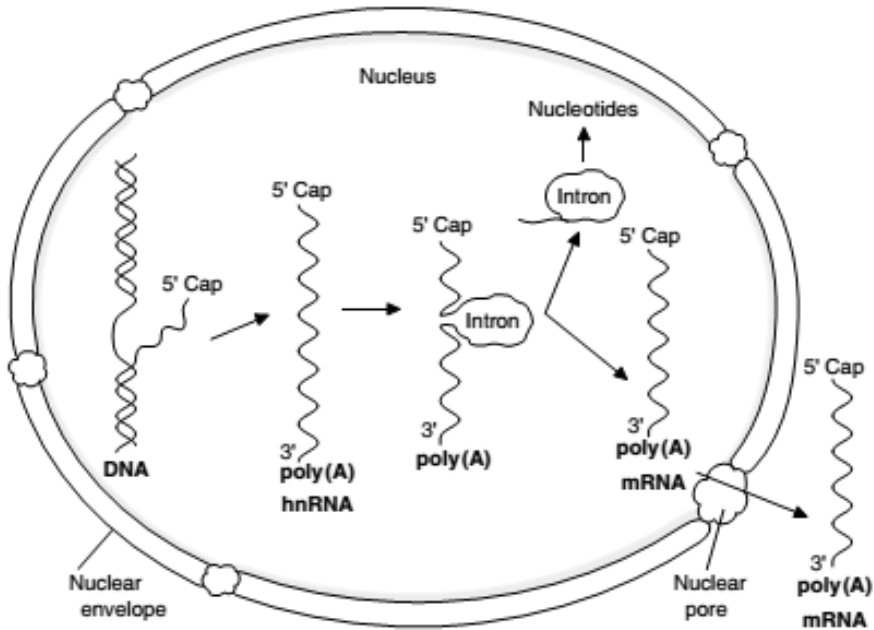
Pemutusan kedua terjadi di ujung-3' intron setelah urutan AG. Intron yang berbentuk seperti sebuah tali penjerat ternak (lasso, lariat), dilepaskan dan diuraikan menjadi nukleotida. Ekson-ekson digabung menjadi satu. Setelah membuang semua intron, molekul mRNA matur meninggalkan nukleus dan masuk ke dalam sitosol melalui pori-pori membran nukleus.



Gambar 2-28. Proses pengeluaran intron

4. Migrasi mRNA ke sitoplasma

mRNA matur yang tidak mengandung intron, membentuk kompleks dengan protein dan bergerak menembus pori-pori di selubung inti menuju sitoplasma. Di sitoplasma mRNA tersebut bergabung dengan ribosom dan mengarahkan penggabungan asam amino ke dalam protein.



Gambar 2-29. Proses sintesis mRNA

2.5.3. Sintesis rRNA

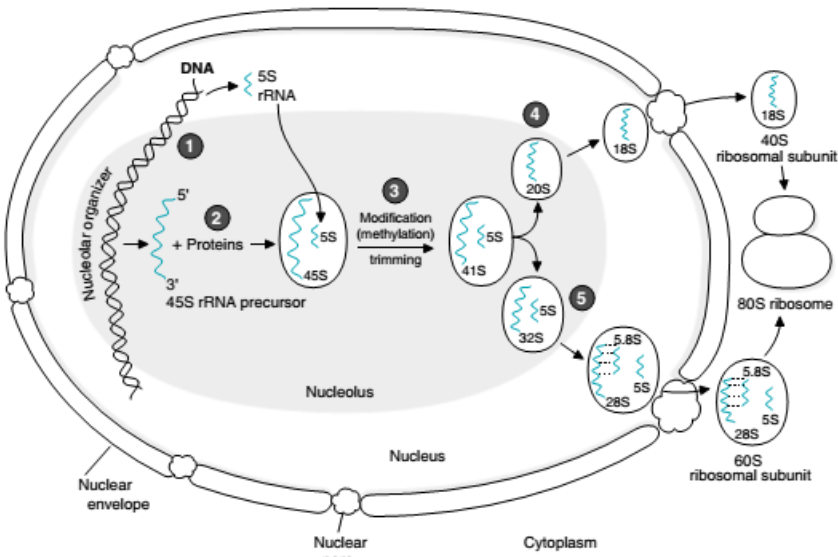
Pada eukariot, tiga dari empat rRNA dihasilkan oleh RNA polimerase I di dalam nukleolus. Gen di organisator nukleolus menghasilkan sebuah transkrip besar 45S yang terurai untuk membentuk rRNA 18S, 28S, dan 5,8S. Sekitar 1000 gen jenis ini terdapat dalam genom manusia. Gen ini berikatan dua-dua (tandem), dipisahkan oleh regio *spacer* yang mengandung sinyal terminasi untuk satu gen dan promotor untuk gen berikutnya. Promotor untuk gen rRNA terletak di regio pengapit-5' (*5'-flanking region*) pada gen dan meluas ke regio yang mengelilingi titik mulai (*startpoint*).

Transkripsi gen rRNA yang terletak di regio organisator (*organizer*) nukleolus pada genom menghasilkan regio fibrosa pada nukleolus. Sewaktu dibebaskan dari DNA, prekursor rRNA 45S berikatan dengan protein, membentuk partikel ribonukleoprotein yang membentuk regio granular pada nukleolus. Pengolahan transkrip terjadi di dalam regio granular. rRNA 5S yang dihasilkan oleh RNA polimerase III dari gen yang terletak di luar nukleolus dalam nukleoplasma bermigrasi menuju nukleolus dan menyatu

dengan partikel ribonukleoprotein. Satu sampai dua persen nukleotida pada prekursor 45S mengalami metilasi, terutama di gugus 2'-hidroksil pada ribosa. Gugus metil ini dipertahankan dalam rRNA matang dan dapat berfungsi sebagai penanda untuk pemutusan prekursor.

Prekursor 45S mengalami sejumlah pemutusan. Sebagian besar pemutusan terjadi di dalam regio yang memisahkan urutan yang kemudian menjadi rRNA matang. Sebagian prekursor mengandung intron di dalam regio yang kemudian menjadi rRNA matang. Intron ini dikeluarkan dengan reaksi penyambungan diri dan prekursor rRNA yang mengkatalisis penyambungan diri dikenal dengan nama ribozim.

Dalam pembentukan ribosom sitoplasma pada sel manusia, satu bagian dari prekursor 45S menjadi rRNA 18S yang membentuk kompleks dengan protein, membentuk subunit ribosom kecil. Segmen lain dari prekursor melipat balik dan terputus, membentuk rRNA 28S yang melekat melalui ikatan hidrogen ke rRNA 5,8S, rRNA 5S yang ditranskripsi dari gen non nukleolus dan sejumlah protein berikatan dengan rRNA 28S dan 5,8S untuk membentuk subunit ribosom 60S. Subunit ribosom bermigrasi melalui pori-pori inti. Di dalam sitoplasma, subunit ini berinteraksi dengan mRNA membentuk ribosom 80S tempat berlangsungnya sintesis protein (Gambar 2-30).



Gambar 2-30. rRNA dan sintesis ribosom

2.5.4. Sintesis tRNA

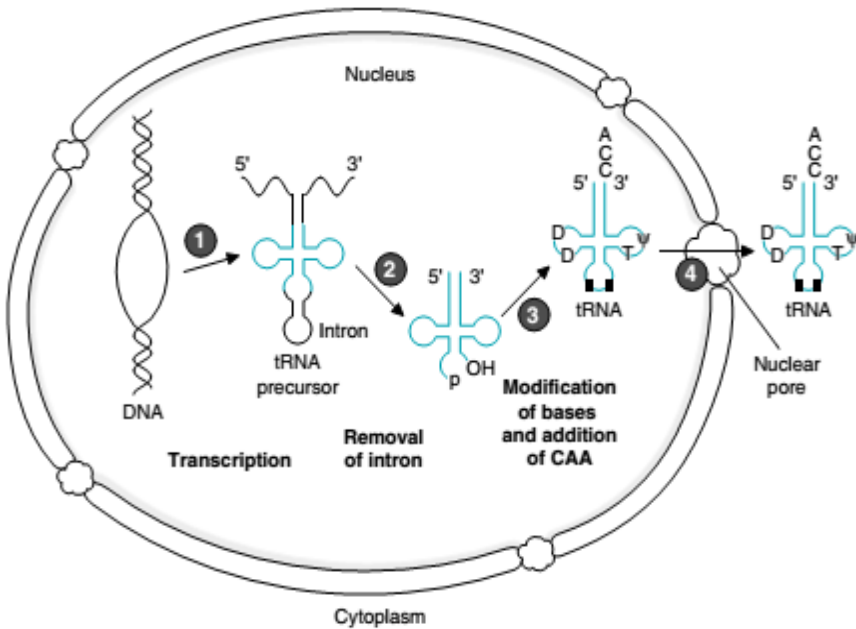
Paling sedikit terdapat 20 famili tRNA di dalam sel, satu untuk setiap asam amino yang dimasukkan ke dalam rantai polipeptida yang sedang tumbuh selama sintesis protein. tRNA memiliki struktur berbentuk daun kemangi yang melipat-lipat membentuk huruf L tiga dimensi. Banyak basa yang mengalami modifikasi pasca transkripsi.

tRNA dihasilkan oleh RNA polimerase III yang mengenali promotor terpisah di dalam regio pengkode pada gen. Satu segmen promotor terletak antara +8 dan +19. Segmen kedua terletak 30-60 pasangan basa ke hilir dari yang pertama.

Dihasilkan suatu prekursor dengan panjang sekitar 100 nukleotida. Prekursor ini berbentuk daun semangi dan selanjutnya mengalami pemutusan di ujung 5' dan ujung 3'. Enzim yang bekerja di ujung 5' adalah Rnase P yang mengandung sebuah RNA kecil (M1) yang memiliki aktivitas katalitik, berfungsi sebagai endonuklease.

Basa mengalami modifikasi pada saat yang sama dengan reaksi endonukleolitik. Pada sebagian besar tRNA terjadi tiga modifikasi: urasil mengalami metilasi oleh S-adenin-metionin (SAM) untuk membentuk timin; satu ikatan rangkap urasil mengalami reduksi untuk membentuk dihidrourasil; dan sebuah residu urasil (yang dilekatkan oleh ikatan N-glikosida) mengalami rotasi sehingga ikatannya dengan ribosa diubah menjadi ikatan karbon-karbon (pseudouridin). Sebagian prekursor tRNA mengandung intron yang kemudian dikeluarkan.

Untuk ikut serta dalam sintesis protein, tRNA harus memiliki sebuah urutan CCA di ujung 3'-nya. Nukleotida ini ditambahkan satu pada interval empat oleh nukleotidil-transferase. Asam amino membentuk sebuah ester dengan gugus hidroksil pada residu adenin nukleotida di ujung 3' tRNA. tRNA membawa asam amino ke ribosom, memastikan bahwa asam amino disisipkan pada posisi yang tepat dalam rantai polipeptida yang sedang tumbuh.



Gambar 2-31. Ikhtisar sintesis TRNA. D, T, ψ menunjukkan basa yang dimodifikasi

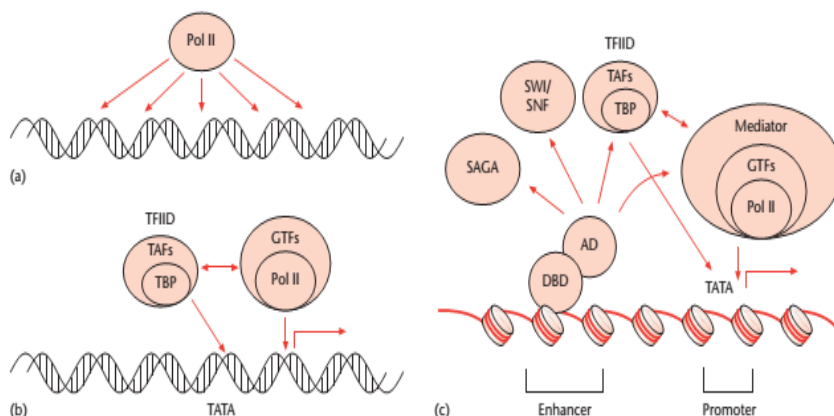
2.5.5. Mekanisme Dasar Transkripsi

Transkripsi dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu:

1. Faktor-faktor yang mengendalikan transkripsi menempel pada bagian promotor
2. Penempelan faktor-faktor pengendali transkripsi menyebabkan terbentuknya kompleks promotor yang terbuka (*open promotor complex*)
3. RNA polimerase membaca cetakan (DNA *template*) dan mulai melakukan pengikatan nukleotida yang komplementer dengan cetakannya
4. Setelah terjadi proses pemanjangan untaian RNA hasil sintesis, selanjutnya diikuti dengan proses terminasi transkripsi yang ditandai dengan pelepasan RNA polimerase dari DNA yang ditranskripsi

Berbeda dengan kemampuan RNA polimerase bakteri yang secara khusus mentranskrip gen bakteri secara *in vitro*, RNA polimerase II (Pol II) terpurifikasi yang diinkubasikan dalam sebuah tabung dengan DNA murni, tidak mampu menginisiasi proses transkripsi. Faktor-faktor tambahan telah ditemukan yang

membantu proses tersebut. Faktor-faktor ini disebut dengan *general transcription factors* (GTFs) yang berinteraksi secara langsung atau tidak langsung dengan RNA polimerase II. GTFs diperlukan untuk memposisikan RNA polimerase II pada promotor gen, membantu pembukaan dua untai DNA dan berperan sebagai enzim yang penting bagi inisiasi dan elongasi transkripsi. Kelas protein ini meliputi: *TATA-binding protein* (TBP), TFIIA, TFIIB, TFIIE, TFIIIF and TFIIH. Protein protein ini mempunyai peranan berbeda dalam proses transkripsi. Sebagai contoh, TBP mengenali TATA box, sedangkan TFIIH merupakan protein kompleks yang mengandung helikase yang membuka untai DNA dan suatu kinase yang memfosforilasi domain C-terminal dari RNA polimerase. Modifikasi ini dibutuhkan untuk melepas polimerase dari promotor untuk memulai proses transkripsi gen.



Gambar 2-32. Faktor transkripsi untuk pengikatan promotor dan inisiasi transkripsi oleh RNA polimerase II. (a) Pol II murni mempunyai kemampuan mengikat DNA namun tidak mampu mengenali sekuens promotor. (b) GTFs membantu Pol II untuk mengikat promotor secara spesifik dan menginisiasi transkripsi dari cetakan DNA *in vitro*. (c) faktor tambahan dibutuhkan untuk inisiasi transkripsi dan aktivasi *in vivo* terhadap cetakan DNA yang berada dalam nukleosom. Enhancer merupakan sisi pengikatan bagi aktivator transkripsi (Barberis *et al.*, 2003).

1. Inisiasi Transkripsi

Inisiasi dari transkripsi oleh RNA polimerase II diaktifkan oleh elemen *cis*- dan *trans*- yang saling bekerja sama. Elemen *cis*- adalah sekuens DNA yang mempengaruhi transkripsi gen yang dibagi menjadi promotor dan *enhancer*. Elemen *trans*- merupakan protein

(aktivator transkripsi) yang mengikat elemen *cis*- spesifik untuk mengaktifasi transkripsi.

Tahapan inisiasi meliputi 4 (empat) langkah, yaitu: (1) pembentukan kompleks promotor tertutup; (2) pembentukan kompleks promotor terbuka; (3) penggabungan beberapa nukleotida awal (sekitar 10 nukleotida), dan (4) perubahan konformasi RNA polimerase karena subunit σ dilepaskan dari kompleks holoenzim. Faktor subunit σ (sigma) adalah untuk mengarahkan agar RNA polimerase holoenzim hanya menempel pada promotor, tidak pada bagian yang lain. Subunit σ tersebut selanjutnya dapat digunakan lagi dalam proses inisiasi transkripsi selanjutnya. Bagian DNA yang terbuka setelah RNA polimerase menempel biasanya terjadi pada daerah sekitar -9 sampai +3 sehingga menjadi suatu struktur untai tunggal.

Bagian DNA yang berikatan dengan RNA polimerase membentuk suatu gelembung transkripsi (*transcription bubble*) sepanjang kurang lebih 17 pasangan basa. Setelah struktur promotor terbuka secara stabil, maka selanjutnya RNA polimerase melakukan proses inisiasi transkripsi dengan menggunakan urutan DNA cetakan sebagai panduannya. Dalam proses transkripsi, nukleotida RNA digabungkan sehingga membentuk transkrip RNA. Pada awalnya, basa-basa RNA yang digabungkan membentuk ikatan hidrogen dengan basa DNA cetakan, sehingga jika urutan DNA cetakan adalah ATG, maka basa RNA yang digabungkan adalah UAC.

Setelah proses inisiasi transkripsi terjadi, selanjutnya subunit σ terlepas dari enzim inti dan dapat digunakan kembali oleh enzim inti RNA polimerase yang lain. Siklus sub unit σ tersebut pertama kali diungkapkan oleh Travers dan Burgess pada tahun 1969. Mereka menunjukkan bahwa jika transkripsi berlangsung pada kekuatan ionik yang rendah, maka RNA polimerase inti tidak terlepas dari DNA cetakan pada ujung suatu gen. Hal ini menyebabkan inisiasi transkripsi berhenti. Jika ke dalam sistem tersebut dimasukkan RNA polimerase inti yang baru, maka transkripsi kemudian berjalan kembali. Keadaan ini menunjukkan bahwa RNA polimerase inti yang baru tersebut kemudian bergabung dengan subunit σ yang sebelumnya telah dilepaskan dari enzim RNA polimerase inti lainnya.

2. Proses Elongasi/Pemanjangan Transkrip

Pada bagian gelembung transkripsi, basa-basa molekul RNA membentuk hibrid dengan DNA cetakan sepanjang kurang lebih 12 nukleotida. Hibrid RNA-DNA ini bersifat sementara sebab setelah RNA polimerase berjalan, maka hibrid tersebut terlepas dan bagian

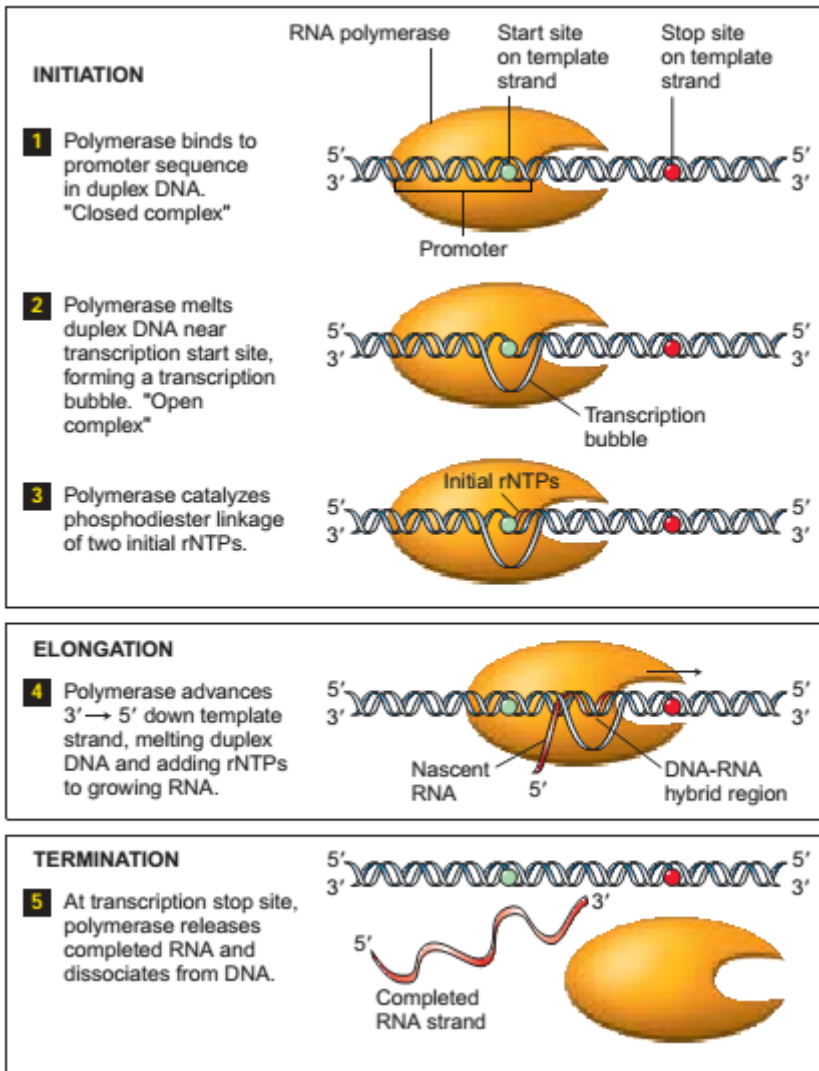
DNA tersebut akhirnya akan menutup lagi. RNA polimerase akan berjalan membaca DNA cetakan untuk melakukan proses pemanjangan (*elongation*) untai RNA. Laju pemanjangan maksimum molekul transkrip RNA berkisar antara 30-60 nukleotida per detik, laju rata-ratanya dapat lebih rendah dari nilai ini. Secara umum, suatu gen yang mengkode protein akan disalin menjadi RNA dalam waktu sekitar satu menit. Meski demikian, laju pemanjangan transkrip dapat menjadi sangat lambat (sekitar 0,1 nukleotida per detik) jika RNA polimerase melewati sisi jeda (*pause site*) yang biasanya mengandung banyak basa GC.

Dalam pemanjangan transkrip, nukleotida ditambahkan secara kovalen pada ujung 3' molekul RNA yang baru terbentuk. Nukleotida RNA yang ditambahkan bersifat komplementer dengan nukleotida pada untai DNA cetakan. Pada proses pemanjangan transkrip RNA, terjadi pembentukan ikatan fosfodiester antara nukleotida RNA yang satu dengan nukleotida berikutnya. Pembentukan ikatan fosfodiester tersebut ditentukan oleh keberadaan subunit β pada RNA polimerase.

Kompleks elongasi yang terdiri atas RNA polimerase, DNA cetakan, dan untai RNA yang sedang tumbuh (*nascent RNA*) bersifat sangat stabil. Contoh, RNA polimerase mentranskrip gen mamalia terpanjang yang mengandung 2×10^6 pasangan basa tanpa terdisosiasi dari DNA cetakan atau melepaskan *nascent RNA*. Oleh karena sintesis terjadi pada kecepatan sekitar 1000 nukleotida per menit pada suhu 37 °C, kompleks elongasi tetap intak selama lebih dari 24 jam untuk menjamin sintesis RNA kontinu. Transkripsi akan berakhir saat RNA polimerase mencapai ujung gen yang disebut terminator.

3. Terminasi Transkripsi

Selama terminasi transkripsi, tahap akhir dari RNA sintesis, sebuah molekul RNA komplit yang disebut transkrip primer dilepas dari RNA polimerase dan RNA polimerase terdisosiasi dari DNA cetakan. Terdapat sekuens spesifik pada DNA cetakan yang memberi sinyal kepada RNA polimerase untuk mengakhiri transkripsi.



Gambar 2-33. Tahapan proses transkripsi

2.6. Translasi: Sintesis Protein

Translasi adalah proses penerjemahan urutan nukleosida yang ada pada molekul mRNA menjadi rangkaian asam-asam amino yang menyusun suatu polipeptida atau protein. Perlu dipahami bahwa hanya molekul mRNA yang ditranslasi, sedangkan rRNA dan tRNA tidak ditranslasi. Molekul mRNA merupakan transkrip (salinan)

urutan DNA yang menyusun suatu gen dalam bentuk ORF (*open reading frame*, kerangka baca terbuka). Molekul rRNA adalah salah satu molekul penyusun ribosom, yaitu organel tempat berlangsungnya sintesis protein, sedangkan tRNA adalah pembawa asam-asam amino yang akan disambungkan menjadi rantai polipeptida. Translasi berlangsung di ribosom yang tersusun dari molekul rRNA dan beberapa macam protein.

Suatu ORF dicirikan oleh:

- Kodon inisiasi translasi yaitu urutan ATG pada DNA atau AUG pada mRNA
- Serangkaian urutan nukleotida yang menyusun banyak kodon
- Kodon terminasi translasi yaitu TAA (UUA pada mRNA), TAG (UAG pada mRNA), atau TGA (UGA pada mRNA)

2.6.1. Kode Genetik dan Sifatnya

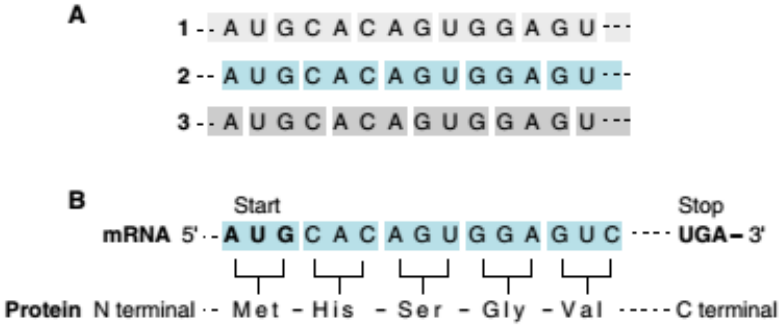
Kode genetik atau kodon adalah urutan nukleotida yang terdiri atas 3 nukleotida berurutan (seringkali disebut juga triplet kodon) yang menyandi suatu asam amino tertentu. Kode inisiasi translasi merupakan kodon untuk asam amino metionin yang mengawali struktur suatu polipeptida (protein). Dalam proses translasi, rangkaian nukleotida pada mRNA akan dibaca tiap tiga nukleotida sebagai satu kodon untuk satu asam amino dan pembacaan dimulai dari urutan kodon metionin.

Tiga dari 64 kemungkinan kodon (UGA, UAG, dan UAA) dibuktikan merupakan kodon untuk menghentikan sintesis protein dan dikenal sebagai kodon “stop” atau kodon *nonsense*. Enam puluh satu kodon sisanya menentukan asam amino. Terdapat dua asam amino yang hanya memiliki satu kodon (AUG = metionin; UGG = triptofan). Asam amino lainnya memiliki lebih dari satu kodon.

Semua organisme yang dipelajari sejauh ini menggunakan kode genetik yang sama, dengan pengecualian yang sangat jarang dijumpai. Misalnya, pada mitokondria manusia, UGA mengkode triptofan dan bukan berfungsi sebagai kodon stop, AUA mengkode metionin dan bukan isoleusin, dan CUA mengkode treonin bukan leusin. Sejauh ini hanya terdapat kurang dari 10 perkecualian mengenai kode ini.

mRNA tidak memiliki tanda baca untuk memisahkan satu kodon dengan kodon berikutnya, dan kodon tidak ada yang bertumpah tindih. Setiap nukleotida hanya dibaca sekali. Dimulai

dari kodon *start* (AUG) dekat ujung-5' mRNA, lalu kodon dibaca secara berurutan, dan berakhir di kodon stop (UGA, UAG, atau UAA) dekat ujung-3' mRNA. Kodon *start* (AUG) memulai kerangka baca, urutan di mana urutan basa pada mRNA dipilah-pilah menjadi kodon. Urutan kodon dalam mRNA menentukan urutan asam amino yang akan ditambahkan ke dalam rantai polipeptida yang sedang tumbuh. Dengan demikian, urutan kodon dalam mRNA menentukan urutan linear asam amino dalam protein.



Gambar 2-34. Kerangka baca (*reading frame*) mRNA. **A.** Untuk setiap urutan mRNA, terdapat tiga kemungkinan kerangka baca (1, 2, dan 3). **B.** Sebuah AUG dekat ujung-5' mRNA (kodon *start*) menentukan kerangka baca untuk translasi sebuah protein dari mRNA. Kodon dibaca linear, dimulai dari AUG ini.

Tabel 2-4. Kode Genetika

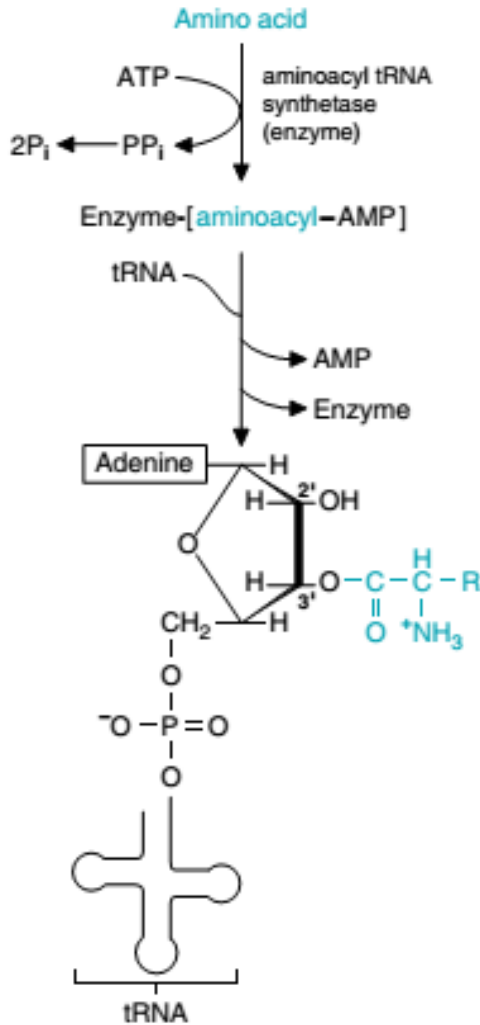
Basa Pertama	Basa Kedua				Basa Ketiga	
	Ujung-5'	U	C	A	G	Ujung-3'
U		Phe	Ser	Tyr	Cys	U
		Phe	Ser	Tyr	Cys	C
		Leu	Ser	STOP	STOP	A
		Leu	Ser	STOP	Trp	G
C		Leu	Pro	His	Arg	U
		Leu	Pro	His	Arg	C
		Leu	Pro	Gln	Arg	A
		Leu	Pro	Gln	Arg	G
A		Ile	Thr	Asn	Ser	U
		Ile	Thr	Asn	Ser	C
		Ile	Thr	Lys	Arg	A
		Met	Thr	Lys	Arg	G
G		Val	Ala	Asp	Gly	U
		Val	Ala	Asp	Gly	C
		Val	Ala	Glu	Gly	A
		Val	Ala	Glu	Gly	G

2.6.2. Pembentukan Aminoasil-tRNA

Sebuah tRNA yang mengandung asam amino yang terikat secara kovalen ke ujung-3'nya disebut aminoasil-tRNA. Aminoasil-tRNA diberi nama untuk asam amino dan tRNA yang membawa asam amino (misal, alanil-tRNA^{Ala}). tRNA tertentu mengenali hanya kodon start AUG yang mengawali sintesis protein dan bukan kodon AUG lain yang menentukan insersi metionin ke dalam rantai polipeptida. Inisiator metionil-tRNA^{Met} ini diberi tanda di bawah garis (*subscript*) "i": metionil-tRNA_i^{Met}.

Asam amino melekat pada tRNA mereka oleh enzim yang sangat spesifik yang dikenal sebagai aminoasil-tRNA sintetase. Terdapat dua puluh sintetase yang berlainan, satu sintetase untuk masing-masing asam amino. Setiap sintetase mengenali asam amino tertentu dan semua tRNA yang mengikat asam amino tersebut. Reaksi yang dikatalisis oleh aminoasil-tRNA sintetase berlangsung dalam dua langkah. Pada langkah pertama, asam amino diaktifkan dengan cara bereaksi dengan ATP membentuk kompleks enzim/aminoasil-AMP dan pirofosfat. Pirofosfat diuraikan oleh pirofosfatase sehingga reaksi menjadi lebih cepat karena salah satu produk dikeluarkan. Pada langkah kedua, asam amino yang telah

diaktifkan dipindahkan ke gugus 2'-hidroksil atau 3'-hidroksil urutan CCA di ujung-3' tRNA dan AMP dibebaskan.



Gambar 2-35. Pembentukan aminoasil-tRNA. Pertama, asam amino diaktifkan melalui reaksi dengan ATP. Asam amino kemudian ditransfer dari aminoasil-AMP ke tRNA.

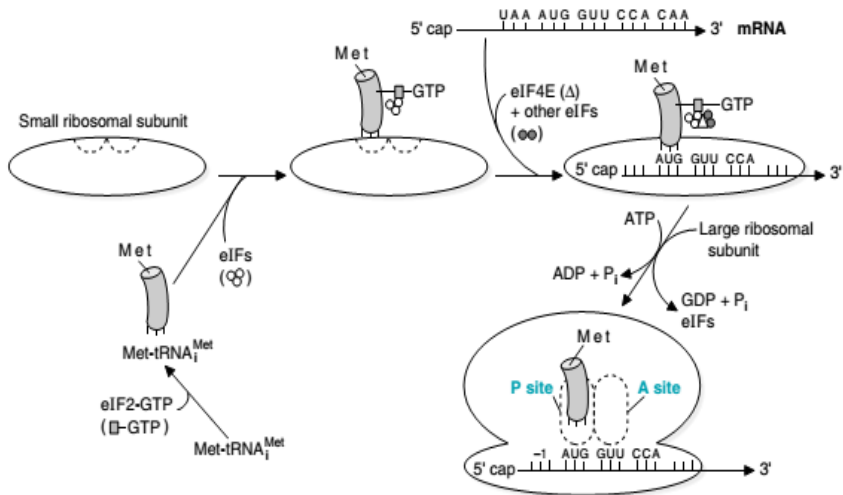
Sebuah tRNA yang membawa asam amino dikatakan “bermuatan”. Energi dalam ikatan aminoasil-tRNA kemudian digunakan dalam pembentukan ikatan peptida selama proses sintesis protein.

2.6.3. Proses Translasi Protein

Translasi suatu protein terdiri dari tiga langkah: inisiasi, perpanjangan, dan penghentian. Translasi berawal dengan pembentukan kompleks inisiasi. Kemudian, terjadi sintesis polipeptida melalui serangkaian langkah pemanjangan yang diulang-ulang sewaktu masing-masing asam amino ditambahkan ke rantai polipeptida yang tumbuh. Terjadi penghentian sintesis di tempat dimana mRNA mengandung kodon stop dalam kerangka dan rantai polipeptida yang telah lengkap tersebut dilepaskan.

1. Inisiasi translasi

Inisiasi translasi terjadi dari pembentukan kompleks yang terdiri dari metionil-tRNA_i^{Met}, mRNA, dan sebuah ribosom. metionil-tRNA_i^{Met} (juga dikenal sebagai Met-tRNA_i^{Met}) mula-mula membentuk kompleks dengan suatu faktor inisiasi {faktor inisiasi eukariotik 2 (eIF2)} dan GTP. Kompleks ini kemudian mengikat subunit ribosom kecil (40S). *Cap* pada ujung-5' mRNA mengikat faktor inisiasi (eIF4E) yang dikenal sebagai *cap binding protein* (CBP). Kemudian beberapa eIF ikut bergabung, dan mRNA berikatan dengan kompleks 40S-Met-tRNA_i^{Met}. Dalam suatu reaksi yang memerlukan hidrolisis ATP, subunit ribosom kemudian melakukan *scan* terhadap mRNA sampai kodon AUG pertama ditemukan. eIF lain terikat, GTP mengalami hidrolisis, dan faktor inisiasi dibebaskan, dan subunit ribosom besar (60S) terikat. Ribosom sekarang menjadi lengkap. Ribosom ini mengandung satu subunit kecil dan satu subunit besar. Terdapat dua tempat pengikatan untuk tRNA, yang dikenal sebagai tempat P (peptidil) dan A (aminoasil) pada ribosom. Selama inisiasi, Met-tRNA_i^{Met} berikatan dengan tempat P.



Gambar 2-36. Inisiasi sintesis protein. P *site* = tempat peptidil pada ribosom; A *site* = tempat aminoasil pada ribosom.

2. Perpanjangan rantai polipeptida (elongasi)

Setelah kompleks inisiasi terbentuk, terjadi penambahan masing-masing asam amino ke rantai polipeptida yang terdiri dari pengikatan aminoasil-tRNA ke tempat A pada ribosom, pembentukan ikatan peptida, dan translokasi peptidil-tRNA ke tempat P. peptidil-tRNA mengandung rantai polipeptida yang sedang tumbuh.

a. Pengikatan aminoasil-tRNA ke tempat A

Apabila Met- tRNA_i (atau peptidil-tRNA) berikatan dengan tempat P, kodon mRNA di tempat A menentukan aminoasil-tRNA mana yang akan berikatan di tempat itu. Suatu aminoasil-tRNA akan terikat apabila antikodonna bersifat antiparalel dan komplementer dengan kodon mRNA. Sebelum terikat ke mRNA, aminoasil-tRNA mula-mula berikatan dengan GTP dan suatu faktor pemanjangan EF1 α . Sewaktu aminoasil-tRNA berikatan dengan tempat A, GTP mengalami hidrolisis, membentuk GDP.

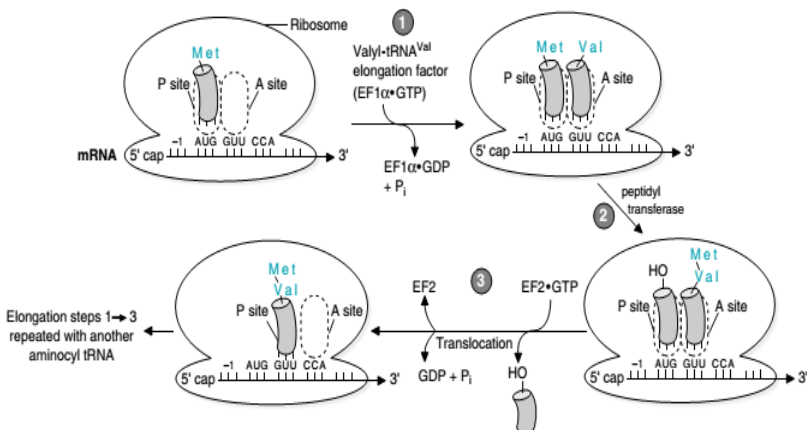
Kompleks GDP dan faktor pemanjangan (EF1 α) kemudian berikatan dengan faktor lain (EF1 $\beta\gamma$ pada eukariot dan EF-Ts pada prokariot), sehingga GDP dapat dibebaskan. Kompleks kemudian mengikat GTP, dan $\beta\gamma$ eukariot atau Ts prokariot terlepas, meninggalkan faktor pemanjangan terikat pada GTP, siap untuk daur pemanjangan berikutnya.

b. Pembentukan ikatan peptida

Pada putaran pertama pemanjangan, amino-asil tRNA di tempat A sekarang membentuk ikatan peptida dengan metionil-tRNA di tempat P. peptidiltransferase, yang bukan merupakan protein tapi rRNA subunit ribosom besar, mengkatalisis pembentukan ikatan peptida. tRNA di tempat A sekarang mengandung rantai polipeptida yang sedang tumbuh dan tRNA di tempat P tidak bermuatan (tidak lagi mengandung asam amino).

c. Translokasi peptidil-tRNA ke tempat P

Translokasi melibatkan faktor pemanjangan yang membentuk kompleks dengan GTP dan berikatan dengan ribosom menyebabkan perubahan konformasi yang menggerakkan mRNA dan tRNA (yang membentuk pasangan basa dengannya) yang berkenaan dengan ribosom. tRNA yang tidak bermuatan bergerak dari tempat P ke suatu tempat yang dikenal sebagai tempat E (*exit*, jalan keluar). Dari tempat ini tRNA tersebut dilepaskan. Peptidil-tRNA bergerak dari tempat P dan tempat A ditempati oleh kodon berikutnya pada mRNA. Selama translokasi, GTP mengalami hidrolisis menjadi GDP, yang dilepaskan dari ribosom bersama faktor pemanjangan.



Gambar 2-37. Pemanjangan rantai peptida. 1. Pengikatan aminoasil-tRNA (valyl-tRNA^{val} ke tempat A. 2. Pembentukan ikatan peptida. 3. Translokasi. Dua langkah yang diperlihatkan dalam 3 berlangsung secara bersamaan.

3. Penghentian translasi

Tiga langkah pemanjangan diulang sampai kodon terminal (stop) bergerak ke tempat A pada ribosom. Karena di dalam sel secara normal tidak ada tRNA dengan antikodon yang dapat membentuk pasangan basa dengan kodon stop, yang berikatan dengan ribosom adalah faktor pelepasan (*release factor*), menyebabkan peptidiltransferase melakukan hidrolisis terhadap ikatan antara rantai peptida dan tRNA. Polipeptida yang baru disintesis dilepaskan dari ribosom, yang terurai menjadi subunitnya masing-masing, membebaskan mRNA.

2.6.4. Modifikasi Rantai Polipeptida Pascatranslasi

Banyak rantai polipeptida yang dimodifikasi secara kovalen, baik ketika rantai masih melekat pada ribosom atau setelah sintesisnya selesai. Setelah translasi, sebuah protein dimodifikasi dengan berbagai cara. Protein secara selektif dipotong pada titik spesifik untuk membuat rantai protein yang lebih kecil dengan fungsi berbeda. Grup fosfat, lipid, karbohidrat atau gugus kimia lain secara enzimatik ditambahkan ke asam amino spesifik untuk menghasilkan protein modifikasi yang bisa bekerja untuk aktivitas seluler.

Karena modifikasi terjadi setelah translasi, maka dinamakan modifikasi pascatranslasi. Beberapa jenis modifikasi diuraikan berikut ini:

a. Pemotongan (*Trimming*)

Beberapa protein yang diperuntukkan untuk sekresi dari sel, pada awalnya dibuat dalam bentuk molekul prekursor besar yang secara fungsional tidak aktif. Bagian rantai protein harus dibuang oleh endonuklease khusus, yang menyebabkan pelepasan suatu molekul aktif. Tempat reaksi pembelahan di dalam sel bergantung pada protein yang akan dimodifikasi. Contohnya, beberapa prekursor protein dibelah di RE atau Badan Golgi, sedangkan prekursor lainnya di dalam vesikel sekretorik yang sedang berkembang (contoh insulin), dibelah setelah disekresi. Zimogen adalah prekursor inaktif enzim yang disekresi (termasuk protease yang dibutuhkan untuk pencernaan). Enzim ini menjadi aktif dengan pembelahan ketika mencapai tempat kerja yang sesuai. Contohnya, tripsinogen, suatu zimogen pankreas, menjadi aktif dalam bentuk tripsin di usus halus.

b. Perubahan *Kovalen*

Protein enzimatis dan struktural dapat diaktivasi atau dinaktifkan melalui perlekatan kovalen berbagai gugus kimia. Contoh modifikasi ini meliputi:

- 1) Fosforilasi: terjadi pada gugus hidroksil serin, treonin atau yang lebih jarang, residu tirosin di dalam protein. Fosforilasi ini dikatalisis oleh salah satu famili protein kinase dan reaksinya dapat dibalikkan oleh kerja fosfatase yang terdapat di dalam sel. Fosforilasi dapat meningkatkan atau menurunkan aktivitas fungsional protein.
- 2) Glikosilasi: banyak protein yang diperuntukkan untuk menjadi bagian dari membran plasma atau lisozim atau yang akan disekresikan dari sel, mempunyai rantai karbohidrat yang melekat pada gugus hidroksil serin atau treonin (terkait-O) atau amida nitrogen asparagin (terkait-N). Langkah penambahan gula terjadi di retikulum endoplasma dan badan golgi.
- 3) Hidroksilasi: residu prolin dan lisin pada rantai- α kolagen dihidroksilasi secara luas di dalam retikulum endoplasma.
- 4) Modifikasi kovalen lainnya: modifikasi ini mungkin diperlukan untuk aktivitas fungsional suatu protein. Contohnya, gugus karboksil tambahan dapat ditambahkan ke residu glutamat melalui proses karboksilasi yang tergantung vitamin K. Residu γ -karboksi glutamat yang dihasilkan, penting untuk aktivitas beberapa protein pembekuan darah. Perlekatan lipid seperti gugus farnesil, dapat membantu menambatkan protein di membran. Selain itu, banyak protein yang mengalami asetilasi pascatranslasi.

c. Degradasi *protein*

Protein yang cacat atau diperuntukkan untuk pergantian yang cepat (*rapid turnover*) sering ditandai untuk dihancurkan melalui proses ubiquitinasi yaitu perlekatan suatu protein kecil yang sangat terkonversi yang disebut ubiquitin. Protein yang ditandai dengan cara ini didegradasi dengan cepat oleh komponen sel yang disebut "proteasom", yang merupakan suatu sistem proteolitik yang kompleks, bergantung ATP dan terletak di dalam sitosol.

Rangkuman

Unit monomerik asam nukleat adalah nukleotida dan setiap nukleotida mengandung nitrogen heterosiklik, sebuah gula dan sebuah fosfat. DNA mengandung basa purin Adenin (A) dan guanin (G) serta basa pirimidin sitosin (C) dan timin (T). RNA mengandung urasil (U) menggantikan timin (T). pada DNA, gula adalah deoksiribosa, sedangkan pada RNA, gula adalah ribosa.

DNA terdiri dari dua untai polinukleotida antiparalel yang disatukan oleh pembentukan pasangan di antara basa DNA, sedangkan RNA beruntai-tunggal. Tiga jenis RNA, yaitu: (1) mRNA (*messenger RNA*); (2) tRNA (*transfer RNA*); dan (3) rRNA (*ribosomal RNA*).

Sintesis DNA berlangsung melalui proses replikasi. Selama replikasi, masing-masing untai DNA induk berfungsi sebagai cetakan untuk sintesis sebuah untai yang bersifat komplementer. Replikasi DNA berlangsung dalam beberapa tahap yaitu: (1) denaturasi (pemisahan) untai DNA induk; (2) peng-“awal”-an (inisiasi) sintesis DNA; (3) pemanjangan untai DNA; (4) ligasi fragmen-fragmen DNA; dan (5) peng-“akhir”-an (terminasi) sintesis DNA.

Transkripsi adalah proses penyalinan kode-kode genetik yang ada pada urutan DNA menjadi molekul RNA. Transkripsi adalah proses yang mengawali sifat-sifat genetik yang nantinya akan muncul sebagai fenotip. Urutan nukleotida pada salah satu untai DNA digunakan sebagai cetakan (*template*) untuk sintesis molekul RNA yang komplementer.

Translasi adalah proses penerjemahan urutan nukleosida yang ada pada molekul mRNA menjadi rangkaian asam-asam amino yang menyusun suatu polipeptida atau protein. Perlu dipahami bahwa hanya molekul mRNA yang ditranslasi, sedangkan rRNA dan tRNA tidak ditranslasi. Translasi suatu protein terdiri dari tiga langkah: inisiasi, perpanjangan, dan penghentian. Translasi berawal dengan pembentukan kompleks inisiasi. Kemudian, terjadi sintesis polipeptida melalui serangkaian langkah pemanjangan yang diulang-ulang sewaktu masing-masing asam amino ditambahkan ke rantai polipeptida yang tumbuh. Terjadi penghentian sintesis di tempat dimana mRNA mengandung kodon stop dalam kerangka dan rantai polipeptida yang telah lengkap tersebut dilepaskan.

Soal-soal Latihan

1. Ukuran rata-rata dari gen manusia adalah:
 - A. 1000 bp
 - B. 40.000 bp
 - C. 2×10^6 bp
 - D. $1,5 \times 10^8$ bp
 - E. 3×10^9 bp
2. DNA polimerase mensintesis DNA hanya dari arah 5' ke 3' dan pada garpu replikasi, kedua untai dari DNA induk direplikasi dengan sintesis DNA baru. Sementara itu, ada untai DNA yang juga disintesis dari arah 3' ke 5' juga. Kejadian paradoks ini dapat dijelaskan oleh karena adanya hal berikut, yaitu:
 - A. Adanya enzim DNA *repair* dari arah 3'-5'
 - B. DNA polimerase arah 3'-5'
 - C. Fragmen Okazaki
 - D. Replikasi dan *crossover* segera dari *leading strand*
 - E. Tidak adanya RNA primer pada salah satu untai DNA
3. Seorang anak menderita gagal tumbuh dan penuaan dini yang mengakibatkan komplikasi pada dewasa berupa diabetes melitus dan penyakit arteri koroner serta mikrosefali (ukuran kepala lebih kecil dari normal) karena peningkatan kematian sel saraf. Pemeriksaan *in vitro* dari penambahan timin yang ditandai menunjukkan penurunan tingkat sintesis DNA dibandingkan dengan kontrol, namun ukuran fragmen DNA normal. Penambahan ekstrak protein dari sel normal, dan dipanaskan untuk menginaktivasi DNA polimerase menormalkan sintesis DNA pada ekstrak sel anak tersebut. Manakah enzim dari replikasi DNA yang kemungkinan defek pada anak tersebut?
 - A. *DNA-directed DNA polimerase*
 - B. *Unwinding proteins*
 - C. *DNA polimerase I*
 - D. *DNA-directed RNA polimerase*
 - E. *DNA ligase*
4. Enzim yang dapat melakukan polimerasi deoksiribonukleotida menjadi DNA adalah:
 - A. Primase
 - B. DNA ligase
 - C. DNA *gyrase*
 - D. RNA polimerases III
 - E. *Reverse transcriptase*

5. Enzim yang bersifat DNA-*dependent* RNA polimerase adalah:
 - A. DNA ligase
 - B. Primase
 - C. DNA polimerase III
 - D. DNA polimerase I
 - E. *Reverse transcriptase*

6. Manakah pernyataan dari pernyataan di bawah ini **tidak tepat** mengenai sintesis *leading* dan *lagging* strands pada replikasi DNA?
 - A. Sintesis RNA primer
 - B. DNA polimerase III mensintesis DNA
 - C. Helikase secara kontinu menguraikan DNA dupleks pada garpu replikasi selama sintesis
 - D. Nukleosida monofosfat ditambahkan dengan arah 5' - 3' sepanjang untai DNA yang baru
 - E. DNA ligase secara berulang menggabungkan ujung DNA sepanjang untai baru

7. Perbedaan spesifik dari molekul RNA dan DNA adalah sebagai berikut:
 - A. Basa purin dan pirimidin dihubungkan ke gula pentosa
 - B. Grup 3'-fosfat dihubungkan ke gula pentosa
 - C. Grup 5'-fosfat dihubungkan ke gula pentosa
 - D. Rentan hidrolisis oleh alkali
 - E. DNA untai tunggal

8. Ujung kromosom mamalia memiliki struktur khusus dengan urutan DNA repetitif yang disebut telomer. Manakah dari pernyataan berikut ini yang membedakan replikasi DNA telomer dibandingkan bagian kromosom lain?
 - A. DNA polimerase khusus disebut telomerase mengandung cetakan RNA primer
 - B. DNA polimerase mengandung oligonukleotida telomerik khusus digunakan pada ujung kromosom
 - C. DNA polimerase memiliki subunit yang membantu pengikatan DNA *repetitive*
 - D. DNA polimerase khusus (telomerase) dapat mensintesis DNA dengan arah berbeda di ujung kromosom
 - E. DNA polimerase punya aktivitas khusus yang *cross-links* dengan ujung DNA

9. Komponen berikut apabila **tidak dimiliki** oleh kromosom, maka sel tidak mampu mencapai metaphase adalah:
 - A. Sentromer

- B. Kromonemata
 - C. Matriks
 - D. Telomere
 - E. Satelit
10. Berikut ini sub unit gen yang mampu untuk *crossing over* dan rekombinasi adalah:
- A. Cistron
 - B. Muton
 - C. Recon
 - D. Ekson
 - E. Intron
11. Berikut sifat gen manusia yang telah ditemukan dari beberapa penelitian adalah:
- A. Setiap gen tidak bisa bermutasi
 - B. Gen disusun dalam bentuk sirkuler
 - C. Pada pembelahan sel, replikasi gen hanya satu kali
 - D. Gen tidak bisa direkombinasi
 - E. Sifat fisik gen berbeda dengan virus
12. Klasifikasi gen yang mampu mengekspresikan lebih dari 1 karakter pada satu waktu adalah:
- A. *Pleiotropic gene*
 - B. *Modifying gene*
 - C. *Multiple genes*
 - D. *Cumulative gene*
 - E. *Lethal gene*
13. Protein/enzim replikasi DNA yang berfungsi untuk memulai sintesis primer RNA adalah:
- A. DNA polimerase
 - B. Topoisomerase
 - C. DNA ligase
 - D. Helicase
 - E. DNA primase

14. Perhatikan tabel berikut ini:

Molekul asam nukleat	%A	%T	%G	%C	%U
A	28	28	22	22	0
B	31	0	31	17	21
C	15	15	35	35	0

- a) Manakah dari molekul asam nukleat yang merupakan DNA?
- b) Manakah dari molekul asam nukleat yang merupakan RNA?

Daftar Pustaka

- Marks, D.B., Marks, A.D., Smith, C.M., 2013. Biokimia Kedokteran Dasar: Sebuah pendekatan klinis. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Champe, P.C., Harvey, R.A., Ferrier., 2010. D.R. Biokimia Ulasan Bergambar. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Thamarin, R. Principles of Genetics. 2001. Seventh ed. The McGraw-Hill Company, United States.
- Lewis. 2003. Human Genetics: Concept And Application. Fifth ed. The McGraw-Hill Company, United States.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter P., 2008. Molecular biology of the cell. Fifth Ed. Garland Science, New York.
- Hansen, B *et al.*, 2002. UMSLE Step 1 Biochemistry Notes. Kaplan Medical, Chicago.
- Lewis. 2003. Human Genetics Concepts and Application. Fifth Ed. The McGraw-Hill Companies, United States.
- Passarge, E. 2007. Color Atlas of Genetics. Third Ed. Revised and updated. Thieme Stuttgart, New York.
- Pasternak, J.J., 2005. An introduction to human molecular genetics: Mechanisms of inherited diseases. Second Ed. Wiley-Liss, Inc. Canada.
- Rogers, K. 2011. New thinking about genetics. Britannica Educational Publishing, New York.
- Stryer, L. 2000. Biokimia. Fourth ed. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Yuwono, T. 2005. Biologi Molekular. Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Srivastava, H.C., Barh, D. 2008. Genetics Fundamentals and Applications. International Book Distributing Co. India.
- Shahib, N.M. 2012. Biologi Molekular Medik. P.T. Alumni, Bandung.

Kunci Jawaban

- | | | | |
|------|------|-------|------------------------|
| 1. B | 5. B | 9. A | 13. E |
| 2. C | 6. E | 10. A | 14. (a) A dan C; (b) B |
| 3. B | 7. D | 11. C | |
| 4. E | 8. A | 12. A | |



BAB III

Mutagen dan DNA Mutasi

Tujuan Instruksional Umum:

Pada akhir pembelajaran, mahasiswa mampu menjelaskan tentang proses mutasi gen secara umum pada manusia

Tujuan Instruksional Khusus:

Pada akhir pembelajaran mahasiswa mampu:

1. Menjelaskan jenis mutagen
2. Menjelaskan DNA mutasi dan tipe mutasi
3. Menjelaskan mekanisme DNA *repair*

1.1. Mutagen

Suatu senyawa yang menginduksi mutasi dinamakan mutagen. Mutagen dapat dibagi menjadi:

1. Basa analog. Senyawa ini dapat bergabung ke dalam DNA.
 - a. 5-bromourasil adalah analog timin
 - b. 2-aminopurin adalah analog adenin
2. Mutagen kimia
 - a. Agen nonalkilating
 - 1) Formaldehid bereaksi dengan grup amin
 - 2) Hidroksilamin menyebabkan transversi
 - 3) Asam nitrat menginduksi transisi
 - b. Agen alkilating
 - 1) *Ethylmethane sulfonat* (EMS) menambahkan grup alkil pada nitrogen posisi ke tujuh pada cincin purin
 - 2) N-Methyl-N'-nitrosoguanidin (NNG) menyebabkan transisi dan transversi
 - c. Agen *interchelating*. Agen ini dapat mengganggu replikasi (akridin)
3. Irradiasi
 - a. Sinar UV → dimerisasi T → mempengaruhi struktur DNA → mencegah transkripsi dan mengganggu replikasi
 - b. Radiasi pengion (sinar X, sinar γ) → membuka cincin purin dan merusak fosfodiester

1.2. DNA Mutasi

Mutasi adalah perubahan permanen pada urutan nukleotida DNA. Pada manusia kecepatan mutasi sulit diperkirakan karena lamanya waktu generasi manusia dan sedikitnya sulit diperkirakan dengan bakteri. Mutasi pada DNA dapat pula tidak berpengaruh pada ekspresi gen, artinya perubahan basa tidak mengubah fenotip atau tanpa mempengaruhi asam amino. Mutasi dapat diinduksi oleh berbagai mekanisme berbeda, yang kemudian menghasilkan protein yang berbeda dari aslinya. Mutasi pada promotor dan *enhancer* dapat menghasilkan rangkaian DNA yang tidak dapat ditranskripsi.

1.3. Tipe Mutasi DNA

Mutasi dapat dibagi menjadi beberapa tipe, yaitu:

1. Mutasi titik

Mutasi titik (*point mutation*) terjadi apabila hanya satu basa DNA yang mengalami perubahan, menghasilkan perubahan satu basa pada kodon mRNA.

a. *Mutasi silent (samar)*

Mutasi titik dikatakan *silent* (samar) apabila tidak mempengaruhi urutan asam amino protein. Misalnya perubahan kodon dari **CGA** menjadi **CGG** tidak mempengaruhi protein karena kedua kodon ini menentukan arginin.

b. *Mutasi missense*

Apabila mutasi menyebabkan satu asam amino dalam protein dapat digantikan oleh asam amino lain. Misalnya perubahan dari **CGA** menjadi **CCA** menyebabkan arginin diganti oleh prolin.

c. *Mutasi nonsense*

Mutasi menyebabkan penghentian prematur suatu rantai polipeptida. Misalnya, perubahan kodon dari **CGA** menjadi **UGA** menyebabkan kodon untuk arginin diganti oleh kodon stop dan sintesis protein mutan terhenti di titik ini.

d. Substitusi basa

Diklasifikasikan menjadi 2 tipe:

- Transisi: bila salah satu basa purin diganti oleh basa purin lain atau salah satu basa pirimidin diganti oleh pirimidin lain
- Transversi: bila salah satu purin diganti oleh pirimidin atau sebuah pirimidin diganti oleh purin

2. Insersi (sisipan)

Apabila satu atau lebih nukleotida ditambahkan ke DNA. Apabila insersi tidak menimbulkan kodon stop, dapat dihasilkan protein dengan jumlah asam amino lebih banyak dari normal.

3. Delesi (penghilangan)

Apabila satu atau lebih nukleotida dikeluarkan dari DNA. Apabila delesi tidak mempengaruhi kodon stop atau kodon stop yang normal, dapat dihasilkan protein dengan jumlah asam amino lebih sedikit dari normal.

4. Mutasi *frameshift*

Mutasi terjadi apabila jumlah nukleotida yang diinsersikan atau didelesi bukan kelipatan tiga. Setelah insersi atau delesi, kerangka baca bergeser sehingga titik tersebut basa dibaca dalam kodon yang tidak tepat.

1.4. Mekanisme DNA Repair

Pemeliharaan integritas informasi di dalam molekul DNA sangat penting bagi kelangsungan hidup organisme serta kelangsungan hidup spesies. Jadi, dapat disimpulkan bahwa spesies yang bertahan hidup berhasil mengembangkan mekanisme untuk memperbaiki kerusakan DNA-nya yang terjadi akibat kesalahan replikasi atau gangguan dari lingkungan.

Kesalahan replikasi, bahkan dengan sistem perbaikan yang sangat efisien menyebabkan akumulasi mutasi. Seorang manusia memiliki 10¹⁴ sel berinti yang masing-masing mengandung 3 x 10⁹ pasangan basa DNA. Jika seumur hidup terjadi sekitar 10¹⁶ pembelahan sel dan 10-19 mutasi per pasangan basa per generasi sel tidak menyadari perbaikan, akhirnya akan terdapat satu mutasi per 10⁶ bp dalam genom. Untungnya, sebagian besar mutasi ini terjadi di DNA yang tidak menyandi protein atau tidak akan memengaruhi

fungsi protein yang disandi. Selain itu, kerusakan DNA yang terjadi spontan atau karena bahan kimia juga harus diperbaiki.

Kerusakan DNA akibat bahan kimia, fisik, dan lingkungan diklasifikasikan sebagai berikut:

- 1) Perubahan satu basa
- 2) Depurinasi
- 3) Deaminasi sitosin menjadi urasil
- 4) Deaminasi adenine menjadi hipoxantin
- 5) Alkilasi basa
- 6) Insersi atau delesi nukleotida
- 7) Penyertaan analog basa
- 8) Perubahan dua basa
- 9) Dimer antartimin (pirimidin) yang diinduksi oleh sinar UV
- 10) Ikatan silang agen pengalkil bifungsional
- 11) Pemutusan rantai
- 12) Radiasi pengion
- 13) Disintegrasi elemen rangka oleh radioaktivitas
- 14) Pembentukan radikal bebas oksidatif
- 15) Ikatan silang
- 16) Antara basa di untai yang sama atau berlawanan
- 17) Antara DNA dan molekul protein (misal histon)

Regio abnormal DNA baik karena kesalahan penyalinan atau kerusakan DNA, diganti melalui 4 mekanisme, yaitu: (1) *mismatch repair* (perbaikan ketidak-cocokan); (2) *base excision repair* (perbaikan dengan memotong basa); (3) *nucleotide-excision repair* (perbaikan dengan memotong nukleotida, dan (4) *double-strand break repair* (perbaikan kerusakan untai ganda). Semuanya terangkum pada Tabel 2-5.

Tabel 2-5. Mekanisme perbaikan DNA

Mekanisme	Masalah	Solusi
<i>Mismatch repair</i>	Kesalahan penyalinan	pemotongan untai yang diarahkan oleh metil, pencernaan oleh endonuclease dan penggantian
<i>Base excision repair</i>	Kerusakan satu basa yang timbul spontan akibat bahan kimiawi atau radiasi	Pengeluaran basa oleh N-glikosilase, pengeluaran gula tanpa basa, penggantian
<i>Nucleotide-excision repair</i>	Kerusakan satu segmen DNA secara spontan akibat bahan kimia dan radiasi	Pengeluaran oligomer sekitar 30 nukleotida dan penggantian
<i>Double-strand break repair</i>	Radiasi pengion, kemoterapi, radikal bebas oksidatif	Sinapsis, penguraian, penyusunan dan ligasi

Rangkuman

Mutasi adalah perubahan permanen pada urutan nukleotida DNA. Pada manusia kecepatan mutasi sulit diperkirakan karena lamanya waktu generasi manusia dan sedikitnya sulit diperkirakan dengan bakteri. Mutasi pada DNA dapat pula tidak berpengaruh pada ekspresi gen, artinya perubahan basa tidak mengubah fenotip atau tanpa mempengaruhi asam amino. Mutasi dapat diinduksi oleh berbagai mekanisme berbeda, yang kemudian menghasilkan protein yang berbeda dari aslinya.

Pemeliharaan integritas informasi di dalam molekul DNA sangat penting bagi kelangsungan hidup organisme serta kelangsungan hidup spesies. Jadi, dapat disimpulkan bahwa spesies yang bertahan hidup berhasil mengembangkan mekanisme untuk memperbaiki kerusakan DNA-nya yang terjadi akibat kesalahan replikasi atau gangguan dari lingkungan.

Soal-soal Latihan

- Anemia sel sabit disebabkan oleh mutasi spesifik pada gen β -globin. Mutasi anemia sel sabit menyebabkan perubahan asam amino yaitu asam glutamat menjadi valin pada posisi 6 dari rantai peptida β -globin. Manakah kemungkinan mekanisme dari mutasi tersebut?
 - Crossing over*
 - Two-base insertion*
 - Three-base deletion*
 - Single-base insertion*
 - Single-base substitution (point mutation)*
- Suatu sekuens DNA dari gen M di bawah ini merupakan *sense strand* dari *coding region* dan diketahui merupakan tempat terjadinya mutasi dari gen tersebut. Gen ini mengkode asam amino 21 sampai 25. Apabila kode genetik dan asam amino CCC = prolin, GCC = alanin, TTC = fenilalanin dan TAG = stop kodon, maka manakah dari sekuens yang merupakan suatu *frame-shift mutation* yang menyebabkan terminasi dari protein yang dikodekan?
 - CCA-CCT-AGG-TTC-AGG-
 - GCC-CCT-AGG-TTC-AGG-
 - CCA-CCC-TAG-GTT-CAG-
 - CCC-CTA-GGT-TCA-GG---
 - CCC-CCT-AGG-AGG-----
- Mutasi yang bersifat letal adalah sebagai berikut:
 - Substitusi adenin terhadap sitosin
 - Substitusi sitosin terhadap guanin
 - Substitusi metilsitosin terhadap sitosin
 - Delesi dari 3 nukleotida
 - Insersi dari 1 nukleotida
- Perhatikan urutan basa berikut ini:

88	89	90	91	92	93	94
GUC	GAC	CAG	UAG	GGC	UAA	CCG

Sekuens parsial dari mRNA suatu gen di atas, suatu mutasi dari cetakan DNA menyebabkan perubahan di kodon 91 menjadi UAA. Tipe mutasi yang terjadi adalah:

- Missense*

- B. *Silent*
 - C. *Nonsense*
 - D. *Supressor*
 - E. *Frame shift*
5. Manakah dari hal berikut penyebab dari *Frame shift mutation*?
- A. Transisi
 - B. Transversi
 - C. Delesi
 - D. Substitusi purin terhadap pirimidin
 - E. Substitusi pirimidin terhadap purin
6. Talasemia disebabkan oleh mutasi yang mengakibatkan hal sebagai berikut:
- A. Peningkatan sintesis rantai alfa
 - B. "sticky" hemoglobin
 - C. RNA *processing* atau defek produksi
 - D. *Protein folding problems*
 - E. Ketiadaan hemoglobin A dan B

Daftar Pustaka

- Marks, D.B., Marks, A.D., Smith, C.M., 2013. Biokimia Kedokteran Dasar: Sebuah pendekatan klinis. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Champe, P.C., Harvey, R.A., Ferrier, D.R. Biokimia Ulasan Bergambar. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Lewis. 2003. Human Genetics: Concept And Application. Fifth ed. The McGraw-Hill Company, United States.
- Hansen, B *et al.*, 2002. UMSLE Step 1 Biochemistry Notes. Kaplan Medical, Chicago.
- Lewis. 2003. Human Genetics Concepts and Application. Fifth Ed. The McGraw-Hill Companies, United States.
- Rogers, K. 2011. New thingking about genetics. Britannica Educational Publishing, New York.
- Stryer, L. 2000. Biokimia. Fourth ed. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Barberis, A., Petrascheck, M. 2003. Transcription activation in eukaryotic cells. *Encyclopedia of life sciences*. Nature Publishing Group: 1-7.

Kunci Jawaban

1. E
2. C
3. E
4. B
5. C
6. C

BAB IV

BIOTEKNOLOGI MOLEKULER DALAM KEDOKTERAN

Tujuan Instruksional Umum:

Pada akhir pembelajaran, mahasiswa mampu memahami tentang bioteknologi molekuler dalam bidang kedokteran

Tujuan Instruksional Khusus:

Pada akhir pembelajaran mahasiswa mampu:

1. Menjelaskan dasar bioteknologi kedokteran
2. Menjustifikasi dasar rekayasa genetika
3. Menjelaskan konsep analisis DNA
4. Menjelaskan konsep PCR
5. Menjelaskan pemanfaatan bioteknologi kedokteran dalam pencegahan diagnosis dan terapi

4.1. Teknologi Rekombinan DNA

Rekombinan DNA atau teknologi *genetic engineering* adalah suatu teknik menyusun kombinasi baru materi genetik di luar sel dan menghasilkan kombinasi tersebut ke dalam suatu vektor, kemudian mengantarkan molekul vektor tersebut diperbanyak di dalam organisme baru.

Untuk memahami mengapa gen dari satu individu berbeda dari individu lain dan bagaimana memanfaatkan perbedaan ini untuk mendiagnosis penyakit, paling sedikit diperlukan pemahaman dasar mengenai teknik DNA rekombinan.

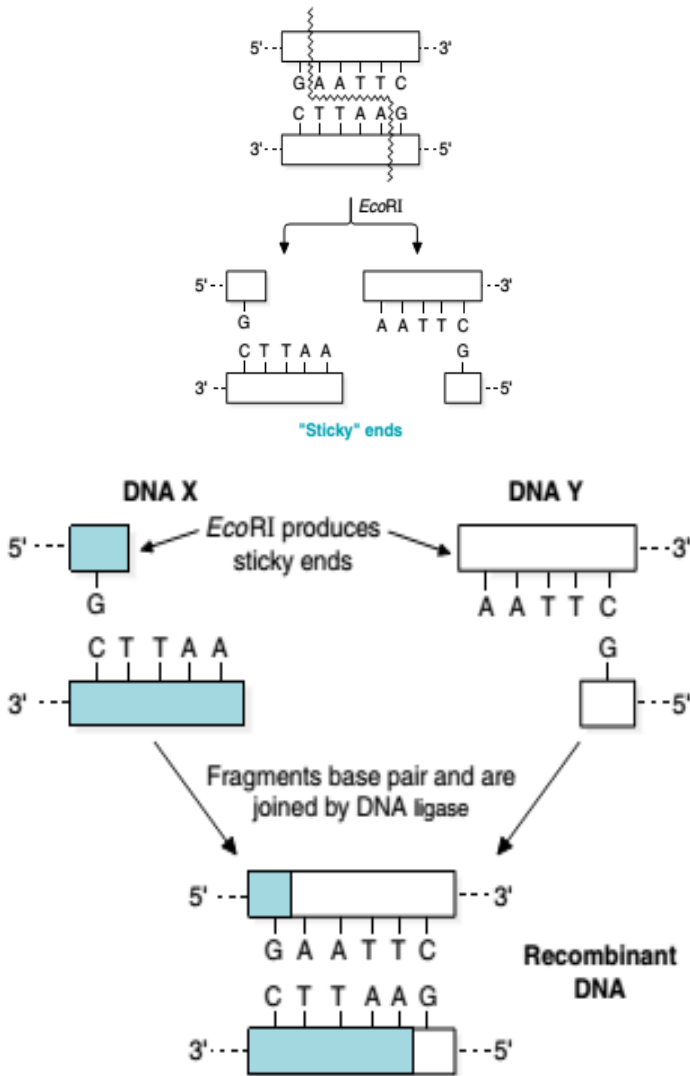
4.1.1. Strategi Untuk Memperoleh Salinan Gen Atau Fragmen DNA

4.1.1.1 Fragmen Restriksi

Enzim endonuklease restriksi (*restriction endonuclease*) memungkinkan para ahli biologi molekuler memutuskan segmen DNA dari genom berbagai sel atau untuk memperoleh fragmen DNA dari sumber lain. Enzim restriksi adalah suatu endonuklease yang

mengenali urutan pendek DNA, biasanya panjangnya 4-6 pasangan basa dan memutuskan kedua untai DNA di dalam urutan tersebut. Sifat utama enzim restriksi adalah spesifisitasnya. Enzim ini selalu memutuskan di urutan DNA yang sama dan hanya memutuskan di urutan tertentu. Sebagian besar urutan DNA yang dikenali oleh enzim restriksi adalah palindrom yaitu kedua untai DNA memiliki urutan basa yang sama apabila dibaca dalam arah 5' ke 3'. Potongan yang dibuat oleh enzim ini mungkin tumpul/*blunt* (sehingga produk yang dibentuk beruntai ganda di ujungnya) atau "lengket"/*sticky* (sehingga produk yang dihasilkan beruntai tunggal di ujungnya). Telah berhasil diisolasi ratusan enzim restriksi dengan spesifisitas yang berbeda.

Fragmen restriksi DNA dapat membentuk pasangan basa satu sama lain apabila fragmen tersebut memiliki ujung lengket yang bersifat komplementer. Oleh karena itu, dua fragmen DNA yang tidak berhubungan dapat membentuk pasangan basa satu sama lain apabila keduanya diputuskan oleh enzim restriksi yang sama. Setelah fragmen-fragmen tersebut membentuk pasangan basa, ujung-ujungnya digabungkan secara kovalen oleh kerja DNA ligase. Oleh karena itu, penggunaan enzim restriksi bersamaan dengan DNA ligase menghasilkan DNA rekombinan atau kimerik (*chimeric*) yaitu molekul DNA yang direkombinasikan in vitro (dalam "kaca" atau tabung reaksi).



Gambar 4.1. Kerja enzim restriksi dan produksi DNA rekombinan

4.1.1.2. DNA Dari *Reverse Transcriptase*

Apabila mRNA yang ditranskripsikan dari suatu gen diisolasi, mRNA ini dapat digunakan sebagai cetakan oleh enzim *reverse transcriptase*, yang menghasilkan salinan DNA (*copy DNA*, cDNA) dari RNA. Berbeda dengan fragmen DNA yang diputuskan dari genom oleh enzim restriksi, DNA yang dihasilkan oleh *reverse transcriptase*

karena menggunakan mRNA sebagai cetakan, maka tidak memiliki intron.

4.1.1.3. Sintesis DNA Secara Kimia

Sekarang terdapat mesin otomatis untuk mensintesis oligonukleotida (fragmen DNA untai tunggal) dengan sampai 100 nukleotida. Mesin ini dapat diprogram untuk menghasilkan oligonukleotida dengan urutan basa tertentu. Walaupun sintesis gen keseluruhan belum bisa dilakukan, dapat dipersiapkan oligonukleotida yang akan membentuk pasangan basa dengan segmen gen. Oligonukleotida ini dapat digunakan dalam proses identifikasi, isolasi dan amplifikasi gen.

4.2. Teknik Untuk Mengidentifikasi Urutan DNA

4.2.1. Probe

Probe adalah DNA untai tunggal yang dapat membentuk pasangan basa dengan urutan komplementer pada polinukleotida untai tunggal lain yang tersusun dari DNA atau RNA. Proses ini dikenal sebagai penyatuan kembali (*reannealing*) atau hibridisasi. Untuk mengidentifikasi urutan sasaran, *probe* harus membawa suatu label. Apabila *probe* membawa label radioaktif misalnya ^{32}P , *probe* dapat dideteksi dengan autoradiografi. Dibuat autoradiogram dengan membungkus bahan yang mengandung *probe* dengan selembar film sinar X. Elektron yang dipancarkan akibat kehancuran atom radioaktif menyebabkan film terpajan di daerah tepat di atas *probe*. Sebagian label berupa produk kimia tambahan yang berikatan secara kovalen dengan DNA yang dapat diidentifikasi misalnya dengan fluoresens.

4.2.2. Elektroforesis Gel

Adalah suatu teknik dengan menggunakan medan listrik untuk memisahkan molekul berdasarkan ukuran. Karena mengandung gugus fosfat yang bermuatan negatif, di dalam medan listrik DNA akan bergerak menuju elektroda positif. Molekul yang pendek bermigrasi lebih cepat melalui pori-pori daripada molekul yang lebih panjang sehingga pemisahan didasarkan pada panjang. Gel yang tersusun dari poliakrilamid dapat memisahkan molekul-

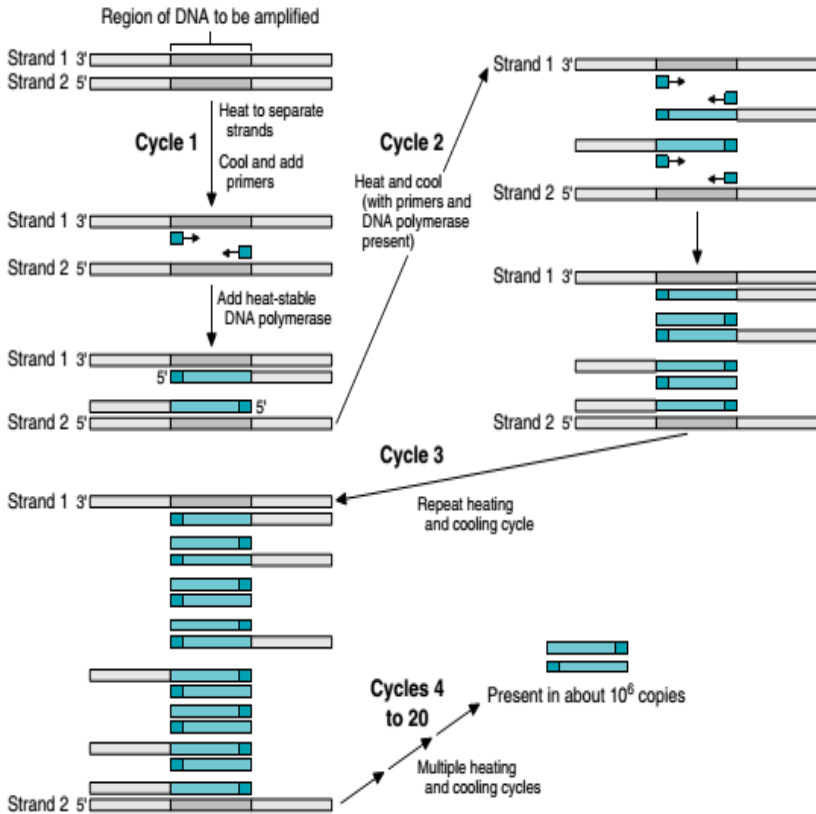
molekul DNA yang perbedaan panjangnya hanya satu nukleotida dan digunakan untuk menentukan urutan basa DNA. Gel agarosa digunakan untuk memisahkan fragmen DNA yang mempunyai ukuran lebih besar.

4.3. Teknik untuk amplifikasi DNA *Polimerase Chain Reaction (PCR)*

Untuk meneliti gen atau urutan DNA lainnya, harus diperoleh bahan dalam jumlah yang memadai. Isolasi DNA dalam jumlah yang bermakna dari sumber asli sering sulit dilakukan. Misalnya, individu tidak dapat menyediakan cukup jaringan untuk menghasilkan DNA yang diperlukan untuk pemeriksaan klinis. Oleh karena itu, jumlah DNA yang ada harus diperbanyak (amplifikasi).

Polimerase Chain Reaction (PCR) adalah suatu metode *in vitro* yang dapat digunakan untuk pembuatan cepat DNA dalam jumlah yang sangat besar. Metode ini sangat cocok untuk memperbanyak DNA untuk prosedur pemeriksaan klinis atau forensik karena hanya diperlukan sampel DNA yang sangat sedikit sebagai bahan awal.

Mula-mula harus dilakukan isolasi terhadap sampel DNA yang mengandung segmen yang akan diamplifikasi. Ditambahkan primer, keempat deoksiribonukleosida trifosfat dan DNA polimerase tahan panas dalam jumlah besar ke dalam larutan di mana DNA dipanaskan untuk memisahkan untai-untai. Primer adalah dua oligonukleotida sintetik. Setiap oligonukleotida bersifat komplementer terhadap urutan yang pendek pada satu untai DNA untuk diamplifikasi. Sewaktu larutan mendingin, oligonukleotida membentuk pasangan basa dengan DNA dan berfungsi sebagai primer untuk sintesis untai DNA yang dikatalisis oleh DNA polimerase tahan panas. Keempat deoksiribonukleosida trifosfat berfungsi sebagai prekursor untuk sintesis DNA baru. Proses pemanasan, pendinginan dan sintesis DNA baru diulang berkali-kali sampai diperoleh salinan DNA dalam jumlah besar. Dalam 20 daur pemanasan dan pendinginan, DNA mengalami amplifikasi lebih dari sejuta kali.



Gambar 4.2. *Polimerase Chain Reaction (PCR).* Strand 1 dan strand 2 merupakan untai asli.

4.4. Penggunaan teknik DNA rekombinan untuk diagnosis penyakit

4.4.1. Deteksi Polimorfisme DNA

Polimorfisme dalam genom berfungsi sebagai dasar penggunaan teknik DNA rekombinan dalam diagnosis penyakit. Polimorfisme adalah variasi dalam urutan DNA. Dalam genom manusia terdapat jutaan polimorfisme yang berlainan. Yang pertama diidentifikasi adalah mutasi titik dan substitusi. Penelitian selanjutnya menunjukkan bahwa delesi dan insersi juga bertanggung jawab atas variasi dalam urutan DNA. Sebagian polimorfisme terjadi di dalam regio pengkode gen. Yang lain ditemukan di regio bukan

pengkode yang berhubungan erat dengan gen yang terlibat dalam etiologi penyakit keturunan.

1. *Restriction Fragment Length Polymorphisms (RFLP)*

Kadang-kadang terjadi mutasi titik di tempat pengenalan untuk enzim restriksi. Oleh karena itu, enzim dapat melakukan pemotongan di tempat pengenalan yang lain tetapi tidak di tempat mutasi. Akibatnya, fragmen restriksi yang dihasilkan oleh enzim berukuran lebih besar untuk individu dengan mutasi dibandingkan dengan untuk individu normal.

Mutasi juga dapat menciptakan tempat restriksi yang tidak terdapat di gen normal. Variasi dalam panjang fragmen restriksi dikenal sebagai restriksi polimorfisme panjang fragmen (*restriction Fragment Length Polymorphisms [RFLP]*).

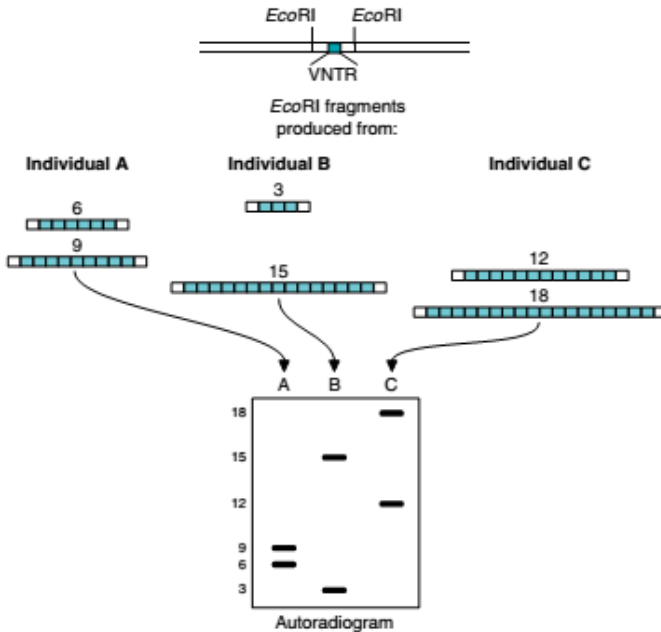
2. *Deteksi mutasi DNA oleh PCR*

Apabila urutan DNA dalam suatu regio yang mengandung suatu mutasi diketahui, dapat disintesis sebuah oligonukleotida yang komplementer dengan regio ini. Oligonukleotida tersebut membentuk pasangan basa hanya dengan DNA yang diperoleh dari individu dengan mutasi tersebut. Oligonukleotida ini dapat digunakan sebagai primer dalam PCR. Apabila DNA diamplifikasi dengan PCR, DNA yang digunakan sebagai cetakan PCR harus mengandung mutasi. Apabila DNA adalah normal, primer tidak akan mengikatnya dan DNA tidak akan diperbanyak. Konsep ini digunakan untuk pemeriksaan klinis.

3. *Deteksi mutasi yang mengandung regio yang sangat variabel*

DNA manusia mengandung banyak urutan yang diulang dua-dua beberapa kali di lokus tertentu pada genom. Regio ini disebut regio hipervariabel karena mengandung jumlah ulangan dua-dua yang berubah-ubah (*variable number of tandem repeat [VNTR]*). Pencernaan oleh enzim restriksi yang mengenali tempat yang mengagap regio VNTR menghasilkan fragmen yang mengandung lokus ini, yang ukurannya berbeda dari satu individu ke individu lain, bergantung jumlah ulangan yang ada. *Probe* yang digunakan untuk mengidentifikasi fragmen restriksi ini berikatan di atau dekat dengan urutan yang diulang. Pola fragmen restriksi yang dihasilkan dari lokus ini digunakan untuk mengidentifikasi individu sama akuratnya dengan sidik jari tradisional.

Dalam kasus kriminal, individu yang secara genetik berhubungan erat akan memiliki pola fragmen restriksi yang lebih serupa daripada individu yang hubungan genetiknya lebih jauh. Hanya kembar monozigotik yang akan mempunyai pola yang identik.



Gambar 4.3. Fragmen restriksi dihasilkan oleh suatu gen dengan metode VNTR

Teknik fragmen restriksi ini disebut "sidik jari DNA" atau DNA *fingerprint* dan semakin luas digunakan dalam analisis forensik. Hubungan keluarga dapat ditentukan melalui metode ini, dan metode ini dapat digunakan untuk membantu membebaskan atau menghukum tersangka.

Rangkuman

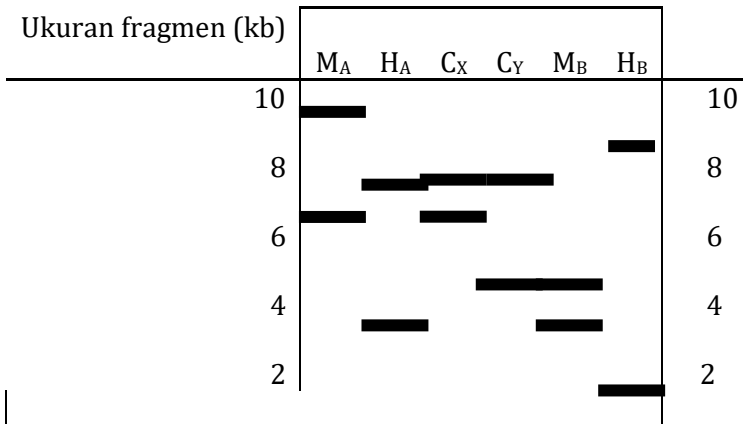
Rekombinan DNA atau teknologi *genetic engineering* adalah suatu teknik menyusun kombinasi baru materi genetik di luar sel dan menghasilkan kombinasi tersebut ke dalam suatu vektor, kemudian mengantarkan molekul vektor tersebut diperbanyak di dalam organisme baru. Untuk meneliti gen atau urutan DNA lainnya, harus diperoleh bahan dalam jumlah yang memadai. Isolasi DNA dalam jumlah yang bermakna dari sumber asli sering sulit dilakukan. *Polimerase Chain Reaction* (PCR) adalah suatu metode *in vitro* yang

dapat digunakan untuk pembuatan cepat DNA dalam jumlah yang sangat besar. Metode ini sangat cocok untuk memperbanyak DNA untuk prosedur pemeriksaan klinis atau forensik karena hanya diperlukan sampel DNA yang sangat sedikit sebagai bahan awal.

Teknik fragmen restriksi ini disebut “sidik jari DNA “ atau DNA *fingerprint* dan semakin luas digunakan dalam analisis forensik. Hubungan keluarga dapat ditentukan melalui metode ini, dan metode ini dapat digunakan untuk membantu membebaskan atau menghukum tersangka.

Soal Latihan

Dua bayi perempuan (C_X dan C_Y) dilahirkan pada hari yang sama di sebuah rumah sakit yang sama. Karena kekhawatiran bahwa bayi-bayi tersebut tertukar di kamar perawatan bayi rumah sakit, dilakukan pemeriksaan genetik yang didasarkan pada fragmen restriksi DNA yang memperlihatkan polimorfisme karena fragmen tersebut mengandung ulangan dua-dua yang berulang (VNTR). Darah diambil dari kedua bayi dan orangtuanya, lalu dilakukan ekstraksi DNA serta pemeriksaan PCR. Kemudian DNA diberi enzim restriksi *BanI* dan fragmen dipisahkan dengan elektroforesis gel. Hasil Southern blot diperlihatkan di bawah ini. Berdasarkan pemeriksaan ini saja, siapa yang paling mungkin menjadi orangtua bayi X dan siapa yang paling mungkin menjadi orangtua bayi Y? (M_A adalah salah satu ibu dan H_A adalah suaminya. M_B adalah ibu satunya dan H_B adalah suaminya).



Daftar Pustaka

- Marks, D.B., Marks, A.D., Smith, C.M., 2013. Biokimia Kedokteran Dasar: Sebuah pendekatan klinis. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Champe, P.C., Harvey, R.A., Ferrier, D.R. Biokimia Ulasan Bergambar. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter P., 2008. Molecular biology of the cell. Fifth Ed. Garland Science, New York.
- Stryer, L. 2000. Biokimia. Fourth ed. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Yuwono, T. 2005. Biologi Molekular. Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Shahib, N.M. 2012. Biologi Molekular Medik. P.T. Alumni, Bandung.

Kunci Jawaban

1. Bayi C_X mungkin merupakan keturunan ibu M_A dan suaminya H_A . Bayi ini dapat menerima kromosom yang mengandung fragmen 8-kb dari ayah H_A dan kromosom homolog yang mengandung fragmen 7-kb dari ibu M_A .
2. Bayi C_Y mungkin menerima fragmen 5-kb dari ibu M_B , tetapi fragmen 8-kb tidak mungkin berasal dari ibu M_B atau suaminya, H_B . Pada kenyataannya, kecil kemungkinannya H_B adalah ayah dari kedua bayi tersebut.
3. H_A mungkin merupakan ayah bayi C_Y , tetapi diperlukan pemeriksaan lebih lanjut untuk memastikan suatu hubungan kekeluargaan tersebut



GLOSSARIUM

Aktivator	Elemen <i>trans</i> - merupakan protein (aktivator transkripsi) yang mengikat elemen <i>cis</i> - spesifik untuk mengaktivasi transkripsi
Alel	Anggota dari sepasang gen
Alel ganda	Apabila sebuah lokus dalam sebuah kromosom ditempati oleh beberapa atau suatu seri alel
Aminoasil-tRNA	Sebuah tRNA yang mengandung asam amino yang terikat secara kovalen ke ujung-3'nya
Antikodon	Triplet nukleotida pada molekul tRNA yang dikaitkan dengan pasangan basa komplementer pada molekul mRNA selama translasi di ribosom
Antiparalel	Orientasi untai yang berlawanan
Capping	Penambahan <i>cap</i> (tudung) ke molekul mRNA
Elektroforesis Gel	Suatu teknik dengan menggunakan medan listrik untuk memisahkan molekul berdasarkan ukuran
Ekson	Urutan DNA yang mengkode asam amino
Genom	Kandungan genetik total pada suatu sel haploid manusia (sel sperma atau sel telur) terdistribusi dalam 23 kromosom
Intron	Sekuens DNA yang tidak mengkode asam amino
Kromatin	Material nukleoprotein kromosom
Mutasi	Perubahan permanen pada urutan nukleotida DNA
Mutasi titik	Apabila hanya satu basa DNA yang mengalami perubahan, menghasilkan perubahan satu basa pada kodon mRNA
Nukleosida	Basa nitrogen berikatan dengan gula ribosa
Nukleotida	Komponen yang terdiri dari residu karbohidrat (ribosa atau deoksiribosa) dan sebuah basa nukleotida
Polymerase Chain Reaction	Suatu metode <i>in vitro</i> yang dapat digunakan untuk pembuatan cepat DNA dalam jumlah yang sangat besar
Primer	Suatu molekul yang digunakan untuk mengawali proses polimerisasi untaian DNA
Probe	DNA untai tunggal yang dapat membentuk pasangan basa dengan urutan komplementer pada polinukleotida untai tunggal lain yang

Promotor	tersusun dari DNA atau RNA Urutan DNA spesifik yang berperan dalam mengendalikan transkripsi gen struktural dan terletak di sebelah hulu (<i>upstream</i>) dari bagian struktural gen
Rekombinan DNA	Suatu teknik menyusun kombinasi baru materi genetik di luar sel dan menghasilkan kombinasi tersebut ke dalam suatu vektor, kemudian mengantarkan molekul vektor tersebut diperbanyak di dalam organisme baru
Replikasi DNA	Proses sintesis DNA baru
Splicing	Pengeluaran intron
Telomer	Sekuens repetitif di ujung molekul DNA linear pada kromosom eukariota
Template	Urutan DNA yang akan ditranskripsi
Terminator	Bagian gen yang terletak di sebelah hilir dari gen struktural
Transkripsi	Proses sintesis RNA dari sebuah DNA <i>template</i> menggunakan prinsip pasangan basa
Translasi	Proses penerjemahan urutan nukleosida yang ada pada molekul mRNA menjadi rangkaian asam-asam amino yang menyusun suatu polipeptida atau protein