

## **BAB 6**

### **GENETIKA BAKTERI**

#### **A. GENOM BAKTERI**

Ada dua fenomena biologi pada konsep hereditas, yaitu:

- 1). Hereditas yang bersifat stabil : dimana generasi berikut yang terbentuk dari pembelahan satu sel mempunyai sifat yang identik dengan induknya
- 2). Variasi genetik yang mengakibatkan adanya perbedaan sifat dari sel induknya akibat peristiwa genetik tertentu, misal: mutasi.

##### 1. Unit herediter bakteri ( genom bakteri)

#### **Kromosom**

Kebanyakan gen prokariota terdapat pada kromosom, yang terletak dalam suatu bagian pusat sitoplasma, yang dinamakan daerah nuklear atau nukleoid untuk membedakannya dari membran-pengikat nukleus pada sel eukariotik. .

Gen bakteri terdapat dalam molekul DNA tunggal (haploid). Berbentuk sirkuler, panjangnya  $\pm 1\text{mm}$ , beratnya 2-3% dari berat kering satu sel, disusun sekitar 4 juta kpb DNA, makromolekul yang sangat banyak ini dikemas agar tidak berubah dalam bentuk superkoil ( $\pm 70\text{-}130$  superkoil domain)

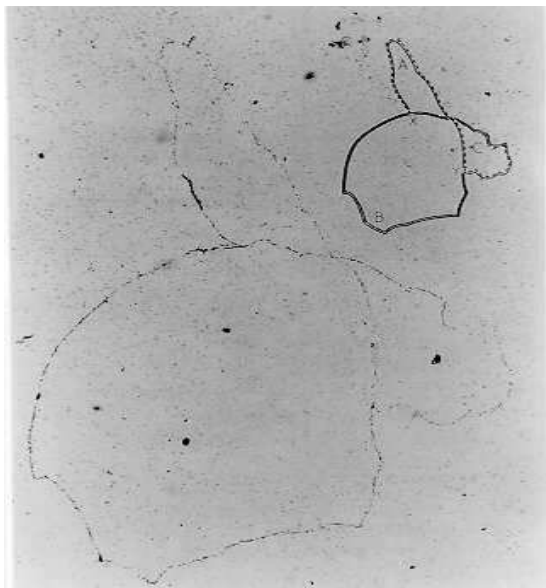
Jumlah nukleoid dalam sel bakteri dapat lebih dari satu, tergantung kecepatan pertumbuhan dan ukuran sel. Nukleoid berisi gen yang penting untuk pertumbuhan bakteri.

#### **Plasmid**

Plasmid merupakan materi genetik di luar kromosom (ekstra kromosomal). Tersebar luas dalam populasi bakteri. Terdiri dari beberapa – 100 kpb, beratnya  $\pm 1\text{-}3\%$  dari kromosom –bakteri. Berada bebas dalam sitoplasma bakteri. Kadang-kadang dapat bersatu dengan kromosom bakteri. Dapat berpindah dan dipindahkan dari satu spesies ke spesies lain. Jumlahnya dapat mencapai 30 atau dapat bertambah karena mutasi.

### Macam-macam Plasmid dan peranannya:

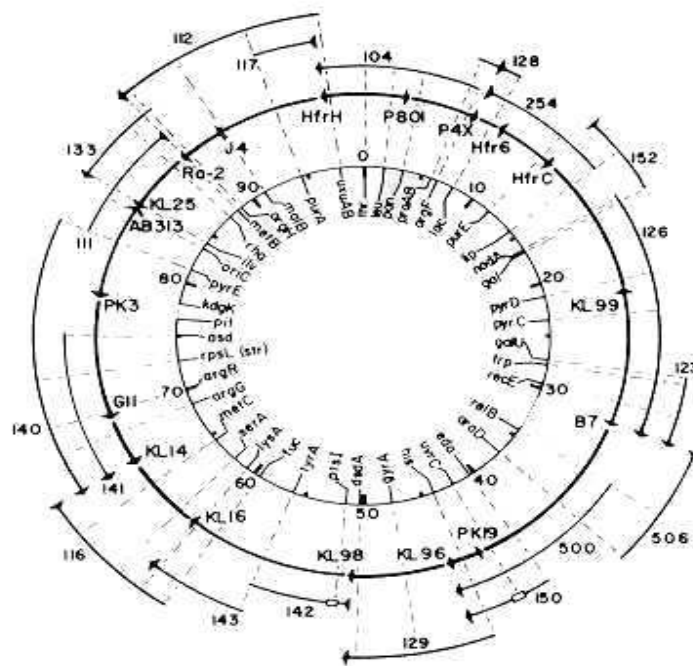
**Pili F dan I.** Dua macam pili yang disebut, pili F dan I, diketahui terlibat dalam transfer plasmid dari sel ke sel. Dua kelompok faga RNA diketahui menginfeksi sel yang membawa plasmid yang dapat dipindahkan. Faga ini dapat digunakan untuk melihat adanya pili F dan I pada sel. Dua macam pili ini dapat juga dibedakan secara imunologi. Pili F dilibatkan dalam transfer faktor F dan beberapa plasmid resisten-antibiotik. Pili F juga terdapat pada sel Hfr. Pili I dilibatkan dalam transfer plasmid resisten-antibiotik, plasmid yang menentukan-colicin, dan lainnya.



Gambar 6.1 DNA kromosom sirkular bakteri *E. coli* sedang mengalami replikasi (sumber: *Randall K. Holmes & Michael G. Jobling, 2001*)

**Faktor R.** Faktor R pertama kali ditemukan di Jepang pada strain bakteri enterik yang mengalami resistensi terhadap sejumlah antibiotik (multipel resisten). Munculnya resistensi bakteri terhadap beberapa antibiotik, sangat berarti dalam dunia kedokteran, dan dihubungkan dengan meningkatnya penggunaan antibiotik untuk pengobatan penyakit infeksi. Sejumlah perbedaan gen-gen resisten-antibiotik dapat dibawa oleh faktor R. Plasmid R100 disusun oleh 90 kpb yang membawa gen resisten untuk sulfonamid, streptomisin/spektinomisin, asam fusidat, kloramfenikol, tetrasiklin dan pembawa gen resisten terhadap merkuri. R100 dapat berpindah diantara bakteri enterik dari genus *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, dan *Shigella*, tetapi tidak akan

berpindah ke bakteri nonenterik *Pseudomonas*. Juga sudah diketahui faktor R dengan gen resisten terhadap kanamisin, penisilin, tetrasiklin, dan neomisin. Beberapa elemen resisten obat pada faktor R merupakan elemen yang dapat bergerak, dan dapat digunakan dalam mutagenesis transposon.



Gambar 6.2. Peta Genetik sirkuler kromosom bakteri *E. coli* . Letak gen terwakili pada lingkaran terdalam. Jarak antar gen diukur dalam menit, yaitu waktu yang diperlukan untuk transfer gen selama konjugasi (sumber: *Randall K. Holmes & Michael G. Jobling, 2001*)

Gen-gen untuk sifat yang tidak berhubungan dengan resistensi antibiotik juga dibawa oleh faktor R. Yang terpenting diantaranya menghasilkan pili untuk transfer konjugatif, tetapi faktor R juga membawa gen untuk replikasi dirinya sendiri dan gen untuk mengatur produksi protein yang mencegah pengenalan plasmid lain. Selanjutnya adanya satu faktor R yang menghambat pengenalan dari tipe plasmid lain yang sama,

suatu fenomena yang diketahui sebagai ketidakcocokan.

Karena faktor R dapat mengalami rekombinasi genetik, gen dari dua faktor R dapat bergabung menjadi satu. Rekombinasi plasmid merupakan suatu alat yang mungkin pertamakali ditimbulkan oleh pembiakan organisme resisten-obat.

Plasmid dapat membawa gen yang berhubungan dengan fungsi-fungsi khusus lain, misalnya pada

*Rhizobium* spp berperan dalam fiksasi nitrogen

*Streptococcus* (grup N) berperan dalam penggunaan laktosa, sistem galaktose fosfotransferase, metabolisme sitrat.

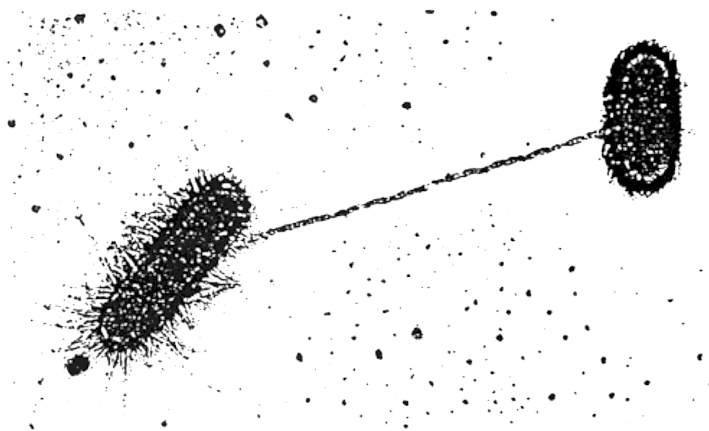
*Rhodospirillum rubrum* berperan dalam sintesis pigmen fotosintesis

*Escherichia coli* berfungsi dalam pengambilan dan metabolisme sukrosa, ambilan sitrat

*Pseudomonas* spp berfungsi dalam degradasi kamfor, toluena, oktana, asam salisilat

*Bacillus stearothermophilus* berfungsi menghasilkan enzim  $\alpha$ -amilase

*Alcaligenes eutrophus* berperan dalam penggunaan H<sub>2</sub> sebagai energi oksidasi



Gambar 6.3 Foto elektron mikrograf sel bakteri *E. coli* F<sup>+</sup> (kiri) dan F<sup>-</sup> (kanan) selama proses konjugasi seksual (sumber: Brock & Madigan,1991)

## 2. Elemen Genetik Bergerak (Transposable)

Konsep bahwa kromosom merupakan struktur diam/statis, diturunkan tidak berubah dari generasi ke generasi, sudah ditinggalkan dan diganti dengan suatu

pandangan yang lebih dinamis. Berdasarkan analisis genetik terhadap organisasi kromosom diungkapkan bahwa penyusunan kembali DNA dapat membawa elemen genetik yang bergerak.

Elemen genetik ini dikelompokkan berdasarkan kemampuannya untuk menyisip sebagai segmen DNA baru pada lokasi genom secara acak. Kemampuan elemen ini untuk mengubah urutan, ditemukan sebagai sifat alami pada kromosom prokariot, plasmid dan genom bakteriofaga. Dua kelompok besar elemen yang berkemampuan mengubah urutan DNA

Pertama : "Insertion sequences "(IS) adalah elemen urutan sisipan yang merupakan unsur genetik yang mampu menyisip ke tempat baru pada replikon yang sama maupun berbeda. IS tidak dapat mereplikasi dirinya sendiri. Urutan dari kelompok IS sederhana biasanya hanya mengandung gen tunggal yang mengkode satu enzim, transposase, yang penting untuk transposisi elemen IS. Urutan IS yang besar mempunyai persamaan struktur dan berisi kira-kira 1000 pasangan basa duplex DNA. Berbagai perbedaan IS ditemukan pada genom bakteri dan plasmid, beberapa mungkin ditemukan sebagai cetakan multipel dalam replikon tunggal.

Kedua : Transposon adalah unsur genetik yang mengandung beberapa kpb DNA, termasuk informasi yang diperlukan untuk migrasi dari satu lokus genetik ke lokus genetik lain, terutama untuk fungsi khusus misalnya resistensi terhadap antibiotik.

Lingkar DNA (kromosom dan plasmid), berisi informasi genetik yang diperlukan untuk replikasi dirinya sendiri yang disebut replikon. Replikon pada prokariota diyakini berhubungan dengan selaput sel dan pemisahan kromosom anak, serta plasmid diduga berkaitan dengan perpanjangan dan pembuatan sekat pada selaput sel.

Transposon tidak berisi informasi genetik yang diperlukan untuk replikasi dirinya sendiri. Seleksi transposon bergantung pada replikasinya sebagai bagian dari suatu replikon. Untuk mendeteksi transposon atau mengutak-atiknya secara genetik dilakukan seleksi terhadap informasi genetik khusus (biasanya resistensi terhadap suatu antibiotika) yang dibawanya.

## **B. PERTUKARAN MATERI GENETIK PADA BAKTERI**

Dewasa ini muncul keanekaragaman dan variasi genetik pada bakteri disebabkan

oleh proses rekombinasi gen antara jenis bakteri yang satu dengan bakteri lain. Rekombinasi atau pertukaran gen ini melalui berbagai cara yaitu:

### 1. Transfer Gen

Materi genetik dan plasmid dapat berpindah atau dipindahkan melalui berbagai mekanisme sebagai berikut:

#### a. Transduksi

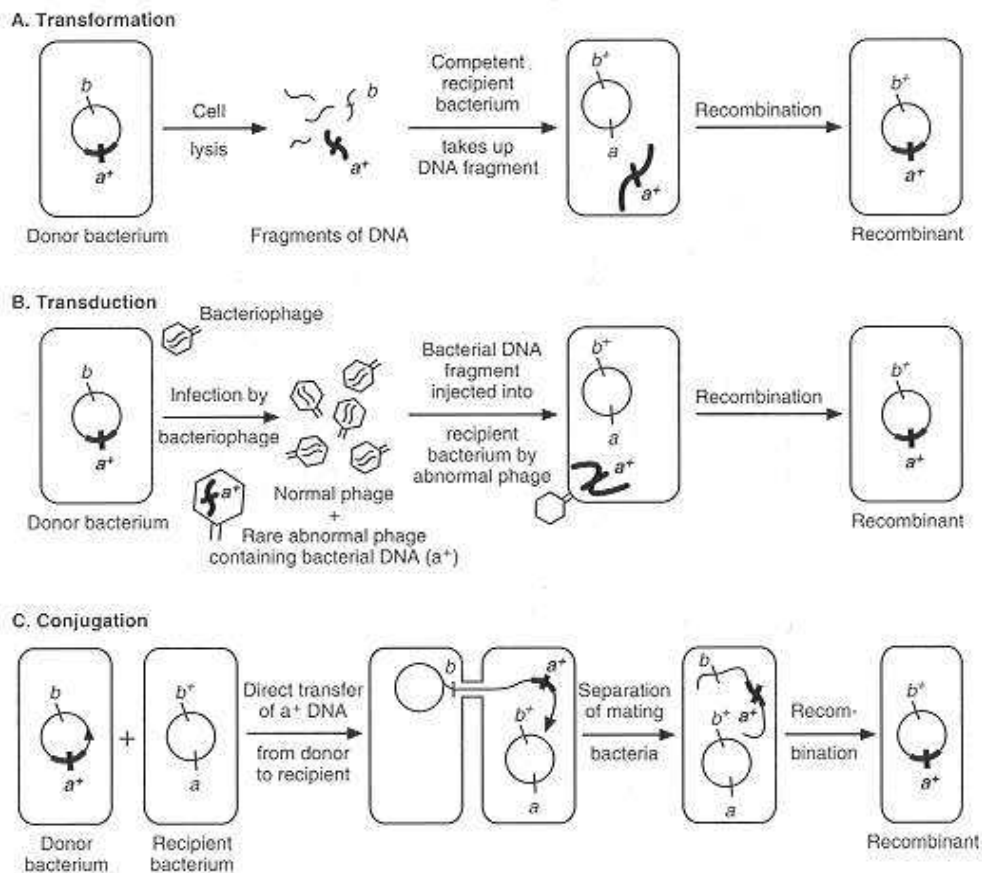
DNA dari plasmid masuk ke dalam genom bakteriofaga. Oleh bakteriofaga plasmid ditransfer ke populasi bakteri lain. Transduksi biasa terjadi pada bakteri Gram positif seperti *Staphylococcus*, tapi diketahui pula terjadi pada *Salmonella*

#### b. Transformasi

Fragmen DNA bebas dapat melewati dinding sel dan kemudian bersatu dalam genom sel tersebut sehingga mengubah genotipnya. Hal ini biasanya dikerjakan di laboratorium dalam penelitian rekayasa genetika, tapi dapat pula terjadi secara spontan meskipun dalam frekuensi yang kecil.

#### c. Konyugasi

Transfer unilateral materi genetik antara bakteri sejenis maupun dengan jenis lain dapat terjadi melalui proses konyugasi ("mating" = kawin). Hal ini dimungkinkan karena adanya faktor F yang menentukan adanya pili seks pada virus bakterial tertentu. Kuman yang mempunyai pili seks disebut kuman F<sup>+</sup>, dan melalui pilinya materi genetik dari sel donor (F<sup>+</sup>) termasuk plasmid DNA-nya dapat berpindah ke dalam sel resipien. Jadi gen-gen tertentu yang membawa sifat resistensi pada obat dapat berpindah dari populasi kuman yang resisten ke dalam kuman yang sensitif. Dengan cara inilah sebagian besar dari sifat resisten obat tersebar dalam populasi kuman dan menimbulkan apa yang disebut multi drug resistance.



**Gambar 6.4 Mekanisme pertukaran materi genetik pada bakteri,** A) Transformasi, fragmen DNA lepas dari bakteri donor yang diterima oleh bakteri penerima B) Transduksi perpindahan materi genetik melalui bakteriofage (virus). C) Konyugasi perpindahan materi genetik dengan kontak langsung melalui hubungan sitoplasma (sumber: *Randall K. Holmes & Michael G. Jobling, 2001*)

#### d. Transposisi

Transposisi adalah pemindahan rantai DNA pendek (hanya beberapa urutan saja) antara satu plasmid ke plasmid lain, atau dari kromosom ke plasmid dalam sel tersebut.

### C. MUTASI

Mutasi mengarah pada suatu perubahan senyawa kimia pada DNA. Mutan merupakan individu yang mengalami perubahan pada satu atau lebih basa DNANYa: perubahan ini dapat diwariskan dan irreversibel (kecuali terjadi mutasi-balik ke urutan awal). Kerusakan gen tersebut dapat disebabkan oleh:

- 1). Perubahan pada proses transkripsi

2). Perubahan pada urutan asam amino dari protein yang merupakan produk gen

Mutasi melibatkan sejumlah gen pada DNA bakteri: beberapa mutasi tidak pernah dideteksi karena tergantung pada mutasi mempengaruhi suatu fungsi yang dapat dikenali (contoh, penyebab resistensi antibiotik). Dan yang lain dapat mematikan sehingga tidak terdeteksi.

Mutasi dikelompokkan berdasarkan :

### 1. Ukuran

**Mutasi titik.** suatu perubahan pada sebagian kecil segmen DNA; biasanya yang terjadi pada suatu nukleotida tunggal atau pasangan nukleotida

- 1). Samesense (silent) mutasi: perubahan pada suatu kodon (biasanya pada posisi ke tiga) yang gagal untuk memindahkan asam amino spesifik dari tempat yang tidak mengalami mutasi
- 2). Nonsense mutasi : suatu pemendekan produk protein , pada signal rantai-terminasi
- 3). Missense mutasi: suatu perubahan urutan asam amino dengan asam amino yang mengalami salah cetak ditempatkan pada rantai polipeptida
- 4). Frameshift mutasi: suatu pergeseran reading frame, menghasilkan sejumlah kodon missense dan nonsense melalui sisa cistron

**“Gross Mutasi”**: perpindahan yang melibatkan lebih dari satu pasangan nukleotida, dapat memasukkan gen, kromosom, atau rangkaian kromosom (pada eukariota)

### 2. Kualitas

Struktural mutasi: perubahan pada nukleotida yang mengandung gen

- 1). Substitusi mutasi: penggantian satu nukleotida untuk yang lainnya, dapat dibedakan menjadi, Transisi: pertukaran dalam satu purindengan satu pirimidin atau sebaliknya (contoh, GC menjadi AT); Transversi: perubahan pada purin/pirimidin (contoh, GC menjadi CG).
- 2). Delesi mutan: kehilangan beberapa bagian suatu gen.
- 3). Insersi mutan: penambahan satu atau lebih ekstra nukleotida terhadap suatu gen.

”Rearrangement Mutasi” merupakan perubahan lokasi suatu gen dalam genom, sering diikuti oleh efek posisi.



- 1). Dalam suatu gen: dua mutasi dalam gen yang sama fungsinya dapat menghasilkan efek yang berbeda, tergantung pada terjadinya apakah pada posisi cis atau trans
- 2). Sejumlah gen tiap kromosom: efek fenotip berbeda dapat dihasilkan jika sejumlah gen yang mengalami replikasi nonequivalen pada kromosom homolog (eukariota)
- 3). Pergerakan lokus gen dapat menghasilkan fenotip baru, khususnya ketika gen dipindahkan dekat heterokromatin (eukariot)

### **3. Asal**

Mutasi spontan awalnya tidak diketahui, sering disebut “background mutation”. Kontrol genetik mutabilitas beberapa gen yang diketahui dapat disebabkan oleh “mutator gen” lain. Mutasi spontan dapat dibedakan menjadi 1) mutasi spesifik yang pengaruhnya terbatas pada satu lokus dan 2) mutasi nonspesifik secara simultan mempengaruhi pada beberapa lokus.

Mutasi terinduksi dipengaruhi oleh keadaan lingkungan yang tidak normal, misalnya: radiasi pengion (perubahan valensi senyawa kimia melalui penambahan elektron yang dihasilkan oleh proton, neutron, atau oleh sinar X. Radiasi nonpengion penambahan tingkat energi atom (eksitasi), yang membuatnya kurang stabil (contoh, radiasi UV, panas), radiasi UV sering menghasilkan dimer timin, contoh, ikatan timin di antara dua rantai yang sama. Mutagen senyawa kimia (senyawa kimia yang meningkatkan mutabilitas gen) dapat dibedakan menjadi: Salah cetak mutan meningkat selama replikasi DNA (contoh, mutagen analog basa dengan sifat kimia yang sama dengan basa asam nukleat dapat masuk karena kesalahan, akrudin penyebab penambahan mutasi tunggal atau delesi kemungkinan karena interkalasi di antara dua urutan basa)]; Perubahan gen langsung [(dihasilkan pada DNA “nonreplicating” (contoh, asam nitrat oleh deaminasi secara langsung merubah adenin menjadi hipoksantin dan sitosin menjadi urasil)]

### **D. GENOTIP DAN FENOTIP BAKTERI**

Bakteri banyak bentuk berdasarkan morfologi: bulat/kokus, batang/basil, spirilla/spiral, spiroket/uliran, dan bercabang. Karena bakteri cukup kecil, sifat genetik sel bakteri jarang diteliti secara individual. Namun, koloni bakteri cukup besar untuk

percobaan secara makroskopik dan sering memperlihatkan variasi dalam ukuran, bentuk, atau kebiasaan pertumbuhan, tekstur, warna, dan respon terhadap nutrien, pewarnaan, obat, antibodi, dan virus patogen (bakteriofaga/virus pada bakteri). Beberapa bakteri dapat tumbuh pada medium minimal yang berisi suatu karbon dan sumber energi (contoh, glukosa), sejumlah garam anorganik, dan air. Bakteri yang dapat tumbuh pada medium “unsupplemented” disebut prototrofik. Jika sejumlah bahan organik ditambahkan pada medium minimal tersebut untuk mendapatkan pertumbuhan, bakteri tersebut dinamakan auksotrofik. Suatu medium yang mengandung semua nutrien organik (asam amino, nukleotida, dan lain-lain) yang dibutuhkan oleh beberapa sel auksotrofik disebut medium lengkap.

Lima tipe utama perubahan fenotipik yang dapat dihasilkan melalui mutasi, yaitu:

- 1). Suatu perubahan dari prototrofik menjadi auksotrofik atau sebaliknya, contohnya, kehilangan atau memperoleh kembali kemampuan untuk menghasilkan produk dari jalur biosintetik. Sebagai contoh, suatu mutasi yang menghasilkan kerusakan/cacat pada gen yang menghasilkan enzim khusus untuk merubah glutamat menjadi glutamin menyebabkan sel menjadi tergantung pada lingkungan untuk glutamin.
- 2). Kehilangan atau memperoleh kembali kemampuan untuk menggunakan nutrien pengganti. Sebagai contoh, suatu mutasi pada gen untuk merubah laktosa menjadi glukosa dan galaktosa membuat sel tidak mampu tumbuh pada medium dimana laktosa merupakan satu-satunya sumber karbon. Macam mutasi ini yang dilibatkan dalam reaksi katabolik (degradatif) tidak tergantung pada prototrofik atau auksotrofik.
- 3). Suatu perubahan dari sensitifitas obat menjadi resistensi obat atau sebaliknya. Sebagai contoh, sebagian besar bakteri sensitif terhadap antibiotik streptomisin, tetapi strain resisten dapat dihasilkan melalui mutasi.
- 4). Suatu perubahan dari sensitifitas faga menjadi resistensi faga atau sebaliknya. Sebagai contoh, suatu mutasi pada reseptor bakteri untuk faga akan membuat sel resisten terhadap infeksi.
- 5). Kehilangan atau memperoleh kembali komponen struktural permukaan sel. Sebagai contoh, satu strain *Pneumococcus* yang dapat menghasilkan kapsul polisakarida, sedangkan strain lain tidak memiliki kapsul.

Simbol yang digunakan untuk mewakili fenotip dan genotip bakteri menggunakan

peraturan sebagai berikut:

- 1). Simbol fenotipik terdiri dari tiga huruf romawi (huruf pertama ditulis huruf besar) dengan tanda yang ditulis di atas “+” atau “-“ untuk menandai ada atau tidaknya sifat yang ditunjukkan, dan “s” atau “r” untuk sensitifitas dan resistensi.
- 2). Simbol genotipik merupakan huruf kecil dengan semua komponen simbol dimiringkan. Contoh, jika sel tersebut dapat mensintesis leusin miliknya, fenotipnya disimbolkan Leu+. Bahan yang memberi sifat fenotip dalam hal ini adalah leusin disimbolkan Leu. Genotip untuk leusin auksotrofik tersebut adalah leu atau leu-, dan fenotipe dalam hal ini adalah Leu- (tidak mampu tumbuh tanpa suplementasi leusin). Jika lebih dari satu gen yang dibutuhkan untuk menghasilkan substansi, simbol tiga-huruf dapat diikuti oleh huruf dimiringkan, seperti leuA, leuB, dan sebagainya. Genotipe untuk resistensi terhadap antibiotik obat penisilin adalah penr atau pen-r; Penr menandakan fenotip. Pada sebagian diploid, 2 rangkai haploid dipisahkan dengan garis miring leu+/leuA-.

Secara genetik perbedaan pada anggota dari spesies bakteri yang sama kadang-kadang dikenal sebagai perbedaan strain jika perbedaan tersebut kecil, atau sebagai perbedaan varietas jika perbedaan tersebut substansial. Contoh, sebagian besar penelitian mengenai spesies *E. coli*. Strain ditandai dengan penambahan suatu huruf besar yang tidak miring atau nomor sesudah nama spesies, jadi *E. coli* B, *E. coli* S, dan seterusnya. Tiga besar yang terdapat pada strain *E. coli* ialah: *E. coli* B (inang untuk faga seri T), *E. coli* C (inang untuk faga ( x 174 DNA rantai-tunggal), dan *E. coli* K12 (mengandung profaga lambda). Catatan tentang perbedaan dalam suatu strain ditandai dengan penambahan nomor sesudah huruf strain.

## **E. PENGATURAN SINTESIS PROTEIN PADA PROKARIOT**

Dalam beberapa sel tidak semua gen aktif pada waktu yang bersamaan. Beberapa produk gen yang dibutuhkan akan secara terus menerus disintesis, sebaliknya produk gen lain hanya dibutuhkan selama fase tertentu siklus sel atau dalam keadaan lingkungan yang tidak diharapkan.

Beberapa protein yang dibutuhkan disintesis dalam jumlah yang besar, sedangkan yang lain dalam jumlah yang kecil. Oleh karena itu aktivitas semua gen yang dibutuhkan

secara khusus diatur dalam satu atau banyak cara, untuk membuat efisiensi penggunaan energi yang tersedia dalam sel. Mekanisme pengaturan tersebut pada ekspresi gen dapat terjadi pada satu atau banyak tingkat. Pengaturan (regulasi) dapat terjadi pada tingkat gen itu sendiri dengan mengendalikan waktu dan/atau kecepatan transkripsi.

Mekanisme pengendalian lain dapat dilaksanakan selama translasi. Setelah translasi, beberapa protein akan berubah menjadi fungsional. Gen yang ditranskripsikan menjadi molekul RNA disebut gen struktural. Protein yang ditranslasi dari mRNA dapat berupa enzim dan nonenzim. Di antara protein nonenzimatik merupakan protein regulator yang berinteraksi dengan urutan nukleotida spesifik untuk mengendalikan aktivitas transkripsional gen spesifik. Gen yang mensintesis protein regulator disebut gen regulator. Setiap gen (atau secara terkoordinir mengendalikan kelompok gen struktural) didahului oleh suatu urutan (yang disebut promotor) yang dapat dikenali oleh RNA polimerase. Sekali polimerase berikatan kepada promotor, selanjutnya dapat mentranskripsikan rantai DNA anti-sense yang berdekatan menjadi suatu molekul RNA. Suatu operon merupakan suatu unit transkripsional yang terdiri dari minimal suatu promotor dan urutan pengkode (coding) mRNA yang berdekatan untuk satu atau lebih rantai polipeptida. Akan tetapi, suatu operon juga dapat mengandung satu atau lebih tempat regulator lain selain promotor. Aktivitas transkripsional gen tidak mengalami pengaturan (“unregulated”) jika produk gen yang diperlukan tidak memperhatikan keadaan lingkungan. Produk demikian dikatakan disintesis secara constitutive. Kuantitas produk dari gen yang tidak mengalami pengaturan tersebut dapat bervariasi, tergantung pada afinitas hubungan promotornya terhadap RNA polimerase. Promotor dengan afinitas tinggi membuat produk gen lebih banyak dari pada promotor berafinitas rendah. Untuk berbagai protein tersebut hanya dibutuhkan kondisi tertentu, kerja gen-gennya biasanya dibangun oleh satu atau banyak protein regulator.

Suatu operator merupakan suatu urutan DNA dalam suatu operon, yang merupakan protein regulator dan disebut suatu pengikat protein repressor. Penempelan suatu protein repressor kepada suatu operator mencegah transkripsi seluruh gen struktural dalam operon yang sama. Suatu gen dengan bentuk pengaturan seperti ini dinamakan dibawah “negative control”. Operon bakteri sering menghasilkan mRNA polycistronik (mengandung informasi pengkode untuk lebih dari satu rantai polipeptida atau molekul

RNA); tapi semua mRNA eukariot sitoplasma (khususnya yang dihasilkan oleh organel) mono-sistronik.

Protein yang diperlukan untuk ekspresi suatu operon disebut aktivator. Protein tersebut dapat berikatan kepada tempat inisiator (initiator sites) yang ditempatkan pada suatu promoter operonnya atau (pada kasus ini disebut enhancer sites) dapat berikatan pada urutan yang jauh dari operon tersebut. Pada saat suatu protein regulator berikatan dengan tempat inisiator atau enhancer menyebabkan transkripsi gen struktural pada operon, proses tersebut dikatakan suatu mekanisme “positive control”. Stimuli yang mengatur respon gen tersebut dapat bermacam-macam mulai dari molekul yang relatif kecil (gula, asam amino) sampai ke senyawa yang relatif besar (contoh, pada eukariot kompleks suatu hormon steroid dan protein reseptornya). Suatu senyawa yang membuat gen melakukan transkripsi (“on”) dikatakan sebagai suatu “inducer”, sebaliknya senyawa yang menghentikan transkripsi disebut suatu “repressor”. Gen “inducible” (dipengaruhi inducer) biasanya terlibat dalam reaksi katabolik (degradasi), seperti pada pemecahan polisakarida menjadi gula sederhana. Gen “repressible” (dipengaruhi repressor) biasanya terlibat dalam reaksi anabolik (sintetik), seperti pada penyusunan asam amino dari bahan bakunya. Jadi, dalam hal yang telah diuraikan di atas terdapat empat kemungkinan kombinasi pengendalian transkripsi dan satu pengendalian sesudah translasi, yaitu :

1). “Negatif inducible Control”

Prototipe kontrol negatif tersebut melalui suatu operon yang dapat diinduksi pada “sistem laktosa” (sistem lac) *E. coli*. ( $\beta$ -galaktosidase merupakan enzim dengan dua fungsi. Pertama berfungsi memecah laktosa menjadi glukosa dan galaktosa. Kedua berfungsi mengubah ikatan 1-4 glukosa dan galaktosa (pada laktosa) menjadi ikatan 1-5 pada alolaktosa. Enzim ini secara normal tidak terdapat pada konsentrasi tinggi pada saat laktosa tidak terdapat dari lingkungan sel. Secara singkat, sesudah penambahan laktosa ke dalam medium dimana tidak ada glukosa, enzim tersebut mulai dihasilkan. Suatu protein transpor yang disebut galactoside permease dibutuhkan untuk efisiensi transpor laktosa melintasi membran sel. Protein ini juga berada dalam konsentrasi tinggi sesudah laktosa tersedia dalam medium. “Sistem laktosa” *E. coli* tipe-liar terdiri dari suatu gen regulator ( $i^+$ ) dan suatu operon yang mengandung suatu urutan promotor ( $p^+$ ), suatu lokus operator ( $o^+$ ), dan tiga gen struktural untuk  $\beta$ -galaktosidase ( $z^+$ ), permease ( $y^+$ ),

dan transasetilase (suatu enzim yang berfungsi dalam metabolisme laktosa dengan tetap tidak terpecah). Mutasi pada setiap lokus tersebut sudah ditemukan.

Terdapat beberapa “overlap” pada daerah promotor dan operator sistem lac tersebut; pada beberapa operon lain lokus operator secara keseluruhan dapat disimpan pada promotor. Operon regulator tersebut secara konstitutif menghasilkan protein represor pada tingkat rendah karena ia memiliki suatu “promotor inefficient”. Sintesis protein tersebut tidak dipengaruhi oleh tingkat laktosa dalam sel. Sebaliknya, promotor normal dari operon lac, secara efisien mengikat RNA polimerase. Pada keadaan tidak terdapat laktosa (noninduced conditions), suatu protein represor aktif (yang dihasilkan oleh  $i^+$ ) berikatan kepada operator  $o^+$ . RNA polimerase tidak dapat berikatan kepada promoter juga tidak membaca urutan operator karena protein represor menempati daerah tersebut. Oleh karena itu, transkripsi ketiga gen struktural pada operon lac dicegah.

Pada saat terdapat laktosa (“induced conditions”), laktosa tersebut secara tidak efisien ditranspor ke dalam sel karena secara normal hanya terdapat sedikit molekul galaktoside permease. Di dalam sel, beberapa laktosa dapat diubah menjadi alolaktosa oleh ( $\beta$ -galaktosidase). Alolaktosa merupakan “inducer” operon lac. Ia berikatan kepada protein repressor dan menyebabkan perubahan konformasional pada protein tersebut yang mengganti tempat yang diikatnya kepada operator. Perubahan konformasional tersebut pada suatu protein sebagai konsekuensi dari pengikatan kepada molekul lain yang disebut “allosteric transformation”. Kompleks “allosteric- repressor” tidak dapat lagi berikatan terhadap operator, dan ia melepaskan DNA. RNA polimerase sekarang dapat membaca operator untuk mentranskripsikan gen struktural pada operon tersebut. Peningkatan sejumlah permease sekarang dapat mentranspor laktosa dalam kuantitas yang besar melintasi membran, dan gula tersebut selanjutnya dipecah oleh ( $\beta$ -galaktosidase). Pada saat laktosa dikosongkan dari medium, protein represor yang baru disintesis tidak akan berpasangan dengan alolaktosa, jadi ia dapat berikatan kepada operator dan menghentikan transkripsi gen struktural pada operon. Selanjutnya, alolaktosa dapat berikatan secara reversibel kepada protein repressor, jadi dalam keadaan rendah laktosa dalam sel, alolaktosa cenderung terpisah dari kompleks repressor-alolaktosa. Bahkan ketika “sistem lac” tersebut ditekan, kadang-kadang protein repressor berdifusi dari operator untuk sementara. RNA polimerase selanjutnya berkemampuan

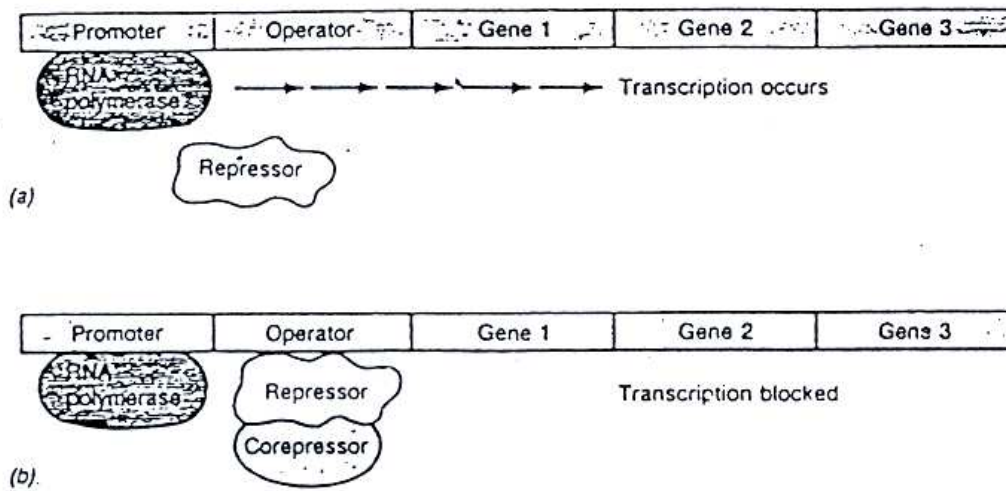
untuk melewati operator terbuka dan mensintesis suatu molekul mRNA polycistronic, jadi menghitung tingkat permease dan ( $\beta$ -galaktosidase yang sangat rendah, yang secara normal terdapat dalam sel. Molekul mRNA bakteri memiliki waktu paruh yang sangat pendek (hanya beberapa menit), jadi sintesis protein berhenti segera setelah sel ditekan (repress). Protein, pada lain pihak sangat stabil, tetapi akan dilarutkan melalui setiap tahap pembelahan sel.

Operon dari gen regulator tersebut (i) pada sistem laktosa hanya mengandung promotor dan gen struktural untuk protein represor. Promotor normalnya sangat tidak efisien, dan hanya sejumlah molekul protein represor-lac yang terdapat dalam sel. Pada operon dari sebagian besar gen regulator pada sistem lain, suatu lokus operator berdekatan dengan promotornya, dan kemungkinan terjadi autoregulator. Protein represor tersebut dibuat oleh operon ini yang berikatan kepada operator miliknya untuk mengakhiri transkripsi pada saat ditingkatkannya konsentrasi molekul represor yang berhubungan.

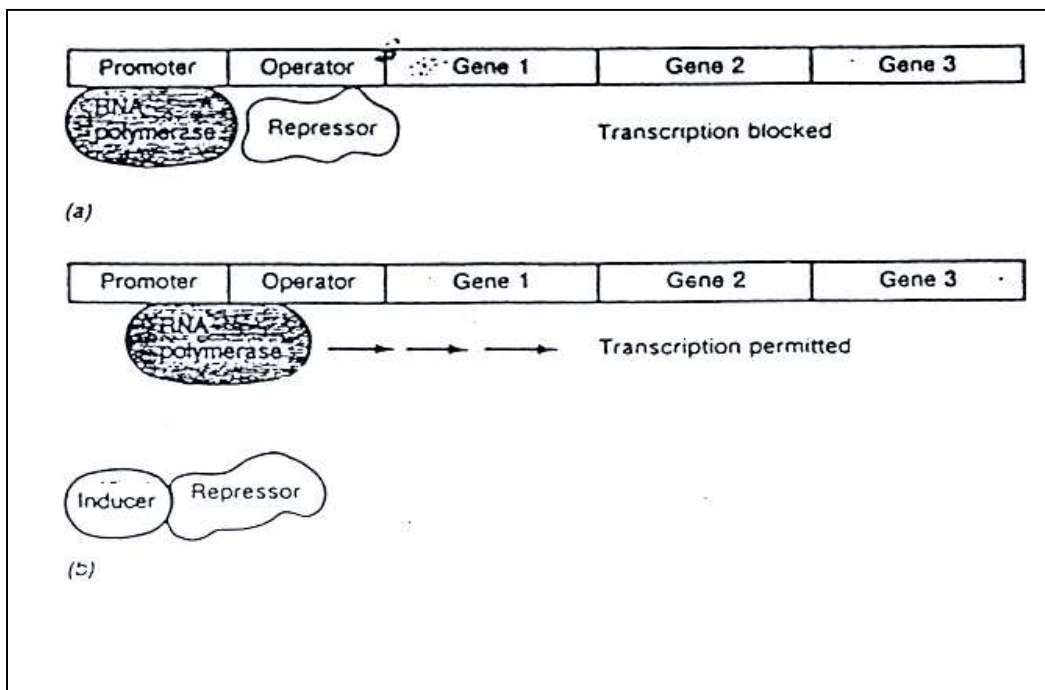
## 2). “Negatif, repressible control”

Sebuah contoh dari suatu operon yang dapat ditekan (“repressible”) melalui kontrol negatif ditemukan pada “sistem triptofan” *E. coli*. Asam amino triptofan disintesis dalam lima tahap, masing-masing tahap diperantarai oleh enzim spesifik. Gen-gen yang dapat melakukan respon untuk lima enzim tersebut disusun dalam suatu operon umum pada perintah yang serupa, sebagai protein enzimatiknya menghasilkan fungsi dalam jalur biosintetik. Gen regulator untuk sistem konstitutif ini mensintesis suatu protein nonfungsional yang disebut “aporepressor”. Pada saat triptofan terdapat secara berlebihan, peran triptofan yang berlebihan tersebut sebagai corepressor. Pengikatan corepressor kepada aporepressor membentuk suatu kompleks represor fungsional. Represor fungsional tersebut berikatan kepada operator trp dan secara terkoordinir menekan transkripsi semua gen struktural dalam operon. Daerah promoter dan operator overlap secara signifikan, dan secara kompetitif mengikat represor aktif dan RNA polimerase. Pada saat triptofan dalam keadaan konsentrasi rendah, triptofan dilepaskan dari aporepressor, dan protein aporepressor melepaskan operator. Selanjutnya RNA polimerase dapat mensintesis mRNA polycistronic untuk kelima enzim dari jalur

triptofan.



Gambar 6.5 Proses represi enzim a) repressor tak dapat menghambat operator sehingga terjadi transkripsi, b) adanya corepresor menghambat transkripsi (Sumber : Brock & Madigan,1991)



Gambar 6.6 Proses induksi enzim a) repressor menghambat kerja enzim RNA polimerase, b) molekul induser mngikat repressor sehingga transkripsi terjadi (Sumber : Brock & Madigan,1991)



Mekanisme regulator kedua juga berada dalam sistem triptofan. Pada ujung 5' mRNA "polycistronic operon" ini, 162 basa mengkode segmen untuk lima enzim tersebut. Daerah ini disebut suatu urutan pemimpin/awal (leader sequence). Bagian dari urutan ini ditranskripsikan menjadi peptida awal /14 asam amino. Pada saat triptofan terdapat dalam keadaan berlebihan, transkripsi operon trp yang sedang beristirahat tersebut dicegah karena RNA polimerase menghasilkan suatu urutan terminasi transkripsi; fenomena ini dikenal sebagai atenuasi (pelemahan/penipisan).

Dari suatu model yang menjelaskan atenuasi diduga bahwa (ketika triptofan ditingkatkan) pergerakan ribosom bakteri diikuti langsung oleh pergerakan RNA polimerase sebagai pensintesis mRNA, dan semua pasangan basa intramolekuler dicegah untuk kontak dengan ribosom pada segmen mRNA. Pada percobaan tanpa ribosom, hanya mRNA awal yang ditranskripsikan dan tidak terjadi translasi. Segmen awal 1 dan 2 dilipat menjadi batang dan lengkungan A dengan pasangan basa yang komplemen, sedangkan segmen 3 dan 4 melipat menjadi batang dan lekukan C yang berperan sebagai suatu sinyal terminasi transkripsi. RNA polimerase mensintesis urasil ke 7 yang diikuti segmen 4, urasil ini dan daerah pasangan 3-4 mRNA yang berdekatan (hanya bagian yang melipat menjadi batang dan lekukan C) membentuk suatu sinyal terminasi yang menyebabkan RNA polimerase dipisahkan secara prematur/sebelum waktunya dari DNA sebelum dapat mentranskripsikan beberapa segmen pengkode DNA untuk lima enzim dari operon trp.

Ketika konsentrasi trp-tRNA teraktifkan dalam keadaan rendah, ribosom mulai mentranslasi daerah 1, dengan cara tersebut dapat mencegah berpasangannya daerah 1 dan 2. Walau bagaimanapun ribosom cenderung menghentikan secara sementara (khususnya pada pasangan kodon triptofan), dan hal ini mengijinkan pasangan daerah 2 dan 3 untuk membentuk suatu struktur batang-dan-lekukan B yang disebut antiterminator.; daerah 3 dan 4 dengan cara tersebut dicegah dari pembentukan sinyal terminasi C, dan RNA polimerase diperbolehkan untuk terus mentranskripsi pada operon trp.

Jika trp-tRNA yang teraktifkan meningkat, ribosom diikuti RNA polimerase didekatnya yang tidak dapat membentuk struktur B antiterminator, dan oleh karena itu

struktur C terminator terbentuk. Jadi, seluruh peptida awal (tapi tidak satupun dari lima enzim dari operon) dapat ditranslasi dari mRNA terakhir secara prematur/ sebelum waktunya.

Mekanisme represor secara kasar mengatur sistem triptofan, sedangkan mekanisme atenuasi mengendalikan konsentrasi triptofan secara halus. Atenuasi operon *trp* juga sensitif terhadap konsentrasi beberapa asam amino selain triptofan. Operon untuk asam amino histidin dan leusin, diduga diatur oleh atenuasi.

Resistensi Terhadap Eritromisin. Kontrol efisiensi translasional oleh struktur sekunder pengganti pada mRNA sudah dicatat pada sistem bakteriofaga dan pada induksi resistensi eritromisin pada *S. aureus* dan *B. subtilis*. Kasus berikut merupakan mekanisme attenuation yang digambarkan di atas, kecuali hal ini merupakan fenomena translasional yang sangat kuat. Seperti dalam atenuasi, suatu peptide pemula dan struktur sekunder pengganti yang terdapat pada ujung 5' mRNA. Pada saat peptide pemula secara efisien ditranslasi, struktur sekunder mRNA menghambat pengikatan ribosom kepada daerah inisiasi urutan pengkode resistensi obat. Namun, pada saat eritromisin terdapat pada taraf rendah, ribosom berhenti pada daerah peptide pemula. Hal ini mencegah pasangan-basa berhubungan dengan kemacetan tempat pengikatan ribosom, jadi protein resisten-obat ditranslasi. Jadi akibatnya adalah resistensi eritromisin diinduksi oleh eritromisin.

### 3). "Positif, Inducible Control"

Sebuah contoh dari mekanisme regulator inducible positif ditemukan dalam operon arabinosa *E. coli*. Arabinosa merupakan gula yang membutuhkan tiga enzim untuk metaolismenya (dikode oleh *araB*, *araA*, dan *araD*). Dua tambahan gen yang diperlukan untuk transpor arabinosa melintasi membran sel, tapi tidak jauh ditempatkan dari pengkode kelompok BAD untuk enzim katabolik. Gen regulator *araC* terbuka terhadap promoter untuk kelompok BAD. Produk protein dari *araC* (*AraC*) merupakan suatu repressor kelompok BAD pada saat substrat arabinosa tidak terdapat. Namun, pada saat terdapat arabinosa, protein tersebut berikatan kepada repressor (*AraC*), membentuk kompleks aktivator yang memudahkan pengikatan RNA polimerase kepada promoter., jadi menginduksi transkripsi operon. Cerita terdahulu merupakan penyederhanaan dari

kompleksitas yang selanjutnya diketahui sebagai regulasi dari sistem arabinosa. Sebagai contoh, “cyclic adenosine monophosphat” (cAMP) dan “catabolite gene activator protein” (CAP); juga dikenal sebagai protein reseptor cAMP,CRP juga dilibatkan dalam regulasi sistem arabinosa.

#### 4). “Multiple Control”

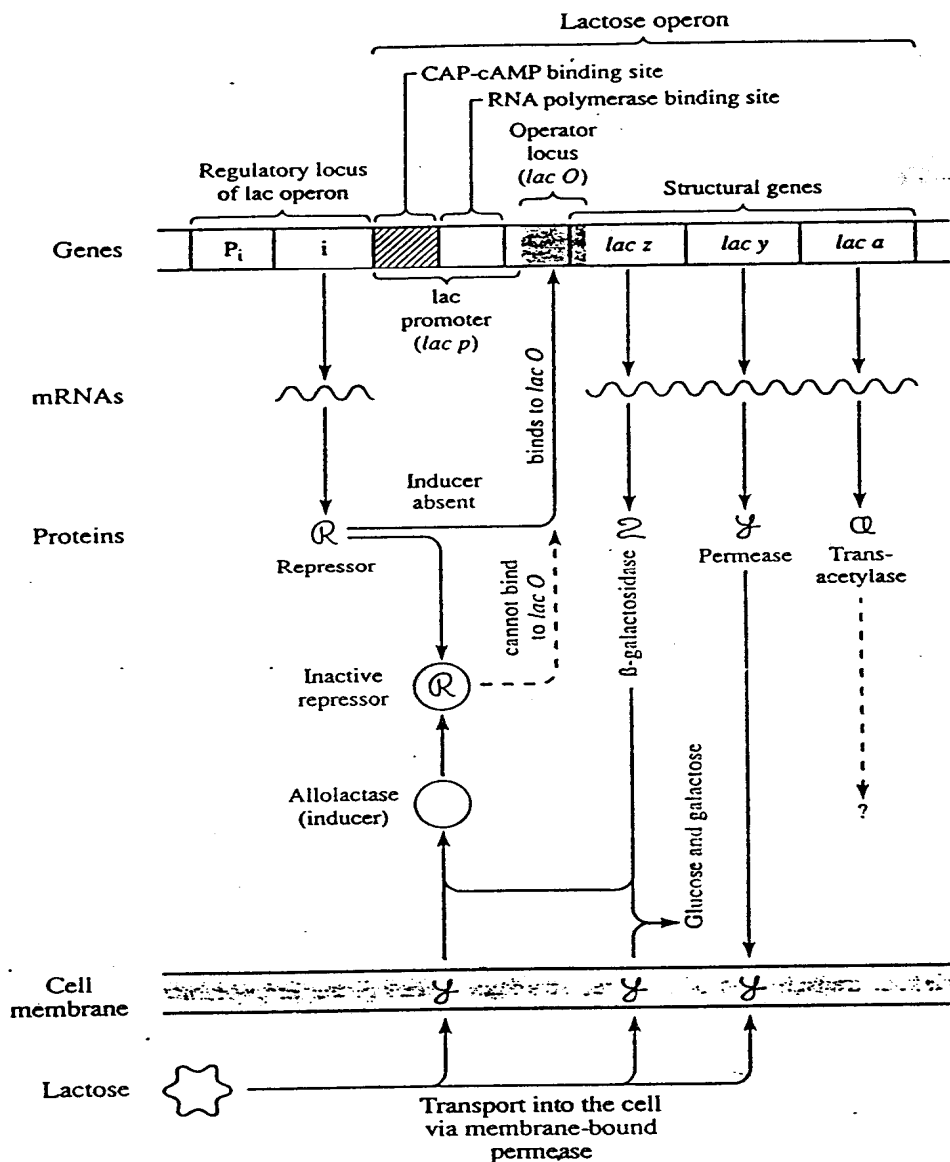
Suatu lokus genetik dapat diatur oleh lebih dari satu mekanisme. Pada saat glukosa tersedia, tidak dibutuhkan pemecahan gula lain, dan gen pengkode-enzim pemecah gula lain tersebut dihentikan sementara. Sebagai contoh, jika glukosa tidak terdapat dan laktosa terdapat dalam medium, operon lac akan diinduksi. Tapi jika glukosa terdapat, induksi operon lac tidak terjadi. Fenomena ini pada awalnya disebut ‘glucose effect’; sekarang diketahui sebagai ‘catabolite repression’ Kompleks dari peran dua molekul .sebagai aktifvator dalam repression katabolit, dinamakan cAMP dan CAP. Dalam promoter lac tersebut, terdapat tempat untuk mengikat kompleks cAMP-CAP. RNA polimerase hanya berikatan secara efektif kepada promoter jika kompleks cAMP-CAP juga berikatan pada tempat ini. Jika tingkat glukosa meningkat dalam sel, sejumlah cAMP menurun dan kompleks cAMP-CAP kurang tersedia untuk mengaktifkan operon lac. CAP dihasilkan pada tingkat rendah dengan lokus genetik miliknya. Enzim adenilat siklase (“adenylcyclase”) merubah ATP menjadi cAMP. Adenilat siklase dapat mengaktifkan menjadi “first messenger” melalui interaksi reseptor sel spesifik dengan target molekulnya; cAMP selanjutnya menghasilkan “second messenger” yang dapat mengatur suatu baterai gen secara terkoordinir.

#### 5). “Post-translation Control”

Expresi gen dapat diatur sesudah protein disintesis (posttranslation control). “Feedback inhibition” (penghambatan produk-akhir) merupakan mekanisme regulasi yang melibatkan penghambatan aktivitas enzimatik. Produk akhir dari suatu jalur sintetik (biasanya suatu molekul kecil seperti asam amino) dapat bergabung secara longgar (jika dalam konsentrasi tinggi) dengan enzim pertama dalam jalur tersebut. Perpaduan ini tidak terjadi pada tempat katalitik enzim, tapi ia merubah struktur tertier atau kuartener enzim dan karena itu menonaktifkan tempat katalitik. Transformasi alosterik enzim ini

memblok aktivitas katalitik dan mencegah hasil yang berlebihan produk akhir dan metabolit perantara dari jalur tersebut.

Sebagai contoh, produk akhir isoleusin pada *E coli*, ketika terdapat dalam konsentrasi tinggi, bersatu dengan enzim pertama dalam jalur sintetiknya dan selanjutnya menghambat seluruh jalur sampai isoleusin menurun ke tingkat normal melalui pemakaian seluler. Senyawa perantara diberi nomor dalam kotak; e = enzim; g = gen.



Gambar 6.7 Diagram elemen utama pengontrol laktosa operon

(Sumber : Brock & Madigan,1991)

**Degradasi Protein.** Mekanisme regulasi protease intraseluler tidak diketahui secara jelas, tetapi diduga mendukung “posttranslational control”. Sel bakteri *E. coli* paling sedikit mengandung delapan protease yang berbeda, termasuk protease lon, suatu enzim tergantung-ATP yang dapat mendegradasi protein abnormal (termasuk protein yang rusak dan protein mutan). Pertimbangan dari informasi yang tersedia secara terbatas, protease tersebut dapat memainkan beberapa peran penting dalam regulasi ekspresi gen..

Sejumlah kasus induksi protease sudah dicoba secara terperinci. Pertama induksi aktivitas protease selama respon heat-shock. Salah satu dari kondisi yang dapat memicu respon tersebut adalah produksi protein abnormal, dan suhu tinggi yang secara umum mengakibatkan denaturasi protein seluler. Selanjutnya degradasi dan denaturasi protein dapat menjadi suatu fungsi penting dari respon heat-shock. Protein lon diinduksi untuk taraf tinggi selama respon heat-shock, meskipun dihasilkan juga dalam taraf rendah selama pertumbuhan normal sel *E. coli*. Sebagai tambahan, beberapa protein lain diinduksi oleh respon heat-shock dilibatkan dalam degradasi protein melalui jalur bebas dari protease lon.

Contoh ke dua terjadi selama sporulasi *B. subtilis*. Proses pembentukan endospora membutuhkan sintesis beberapa protein baru dan perubahan secara drastis keseluruhan komposisi protein sel. Untuk menyempurnakan pergantian secara besar-besaran ini protease terinduksi mendegradasi suatu bagian yang besar dari protein seluler vegetatif.

Kasus ke tiga melibatkan respon SOS, yang dipicu oleh mekanisme posttranslational. Protein recA sel bakteri merupakan protein spesifik yang aktif hanya pada saat sel mengalami kerusakan DNA. Aktivitas protease kelihatan menjadi terinduksi oleh pengikatan oligomer DNA pendek dan menyebabkan kerusakan suatu repressor penting. Inaktivasi repressor, dalam hal ini, menyebabkan induksi transkripsional berbagai protein seluler yang memperbaiki kerusakan DNA dan menghambat pembelahan sel menyediakan waktu untuk fungsi perbaikan. Beberapa protein ini akan dirusak pada saat perbaikan sudah selesai, atau sel tidak dapat kembali tumbuh normal.

Protease lon membantu tahap ini, mendegradasi beberapa protein terinduksi untuk mengakhiri respon SOS.

Setiap faktor virulensi diatur oleh gen masing-masing yang mengekspresikan protein struktural (penyusun sel mikroorganisme), protein regulator, dan protein nonstruktural (enzim). Ekspresi gen virulensi tersebut dapat terjadi secara konstitutif (tidak memerlukan induksi) atau dapat secara induktif (membutuhkan induksi) dari molekul sinyal yang menyebabkan suatu gen dapat aktif dan/atau berhenti ber-ekspresi. Molekul sinyal tersebut dapat berupa protein, atau senyawa lain yang diinginkan (“attractant”) atau tidak diinginkan (“repellent”), yang berada dalam lingkungan sel mikroorganisme.

Jadi setiap mikroorganisme khususnya bakteri dapat meng-ekspresikan gen-gen yang dimilikinya secara konstitutif berdasarkan sifat genetisnya (misalnya, flagela, pili, protein permukaan, kapsul, enzim IgA dan IgG protease) biasanya berperan dalam invasi dan kolonisasi bakteri pada tubuh inang, sedangkan ekspresi gen induktif tergantung keadaan lingkungan sel mikroorganisme. Biasanya gen-gen yang bersifat induktif ber-ekspresi dalam keadaan kekurangan nutrisi (enzim asam amino deaminase pada *Proteus* dapat membentuk siderophore untuk mengambil Fe dari lingkungan; enzim  $\beta$ -galaktosidase pada *E.coli* memecah laktosa jika glukosa dalam sel tidak tersedia) atau jika lingkungan dapat mengancam kelangsungan hidup mikroorganisme (misalnya, urease pada *Helicobacter pylori* dibentuk untuk meningkatkan pH lambung; perubahan protein permukaan pada strain *Pneumoniae* menyebabkan bakteri tersebut resisten terhadap antibiotik betalaktam; enzim  $\beta$ -laktamase dibentuk oleh bakteri yang dapat memecah antibiotik  $\beta$ -laktam).

## **F. PERBAIKAN KERUSAKAN DNA**

Sebagian DNA yang rusak diperbaiki sebelum menyebabkan perubahan menjadi mutasi genetik yang diturunkan. Semua organisme, termasuk bakteri memiliki jalur yang benar-benar kompleks dan efisien untuk memperbaiki berbagai kerusakan pada DNA. Sedangkan *E. coli* tipe-liar secara efisien dapat bertahan dari dosis UV yang sangat tinggi, mutan tanpa kemampuan untuk memperbaiki kerusakan karena UV dibunuh oleh dimer pirimidin tunggal. Perbaikan dimer tersebut menggambarkan strategi umum dari

jalur perbaikan DNA utama. Perlu dicatat bahwa pada sebagian besar jalur perbaikan kemungkinan hanya karena dobel-heliks alami DNA. Cetakan rantai yang rusak tersebut biasanya digunakan untuk mengganti informasi yang hilang pada saat DNA rusak.

Perbaikan DNA yang rusak dapat dilakukan dengan cara :

### 1. Pembalikan Langsung Dari Kerusakan (“Direct Reversal of Damage”)

Terdapat dua jalur yang sudah difahami untuk memperbaiki kerusakan DNA secara langsung dengan suatu mekanisme pembalikan tunggal. Salah satunya adalah fotoreaktivasi, melibatkan suatu flavoprotein yang disebut fotoliase yang merubah dimer siklobutan kembali menjadi unsur pokoknya yaitu pirimidin. Peran fotoliase membutuhkan cahaya, jadi jalur ini dapat dihentikan dengan penginkubasian bakteri dalam kegelapan. Fotoliase *E. coli* dikode oleh gen *phr*, dan aktivitasnya yang sama dapat dideteksi pada beberapa organisme lain.

Mekanisme pembalikan langsung kedua berperan pada “alkyl-substituted DNA” dan dikatalisis oleh suatu kelompok enzim yang disebut metiltransferase. Gen ada *E. coli* pengkode suatu protein yang dapat menerima grup metil secara langsung dari DNA, dengan cara demikian dapat membalikkan paling tidak tiga macam kerusakan alkilasi yang berbeda (termasuk 6-metilguanin, lesi premutagenik utama). Grup metil ditransfer ke satu dari dua residu sistein pada protein. Secara menyolok, residu sistein termetilasi tidak dapat dibalikkan, jadi metiltransferase berperan dalam suatu cara “bunuh diri”.

Protein ada juga mengendalikan respon adaptif, suatu jaringan pengatur yang dilibatkan pada perbaikan kerusakan alkilasi. Alkilasi satu dari residu sistein merubah protein ada menjadi suatu positif regulator yang mengaktifkan transkripsi paling sedikit tiga operon. Satu dari operon pengkode ada oleh karena itu alkilasi protein ada menghasilkan banyak protein ada. Operon kedua termasuk suatu “methylated-base-specific DNA glycosylase” yang menghancurkan kerusakan menjadi suatu jalur perbaikan eksisi. Minimal dua jalur dari perbaikan alkilasi diinduksi oleh respon adaptif, memulai suatu peningkatan yang besar dalam pertahanan hidup sesudah pemberian dengan zat penyebab alkilasi.

### 2. Perbaikan Eksisi/pengeluaran (“Excision Repair”)

Jalur perbaikan eksisi lazim dalam semua organisme yang diteliti dan merupakan mekanisme umum terpenting dari perbaikan DNA. Seluruh proses perbaikan eksisi melibatkan pemotongan satu rantai DNA dekat kerusakan, pengeluaran bagian rantai yang mengandung basa yang rusak, resintesis melalui gap, dan selanjutnya ligasi/menyambung untuk menyimpan heliks ganda yang utuh. Serangkaian kompleks reaksi tersebut membutuhkan bantuan beberapa protein yang sama yang dilibatkan pada replikasi genom, dengan DNA polimerase I biasanya menyelenggarakan sintesis pengganti pada *E. coli*. Fokus di sini ialah pada reaksi perbaikan eksisi awal, dan dikatalisis oleh beberapa kompleks protein yang mengenali bentuk kerusakan tertentu.

Proses perbaikan eksisi dari dimer siklobutan terinduksi-UV pada *E. coli* dimulai dengan peran suatu kompleks endonuklease yang dikode oleh tiga gen, *uvrA*, *uvrB*, dan *uvrC*. Nuklease tersebut mengenal lesi DNA, memotong/insisi rantai yang rusak pada setiap sisi lesi, dengan cara demikian mengeluarkan oligosakarida dari basa 12 atau 13 yang mengandung lesi. Resintesis menggunakan rantai komplemen sebagai cetakan dan penggabungan akhir melengkapi proses perbaikan tersebut. Bukti yang ada sekarang enzim tersebut dapat berfungsi bersama, dengan terkoordinir reaksi insisi dan resintesis. Nuklease *uvrABC* mengenali kerusakan yang terinduksi-UV dan secara kovalen terserang daerah lesi, kemungkinan dengan penggunaan suatu gross perturbation pada DNA.

### 3. Perbaikan “Bypass” dan Sistem SOS

Suatu rangkaian khusus dari reaksi perbaikan dibawa oleh protein yang secara khusus diinduksi dalam merespon bentuk kerusakan DNA tertentu. Dalam respon terhadap kerusakan DNA, *E. coli* menginduksi suatu regulon global yang mempengaruhi bermacam-macam proses termasuk perbaikan DNA, mutagenesis, rekombinasi, dan pembelahan sel. Dua kunci elemen pengatur pada regulon SOS ini adalah produk dari gen *recA* dan *lexA*. Protein *recA* merupakan enzim multifungsional yang terlibat dalam beberapa reaksi penting yang melibatkan DNA dan juga berfungsi sebagai protease pada saat terjadi kerusakan DNA. Proteolisis terinduksi melakukan degradasi protein *lexA*, yang secara normal merupakan repessor semua operon pada regulon SOS. Satu dari gen tersebut dikendalikan *lexA* merupakan *recA* dengan sendirinya, dan oleh karena itu



sintesis protein recA diinduksi oleh kerusakan DNA dalam suatu putaran balik (feedback loop). Aktivasi fungsi protease dari protein recA tidak secara lengkap difahami. Bukti yang sekarang ada menunjukkan bahwa beberapa sinyal yang cukup, dan termasuk lesi DNA tertentu (seperti fotoproduk UV), oligosakarida DNA pendek yang dihasilkan dari perbaikan DNA, dan rantai-tunggal DNA yang dihasilkan dari penghambatan replikasi kromosom. Hal ini terhitung untuk fakta bahwa respon SOS diinduksi oleh berbagai pemberian mutagenik dan oleh kondisi nonmutagenik yang menghentikan replikasi.

Protein yang diinduksi pada regulon SOS dilibatkan dalam berbagai proses yang meningkatkan pertahanan hidup dalam kondisi lingkungan yang ekstrim. Beberapa protein yang dilibatkan dalam perbaikan eksisi (produk uvrABC) dan dua jalur perbaikan baru, secara langsung akan menghilangkan kerusakan kromosom. Satu dari jalur ini menimbulkan banyaknya mutasi, dan dapat meningkatkan viabilitas genetik dalam menghadapi tekanan lingkungan yang ekstrim. Suatu penghambat pembelahan sel juga diinduksi, diduga memberi perubahan pada sel tersebut untuk memperbaiki seluruh lesi sebelum dipisahkan.

Satu dari jalur perbaikan yang terinduksi disebut perbaikan rekombinasi atau "daughter-strand-gap repair" dan melalui cara sebagai berikut. Pada saat replikasi terjadi secara normal mereaksikan tempat kerusakan DNA (contoh, dimer pirimidin), secara singkat meloncati segmen DNA dan mulai mensintesis lagi cetakan DNA. Hal tersebut meninggalkan suatu gap dari rantai-tunggal DNA ("parental strand") termasuk lesi DNA. Karena pembelahan sel dihambat, dua kromosom yang dihasilkan oleh replikasi akan dikandung dalam sel yang sama, daughter-strand-gap repair melibatkan splicing daerah yang lengkap dari masing-masing DNA secara bersama-sama membentuk kromosom yang tidak rusak. Jalur perbaikan ini merupakan suatu bentuk khusus dari rekombinasi dan seperti reaksi rekombinasi lain secara kritis tergantung protein recA.

**Perbaikan "Error-prone"**. Jalur terinduksi kedua adalah luar biasa karena sifat mutagenesisnya dan oleh karena itu disebut error-prone repair. Meskipun mekanisme rinci perbaikan error-prone tidak tentu, proses tersebut mungkin menghasilkan mutasi melalui penggandaan cetakan DNA yang rusak dengan sedikit atau tidak memperhatikan aturan normal pasangan basa. Sebagian besar mutasi yang dihasilkan terjadi pada tempat lesi (mutagenesis target), dengan sendirinya lesi terlihat memicu spesifisitas relaxed replikasi.

Bukti yang ada sekarang menunjukkan bahwa protein recA multifungsional berikatan secara khusus kepada tempat kerusakan UV pada DNA rantai-tunggal, dan sejumlah penelitian memperlihatkan bahwa recA dibutuhkan untuk menginduksi mutagenesis. Pada model yang sederhana, protein recA berikatan kepada tempat kerusakan, merubah satu DNA polimerase menjadi suatu bentuk dengan spesifisitas relaxed. Sebagai tambahan, DNA polimerase secara normal tidak mereplikasi melalui suatu daerah yang rusak pada DNA.

Jalur perbaikan error-prone tidak terbatas pada bakteri karena sel hewan memperlihatkan bukti yang jelas dari induksi perbaikan DNA dan mutagenesis. Peristiwa penyebarluasan jalur ini menimbulkan beberapa dugaan yang menarik. Mutagenesis bakteri diinduksi oleh berbagai kondisi yang merusak DNA dan juga kondisi yang secara singkat memblok replikasi. Oleh karena itu mutagenesis terinduksi dapat digambarkan sebagai mekanisme untuk menurunkan keragaman genetik pada waktu stress ekstrim. Spesiasi yang sangat cepat ("saltatory evolution") diduga dari berbagai pendekatan genetik dan paleobiologi, dan hal ini kemungkinan bahwa jalur mutagenesis terinduksi memainkan peranan. Jalur perbaikan "error-prone" dari sel mammalia juga memainkan beberapa peran penting dalam karsinogenesis, karena beberapa mutagen yang sama yang menginduksi perbaikan error-prone (pada bakteri) ialah di antara karsinogen kuat.

## **RANGKUMAN**

Genom bakteri merupakan materi genetik yang mengatur pewarisan sifat dalam suatu sel bakteri. Genom bakteri terdiri dari DNA kromosom, RNA dan Plasmid serta materi genetik tambahan lainnya. Plasmid merupakan materi genetik ekstrakromosomal yang umumnya berbentuk sirkuler dan dapat bereplikasi sendiri. Plasmid ini berperan dalam fungsi-fungsi khusus, seperti dalam resistensi obat, penghasil toksin, penghasil enzim-enzim khusus dll.

Sintesis protein pada bakteri pada prinsipnya sama dengan sintesis protein yang terjadi pada sel eukariot. Pada sel bakteri karena tidak memiliki membran ini, maka proses translasi diikuti langsung dengan proses translasi tanpa mengalami proses splicing.

Pengaturan sintesis protein pada sel bakteri dilakukan oleh sistem regulator yaitu lac. operon atau typ.operon. Pengaturan sintesis protein ini melibatkan gen-gen regulator dan gen struktural yang bekerja dalam satu kesatuan.

### **PERTANYAAN DAN TUGAS**

1. Jelaskan karakteristik materi genetik bakteri jika dibandingkan dengan materi genetik sel eukariot !
2. Bagaimanakah mutasi dapat terjadi ? Apa keuntungan dan kerugiannya bagi sel bakteri ?
3. Bagaimanakah proses sintesis protein pada sel bakteri ? Bandingkan dengan sintesis protein yang terjadi pada sel eukariot !
4. Jelaskan apa yang dimaksud dengan sistem lac. Operon ! Apa fungsi sistem tersebut ?
5. Bagaimana proses perbaikan DNA yang rusak pada sel bakteri ? Jelaskan !

### **ISTILAH PENTING**

- genom
- nukleoid
- plasmid
- konjugasi
- transduksi
- transformasi
- transposisi
- transposon
- lac. operon
- “inducible control”
- repressor
- mutasi titik