

II. BAHAN GENETIK DAN EKSPRESI GEN

A. Latar Belakang

A.1. Bahan Genetik

DNA: Deoxyribo Nucleic Acid, merupakan bahan dasar genetik yang terbentuk dari tiga komponen yaitu:

1. Basa, yang merupakan bahan dasar penyandi genetik. Terdiri dari empat jenis yaitu Adenine, Guanine, Thymine, dan Cytosine.
2. Gula, jenis gula yang merupakan penyusun DNA adalah gula dengan 5, dimana 4 C menyusun cincin dan gula kelima menempel pada gula no 4. oleh karena C no 2 kehilangan O, maka gula tersebut dinamakan deoxyribose. Basa berikatan dengan deoxyribose pada C no 1. gabungan antara basa dengan deoxyribose disebut *nucleosida*.
3. Phosphat. Senyawa phosphat berguna untuk mengikat gula-dengan-gula, dimana phosphat tersebut berikatan dengan gula pada C no 5. ikatan nucleosida dengan phosphat disebut nucleotida.

Empat basa penyusun DNA berdasarkan struktur kimianya dapat dikategorikan menjadi 2 yaitu:

1. Kelompok Pyrimidine. Basa kelompok ini terbentuk dari satu cincin yang terdiri dari 4 C dan 2 N. Kedua basa itu adalah Thyimine dan Cytosine.
2. Kelompok Purine. Basa kelompok ini terbentuk dari dua cincin yang terdiri dari 5 C dan 4 N. Kedua basa itu adalah Adenine dan Guanine.

Dalam pembentukan DNA terdapat 2 utas yang saling berikatan, ikatan ini karena antar basa dapat dihubungkan oleh unsur hydrogen, sehingga ikatan antar basa disebut ikatan hydrogen. Berdasarkan jumlah ikatan dibagi 2, yaitu:

1. Basa-basa berikatan dua, yaitu Thymine (A) dari Pyrimidine dengan Adenine (A) dari Purine
2. Basa-basa berikatan tiga, yaitu Cytosine (C) dari Pyrimidine dengan Guanine (G) dari Purine

Dengan pola ikatan hydrogen seperti itu menyebabkan terjadi komplementasi, yaitu antara T-A dan C-G, yang penting bagi proses replikasi dan ekspresi gen. Demikian juga jumlah basa Pyrimidine akan sama dengan basa Purine, tetapi jumlah basa berikatan 2 tidak selalu sama dengan jumlah basa berikatan 3.

Utas pada DNA dan RNA terbentuk dari ikatan antar deoxyribose dengan deoxyribose bukan oleh ikatan antar basa dalam satu utas. Ikatan tersebut terjadi ketika senyawa Phospat pada C no 5 pada suatu deoxyribose berikatan dengan C no 3 pada deoxyribose yang lain. Ikatan ini disebut ikatan phospho-diester, karena dihubungkan oleh phosphat. Ikatan ini menyebabkan utas terbentuk dan basa dapat menempel berurutan secara sequensial, sehingga ikatan antar deoxyribose disebut juga tulang belakang (*back bone*) DNA.

Oleh karena P pada C no 5 berikatan dengan P pada C no 3, maka pergerakan pembentukan utas akan berupa gerakan dari C no 5 ke C no 3, sehingga ujung awal utas DNA/RNA disebut ujung 5', sedangkan ujung akhirnya disebut ujung 3'.

Pada DNA yang memiliki utas ganda arah pergerakan antar utas saling berlawanan, sehingga posisi basa tidak selalu tepat sejajar, hal ini mengakibatkan utas ganda DNA menjadi berpilin.

Susunan basa pada DNA dapat divisualisasikan melalui mesin yang disebut *DNA sequencer*. Pada saat ini biasanya basa C disajikan dalam warna biru, basa G dalam warna hitam, basa T dalam warna merah dan basa A dalam warna hijau.

Di dalam sel tanaman, DNA tersebar baik dalam inti sel, maupun dalam sitoplasma. Dalam inti sel DNA tersusun dalam kromosom, sedangkan dalam sitoplasma DNA terdapat dalam plastid, mitochondria, yang jumlahnya lebih dari 1, hal ini karena dalam sel tanaman terdapat tiga genom, yaitu genom inti, genom mitochondria dan genom plastid .

A.2. Ekspresi Gen

Pengaruh suatu gen dapat diamati secara visual misalnya pada anggur dengan warna buah yang hijau, warna ungu muda sampai dengan warna ungu tua. Dari pola tandan buah ada yang jarang, lebat hingga sangat lebat. Semua perbedaan tersebut disebabkan oleh ekspresi gen yang berbeda.

Pengaruh suatu gen juga dapat dibedakan dari tingkat aktivitas ekspresi. Misalnya aktivitas ekspresi gen kerdil *AoX* pada padi, menyebabkan perbedaan tinggi tanaman. Makin tinggi aktivitas ekspresi gen *AoX* menyebabkan makin kerdilnya padi. Proses ekspresi terjadi pada dua lokasi, yaitu pada inti dan sitoplasma.

Berdasarkan hasil yang dicapai dari proses ekspresi, dikenal 3 kelas gen, yaitu:

1. Gen kelas I:

Gen-gen kelas ini menghasilkan protein yang nantinya menjadi ribosom sebagai mesin translasi mRNA, sehingga produk ekspresinya disebut rRNA (ribosome RNA).

2. Gen kelas II:

Gen-gen kelas ini menghasilkan protein yang akan berfungsi sebagai enzim yang berperan dalam proses fisiologi tanaman dalam membentuk penotipe (keragaan) suatu individu tanaman. Produk ekspresinya disebut mRNA (messenger RNA).

3. Gen kelas III:

Gen-gen kelas ini menghasilkan protein yang akan berfungsi sebagai pembawa asam amino dari sitoplasma ke ribosome untuk membentuk rantai asam-amino dari mRNA, sehingga produk ekspresinya disebut tRNA (transfer RNA).

Dalam mengendalikan proses fisiologi dan keragaan tanaman gen kelas II, dapat dibedakan menjadi 2 kelompok gen, yaitu

1. Gen yang berekspresi terus menerus (Constitutive expression). Gen-gen ini diekspresikan terus menerus pada sebagian besar organ, karena dibutuhkan untuk menjalankan untuk memenuhi kebutuhan dasar, seperti respirasi untuk mendapatkan energi. Gen-gen ini disebut *housekeeping genes*, yang meliputi 10% dari seluruh gen.

2. Gen yang berekspresi khusus (Specific expression). Gen-gen ini diekspresikan pada organ tertentu, tahap perkembangan tertentu, atau pada kondisi lingkungan tertentu, seperti pada pembungaan, pematangan buah, merespon stress air, atau ketika mendapat serangan penyakit. Gen-gen ini disebut *inducible genes*, yang meliputi 90% dari seluruh gen.

Proses ekspresi suatu gen yang terjadi pada inti sel adalah 2 tahapan, yaitu:

1. Proses transkripsi (Transcription). Pada tahap ini dilakukan penggandaan salah satu utas DNA pengkode (coding strand/positive strand), dengan melakukan komplementasi pada utas lainnya sebagai template (template strand/negative

stand). Hasil dari proses ini adalah RNA yang disebut heteronuclear RNA (hnRNA)

2. Pemrosesan RNA (RNA Processing). Pada tahap ini hnRNA mengalami beberapa tahapan, sehingga terlindung pada kedua ujungnya serta bagian-bagian yang tidak akan diterjemahkan menjadi asam amino (intron), sehingga diperoleh RNA yang siap diterjemahkan menjadi rantai asam amino, sehingga RNA ini disebut messenger RNA (mRNA).

Tahapan Transkripsi

- a. Pengenalan template (*Template recognition*)
- b. Inisiasi pembentukan RNA (*Initiation*)
- c. Pemanjangan RNA (*Elongation*)
- d. Terminasi (*Termination*)

a. Pengenalan template (*Template recognition*)

Pada tahapan ini enzim *RNA polymerase* (enzim yang berperan dalam sintesa RNA) mulai berikatan dengan utas ganda DNA, selanjutnya menentukan utas mana yang jadi utas pengkode dan utas mana yang akan dijadikan template, berdasarkan keberadaan promotor, yang menunjukkan utas pengkode.

Terdapat banyak jenis promotor, tetapi yang paling umum adalah TATA box yang berada 10 basa sebelum titik inisiasi (10 pasang basa pada arah downstream).

1. TATA box (TATAAA, 10 pb);
2. CAAT box (GGCCAATCT, 22 pb);
3. GC box (GGGCGG, 20pb);
4. Octamer (ATTTGCAT, 20 pb);
5. kB (GGGACTTTC, 10 pb);
6. ATF (GTGACGT, 20 pb).

b. Inisiasi pembentukan RNA (*Initiation*)

Pada tahapan ini RNA polymerase mulai membuat basa RNA pertama pada titik awal (start site) sesuai jarak yang ditetapkan dari sekuens promotor, dengan mengkomplementasai basa pada utas template .

c. Pemanjangan RNA (*Elongation*)

Pada tahap ini RNA polymerase bergerak sepanjang utas ganda DNA, sambil melanjutkan sintesis RNA, sesuai dengan utas template, sehingga mencapai titik terminasi. Daerah tempat DNA dikode menjadi RNA disebut *transcribed region*.

d. Terminasi (*Termination*)

Pengenalan titik akhir transcribed region, dimana setelah itu tidak ada lagi penambahan basa pada utas RNA yang terbentuk.

Tahapan Pemrosesan RNA

a. Penambahan Cap pada ujung 5' (*Capping*)

Pada tahapan dilakukan penambahan basa G yang sudah mengalami metilasi (penambahan CH₃ pada unsur N) pada ujung 5', untuk menghambat perusakan RNA oleh RNase (enzim pengurai RNA).

b. Penambahan basa Adenine (*Polyadenilation*)

Pada tahapan ini dilakukan penambahan banyak basa (10-30) Adenine pada ujung 3', yang dimaksudkan untuk meningkatkan stabilitas RNA.

c. Pemotongan intron (*Splicing*)

Pada tahap ini enzim restriksi memotong bagian intron, selanjutnya bagian exon disatukan dengan enzim ligasi menjadi messenger RNA. Intron yang sudah dipotong diurai lagi menjadi basa, dan digunakan untuk pembentukan RNA berikutnya.

Sintesis Protein

Sintesis Protein, terdiri dari empat tahap yaitu:

1. Transport mRNA dari inti sel ke sitoplasma. mRNA yang sudah diproses di dalam inti sel dialihkan ke sitoplasma untuk memulai tahapan sintesis protein (*translation*).
2. Pengikatan mRNA ke ribosome. mRNA yang sudah berada dalam sitoplasma selanjutnya berikatan dengan ribosome sebagai tahap awal dari proses sintesis protein (translasi)
3. Penterjemahan (*Translation*). mRNA Satu asam amino dikode oleh 3 basa, sehingga karena terdapat 4 basa akan terbentuk 64 kombinasi basa (4³). Akan tetapi karena 3 kombinasi digunakan sebagai stop kodon, maka tersisa 61 basa.

Jumlah asam amino yang digunakan dalam penyusunan protein adalah 20, sehingga ada beberapa asam amino di kode oleh lebih dari 1 codon. mRNA yang berikatan dengan ribosome memulai dengan penempelan tRNA pembawa asam amino methionine (M-tRNA) melakukan komplementasi pada titik awal daerah mRNA yang akan diterjemahkan ke dalam protein (ORF: *Open Reading Frame*), melalui komplementasi dengan tiga basa yang mengkode (*codon*) Methionine yaitu AUG, karena pada M-tRNA terdapat 3 basa komplemennya yaitu UAC. Daerah yang tidak diterjemahkan disebut *UnTranslated Region* (ORF).

Setelah AUG (disebut juga start codon) diterjemahkan menjadi Methionine, selanjutnya dilakukan pemanjangan rantai asam amino, sesuai dengan t-RNA yang komplemen dengan utas m-RNA, sampai akhirnya bertemu dengan kombinasi 3 basa yang menunjukkan titik berhenti proses pemanjangan rantai asam amino. Kombinasi tersebut disebut stop codon (**UGA, UAA, UAG**). Ujung awal rantai asam amino (M) disebut ujung Nitrogen sedangkan ujung asam amino sebelum terhenti oleh stop codon disebut ujung carboxyl.

4. Pengembangan Protein

Rantai asam amino yang terbentuk akan disusun menjadi bangun protein yang siap menjadi enzim tunggal atau harus bergabung dengan rantai lain sebelum menjadi enzim aktif. Melalui pembentukan enzim akan dilakukan serangkaian proses fisiologis yang akan menentukan penotipe tanaman.

Tabel 2.1. Kode Genetik (codon) RNA

	U		C		A		G		
U	UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tir	UGU	Sis	U
	UUC	Phe	UCC	Ser	UAC	Tir	UGC	Sis	C
	UUA	Leu	UCA	Ser	UAA	Stop	UGA	Stop	A
	UUG	Leu	UCG	Ser	UAG	Stop	UGG	Tri	G
C	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg	U
	CUC	Leu	CCC	Pro	CAC	His	CGC	Arg	C
	CUA	Leu	CCA	Pro	CAA	Gln	CGA	Arg	A
	CUG	Leu	CCG	Pro	CAG	Gln	CGG	Arg	G
A	AUU	Ileu	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser	U
	AUC	Ileu	ACC	Thr	AAC	Asn	AGC	Ser	C
	AUA	Ileu	ACA	Thr	AAA	Lis	AGA	Arg	A
	AUG	Met	ACG	Thr	AAG	Lis	AGG	Arg	G
G	GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gli	U
	GUC	Val	GCC	Ala	GAC	Asp	GGC	Gli	C
	GUA	Val	GCA	Ala	GAA	Glu	GGA	Gli	A
	GUG	Val	GCG	Ala	GAG	Glu	GGG	Gli	G

Keterangan:

Ala	: alanin	Gln	: glutamin	Lis	: lisin	Sis	: sistein
Arg	: arginin	Gli	: glisin	Met	: metionin	Thr	: threonin
Asn	: asparagin	His	: histidin	Phe	: phenilalanin	Tir	: tirosin
Asp	: aspartat	Ileu	: isoleusin	Pro	: prolin	Tri	: triprofan
Glu	: glutamat	Leu	: leusin	Ser	: serin	Val	: valin

2.1. LATIHAN SOAL (Laporan per Individu):

1. Jika terdapat utas DNA yang merupakan bagian yang ditranskripsikan berikut ini:

5'-----AGATGGTAACTTGAGCCGTGATC-----3'
 3'-----TCTACCATTGAACTCGGCACTAG-----5'

- Tuliskan utas RNA!
- Tuliskan asam amino yang diperoleh!

Jawab:

Pembacaan model dari utas 3' ke arah 5' sebagai konsekuensi pertumbuhan 5'—3' pada sintesis polinukleotida, utas lainnya adalah utas pendamping. Hanya satu dari dua utasan DNA utas ganda yang digunakan sebagai model cetakan sedangkan yang lain merupakan utas pendamping. Sehingga proses transkripsi adalah sebagai berikut:

DNA 5'-----AGATGGTAACTTGAGCCGTGATC -----3' utas pendamping
3'-----TCTACCATTGAACTCGGCACTAG -----5' utas cetakan



mRNA 5'-----AGAUGGUAACUUCACGGCUCAUC -----3'

Informasi genetik yang dibawa oleh mRNA terdapat pada runtunan basa yang dikandungnya. Setiap jenis kombinasi tiga basa yang berdampingan mengandung sandi genetik (**kodon**) tertentu, yang dapat diterjemahkan menjadi satu jenis asam amino dalam proses translasi. Oleh karena itu, rantai mRNA dapat dipandang sebagai rangkaian kodon yang dapat diterjemahkan menjadi runtunan asam amino. Penterjemahan mRNA menjadi protein dilakukan pada ruas penyandi yang diapit oleh kodon awal (*start codon*) yaitu **AUG**.

Karena penterjemahan dimulai dari AUG maka asam amino yang dihasilkan adalah pengkodean dari utas: AUGGUAACUUCACGGCUCAUC yaitu

AUG ; metionin

GUA : valin

ACU : threonin

UCA : serin

CGG : arginin

CUC : leusin

AUC : isoleusin

Jadi, rantai asam amino yang dihasilkan adalah metionin – valin – threonin – serin – arginin – leusin – isoleusin.

2. Jika asam amino yang dihasilkan adalah metionin – glutamat – lisin – sistein, tuliskan alternatif utas DNA!

Jawab:

Kodon pengkode masing-masing asam amino adalah

Metionin : AUG

Glutamat : GAA, GAG

Lisin : AAA, AAG

Sistein : UGU, UGC

Sehingga alternatif mRNA nya adalah

1. AUG GAA AAA UGU

2. AUG GAA AAA UGC

3. AUG GAA AAG UGU

4. AUG GAA AAG UGC

5. AUG GAG AAA UGU

6. AUG GAG AAA UGC

7. AUG GAG AAG UGU

8. AUG GAG AAG UGC

Alternatif DNA utas cetakan adalah

1. AUG GAA AAA UGU

↓

TAC CTT TTT ACA

2. AUG GAA AAA UGC

↓

TAC CTT TTT ACG

3. AUG GAA AAG UGU

↓

TAC CTT TTC ACA

4. AUG GAA AAG UGC

↓

TAC CTT TTC ACG

5. AUG GAG AAA UGU

↓

TAC CTC TTT ACA

6. AUG GAG AAA UGC

↓

TAC CTC TTT ACG

7. AUG GAG AAG UGU

↓

TAC CTC TTC ACA

8. AUG GAG AAG UGC

↓

TAC CTC TTC ACG

Jadi, alternatif utas DNA nya adalah

1. 5'----- ATG GAA AAA TGT -----3'
3'----- TAC CTT TTT ACA -----5'

2. 5'----- ATG GAA AAA TGC-----3'
3'----- TAC CTT TTT ACG -----5'

3. 5'----- ATG GAA AAG TGT -----3'
3'----- TAC CTT TTC ACA -----5'

4. 5'----- ATG GAA AAG TGC -----3'
3'----- TAC CTT TTC ACG -----5'

5. 5'----- ATG GAG AAA TGT -----3'
3'----- TAC CTC TTT ACA -----5'

6. 5'----- ATG GAG AAA TGC -----3'
3'----- TAC CTC TTT ACG -----5'
7. 5'----- ATG GAG AAG TGT -----3'
3'----- TAC CTC TTC ACA -----5'
8. 5'----- ATG GAG AAG TGC -----3'
3'----- TAC CTC TTC ACG -----5'

3. Jika terdapat utas DNA yang merupakan bagian yang ditranskripsikan berikut ini:

5'-----AATGGGTA~~ACTATGCACGGCTCATC~~-----3'
3'-----TTACCCATTGATACGTGCCGAGTAG-----5'

- c. Tuliskan utas RNA!
- d. Tuliskan asam amino yang diperoleh!

Jawab:

DNA 5'-----AATGGGTA~~ACTATGCACGGCTCATC~~-----3' utas pendamping
3'-----TTACCCATTGATACGTGCCGAGTAG-----5' utas cetakan



mRNA 5'-----AAUGGGUAACUAUGCACGGCUCAUC-----3'

Karena penterjemahan dimulai dari AUG maka asam amino yang dihasilkan adalah

- a. pengkodean dari utas: AUGGGUAACUAUGCACGGCUCAUC yaitu
 - AUG : metionin
 - GGU : glisin
 - AAC : asparagin
 - UAU : tirosin
 - GCA : alanin
 - CGG : arginin
 - CUC : leusin
 - AUC : isoleusin

dan atau

- b. pengkodean dari utas: AUGCACGGCUCAUC yaitu
 - AUG : metionin
 - CAC : histidin
 - GGC : glisin
 - UCA : serin
 - UC : -

Jadi, rantai asam amino yang dihasilkan adalah

- a. metionin – glisin – asparagin – tirosin – alanin – arginin – leusin - isoleusin

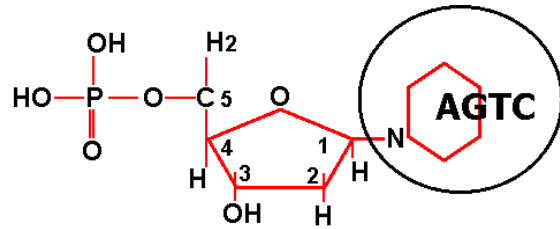
dan atau

- b. metionin – histidin – glisin – serin

2.1.1. Bahan Genetik

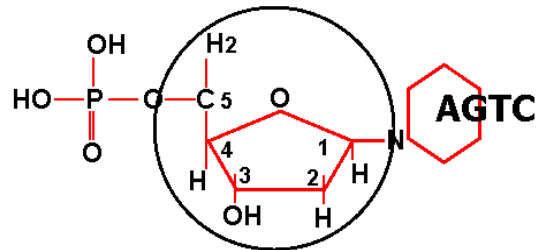
1. Apa nama bagian yang dilingkari?

- a. Basa
- b. Fosfat
- c. Dioksiribosa



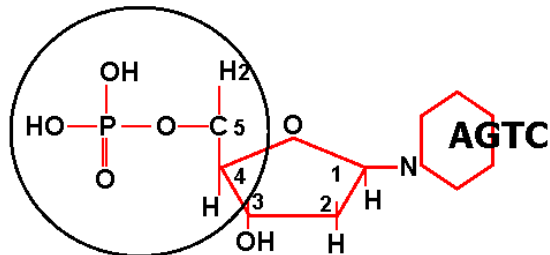
2. Apa nama bagian yang dilingkari?

- a. Basa
- b. Fosfat
- c. Dioksiribosa



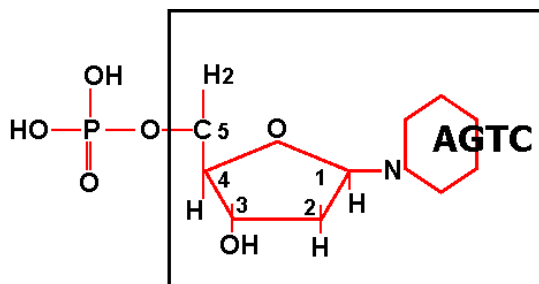
3. Apa nama bagian yang dilingkari?

- a. Basa
- b. Fosfat
- c. Dioksiribosa



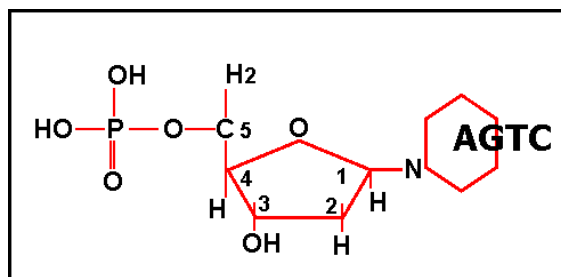
4. Apa nama bagian yang dilingkari?

- a. Nukleosida
- b. Nukleotida
- c. Nukleoprotein



5. Apa nama bagian yang dilingkari?

- a. Nukleosida
- b. Nukleotida
- c. Nukleoprotein



6. Lengkapi tabel berikut!

RNA:	DNA	RNA
-------------	------------	------------

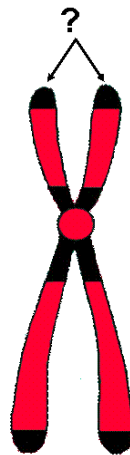
Gula

Basa

Utas

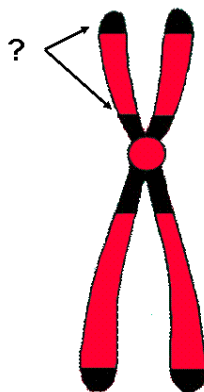
7. Bagian apa ini?

- a. Telomer
- b. Sentomer
- c. Monomer
- d. Heterokromatin
- e. Kromatin
- f. Eukromatin



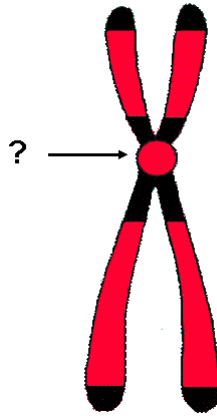
8. Bagian apa ini?

- a. Telomer
- b. Sentomer
- c. Monomer
- d. Heterokromatin
- e. Kromatin
- f. Eukromatin



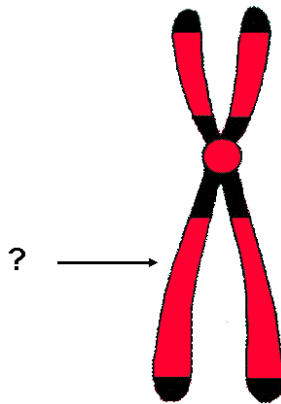
9. Bagian apa ini?

- a. Telomer
- b. Sentomer
- c. Monomer
- d. Heterokromatin
- e. Kromatin
- f. Eukromatin

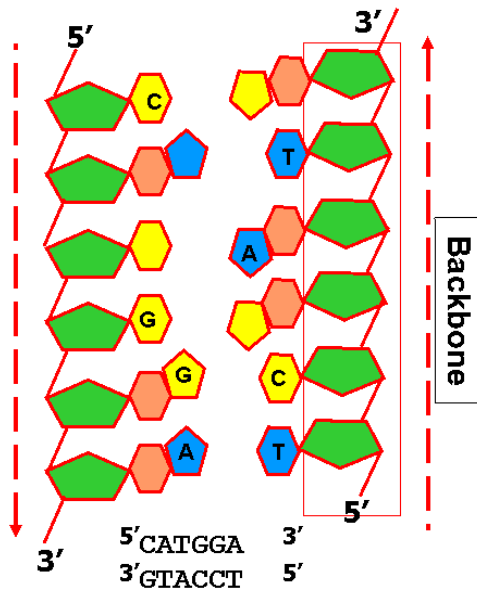


10. Bagian apa ini?

- a. Telomer
- b. Sentomer
- c. Monomer
- d. Heterokromatin
- e. Kromatin
- f. Eukromatin



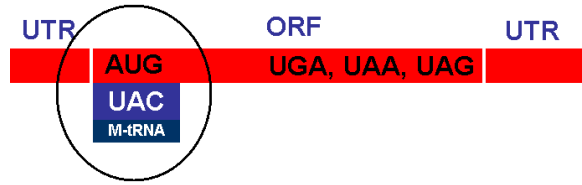
11. Lengkapi pasangan basa yang kosong?



2.1.2. Ekspresi Gen

1. Apa nama bagian yang dilingkari?

- d. Start kodon
- e. Stop kodon
- f. Terminator
- g. Promotor

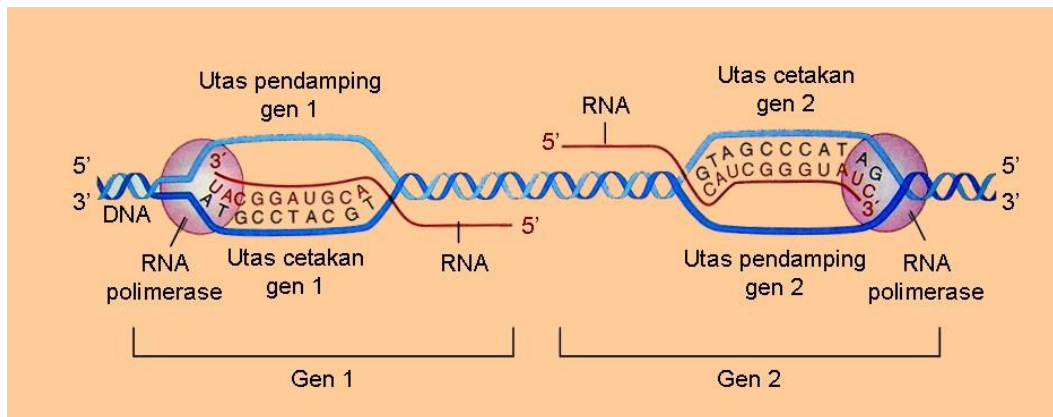
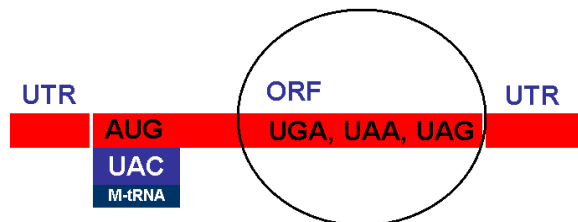


2. Apa nama asam amino dari kodon tersebut?

- a. Lysin
- b. Metionin
- c. Leusin
- d. Serin

3. Apa nama bagian yang dilingkari?

- a. Start kodon
- b. Stop kodon
- c. Terminator
- d. Promotor



4. Apa asam amino yang akan dihasilkan oleh gen 1?

- a. Tir-tri-Ala
- b. Leu-Tir-Sis
- c. Tir-Gli-Sis
- d. Leu-Tri-Ala

5. Apa asam amino yang akan dihasilkan oleh gen 2?

- a. Tir-tri-Ala

- b. Leu-Tir-Sis
 - c. Tir-Gli-Sis
 - d. Leu-Tri-Ala
4. Jika terdapat utas DNA yang merupakan bagian yang ditranskripsikan berikut ini:
- 5'-----AGTATGACGTAACCTTGAGCCGTGATGCGTCGAACTTCG-----3'
 3'-----TCATACTGCATTGAACTCGGCACTACGCAGCTTGAAGC-----5'
- e. Tuliskan utas RNA!
 - f. Tuliskan asam amino yang diperoleh!
7. Jika asam amino yang dihasilkan adalah metionin – leusin – glutamat – lisin – serin, tuliskan alternatif utas DNA!
8. Sequence berikut adalah mRNA dari gen anthocyanin-related membrane protein pada *Arabidopsis thaliana*

**AATGGTGTAT TTCAATTTCA ATAGGATTAA GACGAAGAAG
 ACTCTAATTG GATTTGGATT GGGACAGATC CTCTCGCTTC
 TCTCGACTTC TCTTAGCTTT ACATCGTCTG AGATCGCTAG
 AAAAGATTTT AGCTTTTTTT**

- a. Berapa nilai GC content pada sequence di atas?
- b. Tuliskan rantai asam amino terbanyak yang dapat di sandi oleh fragment tersebut