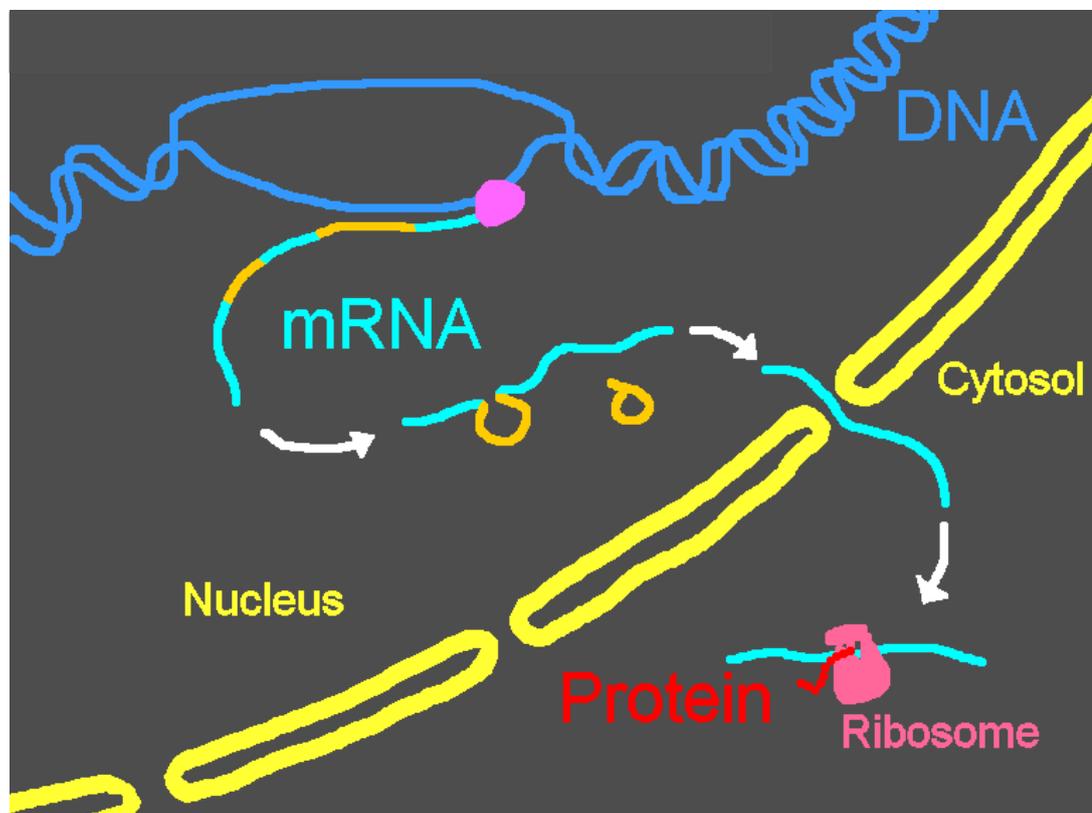




# Biologi Molekuler

## REGULASI EKSPRESI GEN



Prof. Dr. Ernawati Sinaga, MS, Apt.

FAKULTAS BIOLOGI  
UNIVERSITAS NASIONAL

2010

## KATA PENGANTAR

Biologi Molekuler merupakan salah satu mata kuliah yang diajarkan di Fakultas Biologi Universitas Nasional. Dari namanya dapat difahami bahwa Biologi Molekuler adalah bidang bahasan biologi di tataran molekuler. Bidang bahasan Biologi Molekuler bertumpang tindih dengan beberapa bidang bahasan biologi lainnya, terutama biokimia dan genetika, namun Biologi Molekuler lebih menitikberatkan pada pemahaman interaksi antara berbagai sistem di dalam sel, terutama interaksi antar berbagai molekul yang berperan dalam ekspresi gen dan bagaimana interaksi ini diregulasi. Dapat dikatakan bahwa Biologi Molekuler adalah bahasan lanjutan dan lebih mendalam dari biokimia yang lebih dititikberatkan pada ekspresi gen dan regulasinya. Pengetahuan tentang Biologi Molekuler merupakan dasar dari berbagai penerapan bioteknologi di berbagai bidang, baik lingkungan, kesehatan, pertanian, dan lain sebagainya.

Buku-buku ajar berbahasa Indonesia untuk bidang ini masih sangat sedikit. Oleh sebab itu untuk membantu dan lebih mempermudah mahasiswa memahami Biologi Molekuler diperlukan naskah-naskah tutorial berbahasa Indonesia dengan lingkup bahasan tertentu yang diperlukan. Dalam kerangka pemikiran itulah Naskah Tutorial Biologi Molekuler dengan topik bahasan Regulasi Ekspresi Gen ini disusun. Naskah Tutorial ini disusun berdasarkan beberapa buku bacaan baku bidang Biokimia, Biologi Sel dan Biologi Molekuler yang membahas topik dimaksud.

Semoga Naskah Tutorial Biologi Molekuler dengan topik bahasan Regulasi Ekspresi Gen ini bermanfaat dalam membantu mahasiswa, khususnya mahasiswa Fakultas Biologi Universitas Nasional yang sedang mengambil mata kuliah tersebut. Di samping uraian teori, dalam naskah tutorial ini juga disertakan beberapa soal yang diharapkan dapat membantu mahasiswa dalam mempelajari materi tersebut.

Tiada gading yang tak retak. Naskah Tutorial ini juga tentu penuh dengan kelemahan dan kekurangan, untuk itu kami mohon maaf yang sebesar-besarnya. Kami juga berharap para pembaca, para mahasiswa dan teman Sejawat berkenan untuk memberikan kritik dan saran yang membangun untuk perbaikan naskah ini di masa mendatang.

Billahittaufik wal Hidayah  
Wassalamualaikum wr wb

Jakarta, Februari 2010  
Ernawati Sinaga

**KATA SAMBUTAN**  
**DEKAN FAKULTAS BIOLOGI UNIVERSITAS NASIONAL**

Kami menyambut gembira terbitnya Naskah Tutorial untuk Mata Kuliah Biologi Molekuler, khusus untuk bahasan Regulasi Ekspresi Gen, yang ditulis oleh Sejawat Prof. Dr. Ernawati Sinaga, MS., Apt. Naskah Tutorial ini akan melengkapi koleksi bahan ajar di Fakultas Biologi Universitas Nasional, yang akan mempermudah dan membantu mahasiswa untuk mempelajari mata-mata kuliah yang diajarkan di fakultas Biologi Universitas Nasional, sehingga kompetensi yang sudah ditetapkan akan lebih mudah dicapai.

Kami berharap Naskah Tutorial ini akan lebih disempurnakan di masa mendatang, sehingga suatu saat nanti akan dapat diterbitkan sebagai sebuah Buku Ajar Mata Kuliah Biologi Molekuler berbahasa Indonesia yang ditulis oleh pengajar Indonesia untuk mahasiswa di seluruh Indonesia, tidak terbatas di Fakultas Biologi Universitas Nasional saja.

Kami mengucapkan terima kasih kepada Sejawat Penulis, semoga karya ini bermanfaat bagi pembelajaran Biologi Molekuler, khususnya di Fakultas Biologi Universitas Nasional.

Jakarta, Februari 2010  
Dekan Fak. Biologi UNAS,

Drs. Imran S.L.Tobing, MSi.

## DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	1
KATA SAMBUTAN	2
DAFTAR ISI	3
PENDAHULUAN	4
MATERI GENETIK	6
Struktur gen	6
Struktur DNA	9
EKSPRESI GEN	14
Transkripsi	14
Translasi	19
REGULASI EKSPRESI GEN PROKARIOTIK	25
Operon lac	26
Operon trp	28
REGULASI EKSPRESI GEN EUKARIOTIK	32
Regulasi Transkripsi	32
<i>Cis-acting Sequences</i>	34
<i>Trans-acting Factors</i>	35
SOAL BANTU BELAJAR	36
DAFTAR PUSTAKA	38

## PENDAHULUAN

Semua sel dalam satu individu organisme mengandung perangkat DNA atau perangkat genetik yang sama. Sel-sel dari berbagai jaringan yang menyusun jantung, hati, paru-paru, ginjal, otak, kulit, tulang, dan lain-lain memiliki DNA yang sama di dalam nukleusnya. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa setiap sel dalam tubuh individu sebuah organisme menyimpan informasi dan mengkode semua protein dan RNA yang diperlukan dalam kehidupan organisme tersebut. Tetapi pada kenyataannya, sel-sel tersebut memproduksi protein-protein yang berbeda-beda satu sama lain. Banyak protein-protein yang diproduksi sel-sel kulit tidak diproduksi oleh sel-sel otak, demikian pula sebaliknya. Bahkan sel yang sama dapat memproduksi protein yang berbeda pada saat dan kondisi lingkungan yang berbeda.

Hal ini disebabkan adanya pengaturan atau regulasi ekspresi gen di dalam sel setiap organisme. Regulasi gen ini yang menyebabkan ada sel-sel yang secara spesifik memproduksi sebuah protein tertentu yang tidak diproduksi oleh sel-sel lain. Misalnya, sel-sel beta Langerhans kelenjar pankreas memproduksi insulin, sebuah hormon yang sangat diperlukan dalam mentransportkan glukosa masuk ke dalam sel. Tidak ada sel lain di dalam tubuh individu tersebut yang dapat memproduksi insulin selain sel-sel beta Langerhans kelenjar pankreas, padahal informasi genetik atau gen insulin terdapat dalam semua sel di dalam tubuh individu tersebut. Contoh lain, hemoglobin, sejenis protein yang berperan sebagai pembawa molekul-molekul Oksigen di dalam darah, hanya disintesis di dalam sel-sel retikulosit, sel-sel yang akan berkembang menjadi sel-sel darah merah. Tidak ada jenis sel lain yang memproduksi hemoglobin. Mengapa hal ini bisa terjadi? Mengapa sel-sel otot jantung atau sel-sel epidermis kulit tidak mengekspresikan gen insulin padahal sel-sel tersebut memiliki gen insulin? Mengapa sel-sel tubuh selain retikulosit tidak mengekspresikan gen hemoglobin padahal sel-sel tersebut memiliki gen hemoglobin. Ini yang disebut dengan regulasi ekspresi gen pada saat diferensiasi sel.

Ada juga sel-sel yang memproduksi protein tertentu hanya pada saat dan kondisi tertentu saja. Misalnya sel-sel bakteri *Escherichia coli*, akan memproduksi enzim-enzim yang diperlukan untuk katabolisme laktosa apabila di dalam medium tempat tumbuh bakteri terdapat laktosa. Ketika di dalam medium tidak ada laktosa, sel-sel *E. coli* tersebut tidak memproduksi enzim-enzim katabolisme laktosa sebagaimana yang tadi disebutkan. Mengapa hal ini bisa terjadi? Mengapa sel-sel bakteri yang sama dapat berubah ekspresi gennya pada situasi lingkungan yang berbeda? Inilah yang disebut regulasi ekspresi gen. Sel bakteri dapat mengatur ekspresi gennya sesuai kebutuhan. Dalam sel bakteri terdapat sistem yang dapat mengatur kapan ekspresi gen tertentu “on” dan kapan “off”.

Pada sel manusia juga terdapat pengaturan “on-off” sebagaimana pada sel bakteri *E. coli*. Gen dalam sel yang sama dapat mengubah ekspresinya sebagai respon signal dari luar, misalnya senyawa kimia tertentu atau hormon tertentu. Hormon glukokortikoid, misalnya, akan merangsang sel-sel hati (hepar) untuk mensintesis enzim tirosin aminotransferase. Enzim ini bekerja mengubah tirosin menjadi glukosa. Hormon ini hanya akan bekerja pada saat tubuh kekurangan glukosa. Pada saat kadar glukosa darah cukup, maka gen yang mengkode enzim tirosin aminotransferase akan *off*.

Regulasi ekspresi gen merupakan sarana bagi sel untuk mengontrol struktur dan fungsi, serta merupakan dasar dalam diferensiasi sel, morfogenesis, serta fleksibilitas dan adaptabilitas masing-masing makhluk hidup. Regulasi ekspresi gen juga merupakan substrat untuk terjadinya perubahan dalam evolusi, karena pengendalian waktu, lokasi, dan jumlah ekspresi gen dapat mempengaruhi fungsi gen secara signifikan, baik pada sel maupun organisme multiseluler. Regulasi ekspresi gen terjadi baik pada sel-sel eukariotik maupun prokariotik, namun regulasi ekspresi gen pada sel-sel eukariotik bersifat lebih kompleks.

## **MATERI GENETIK**

Materi genetik adalah bahan-bahan atau materi yang berperan dalam penyampaian informasi genetik di dalam sel. Zat-zat ini memiliki peran yang sangat penting dalam memelihara dan menentukan struktur dan sifat sel, yang tentu juga akan menentukan sifat dan struktur setiap makhluk hidup. Informasi genetik yang menentukan sifat atau karakteristik seseorang atau suatu organisme tertentu tersimpan di dalam molekul DNA. Molekul DNA yang panjang ini tersusun oleh puluhan ribu gen, setiap gen merupakan sandi genetik untuk setiap protein yang diproduksi tubuh. Di samping bagian-bagian yang merupakan sandi, di dalam molekul DNA juga terdapat bagian-bagian bukan sandi, tetapi memiliki peran penting dalam pengendalian ekspresi gen. Keseluruhan informasi genetik dalam tubuh suatu makhluk hidup disebut genom. Pada organisme eukariotik, genom berupa molekul DNA yang panjang ini terbagi menjadi beberapa gulungan atau gelondong yang disebut kromosom. Di dalam setiap kromosom terdapat ribuan gen.

### **Struktur gen**

Struktur gen prokariota berbeda dengan eukariota. Genom prokariota umumnya hanya tersusun dari satu kromosom yang besar, terbentuk dari DNA untai ganda yang berbentuk sirkular, berbeda dengan genom eukariota yang memiliki beberapa kromosom linier. Genom prokariota umumnya hanya mengandung sedikit bagian non-sandi (non-coding sequence) yaitu kurang dari 10%, sedangkan genom dari sel eukariota umumnya mengandung jauh lebih banyak bagian non-sandi, yaitu sekitar 90%.

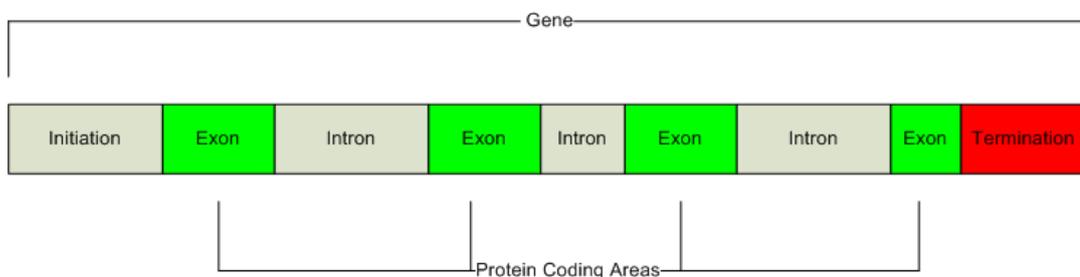
Struktur gen prokariota umumnya sangat sederhana, terdiri dari sekuens sandi (coding sequence) dan sekuens regulator yang mengendalikan ekspresi gen tersebut, yang disebut bagian promotor. Bagian promotor ini seringkali merupakan sekuens nukleotida TATA yang berulang, sehingga kerap disebut kotak TATA atau TATA box (Gambar 1). Bagian promotor ini menentukan dimana gen mulai

ditranskripsikan. Sekuens sandi, termasuk di dalamnya sekuens dimana transkripsi dimulai dan diakhiri, seringkali disebut sebagai Rangka pembacaan terbuka atau Open Reading Frame (ORF). Pada prokariota sangat jarang ditemukan ORF yang panjang, beberapa diantaranya bahkan sangat pendek, kurang dari 60 pasang basa.



Gambar 1. Struktur gen prokariota. TATA box adalah bagian promoter, yang menentukan dimana gen mulai ditranskripsikan.

Ukuran genom eukariota jauh lebih besar dari pada prokariota, strukturnya pun lebih kompleks dibandingkan prokariota. Hal ini disebabkan karena sebagian besar gen eukariota, terutama sel-sel mamalia, bersifat diskontinyu, artinya bagian-bagian sandi seringkali terpisah oleh sekuens-sekuens non-sandi. Bagian sandi pada gen eukariota ini disebut ekson (EXpressed sequence), sedangkan bagian non-sandi disebut intron (INtervening sequences). Umumnya intron memisahkan ekson menjadi bagian-bagian sandi yang memiliki domain fungsi yang berbeda (Gambar 2).

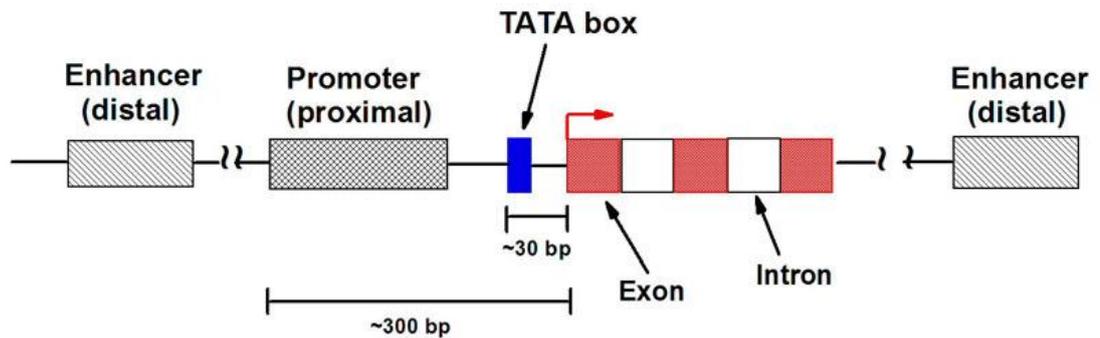


Gambar 2. Struktur gen eukariota. Bagian sandi (ekson) terpisah menjadi beberapa bagian diselingi oleh bagian non-sandi (intron)

Ekson umumnya memiliki ukuran jauh lebih kecil dibandingkan intron. Sekuens intron dapat mencapai 20.000 pasang basa. Sekuens intron memiliki beberapa karakter umum, antara lain sebagian besar sekuens intron diawali dengan sekuens GT (pada RNA: GU) dan diakhiri dengan sekuens AG.

Pada sel-sel prokariota bagian intron ini tidak ditemukan. Pada manusia, hampir semua gennya memiliki intron, kecuali gen histon. Sebagai aturan umum, makin tinggi tingkat evolusi atau kompleksitas suatu organisme, makin tinggi pula proporsi gen yang memiliki intron. Pada sel eukariota tingkat rendah, misalnya kapang dan cendawan, proporsi intronnya lebih rendah dibandingkan manusia dan hewan mamalia lainnya.

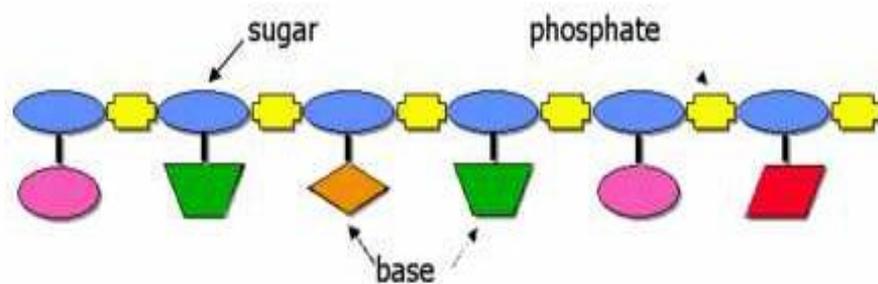
Kompleksitas gen eukariota makin meningkat dengan adanya bagian-bagian pengatur (regulatory sequences) yang berperan pada pengaturan ekspresi gen yang juga bersifat kompleks dan seringkali jauh letaknya dari sekuens gen struktural. Bagian pengatur ini terdapat baik di arah ujung 5' maupun ujung 3' dari sebuah gen, sekuens ini bersifat tidak ditranslasikan, atau non-translasional. Di arah ujung 5' gen, sebelum situs awal transkripsi, terdapat sekuens nontranslasional yang disebut bagian promoter. Bagian promoter umumnya mengandung sekuens TATA yang berulang-ulang, karena itu sering disebut TATA box, di bagian inilah RNA polimerase berikatan untuk memulai proses transkripsi. Di arah ujung 5' yang lebih jauh lagi terdapat CCAAT box yang juga memiliki peran penting dalam regulasi transkripsi. Di samping itu, biasanya juga terdapat beberapa sekuens konsensus yang lain, dimana berbagai protein atau faktor transkripsi akan terikat untuk pengendalian proses transkripsi. Beberapa sekuens pemacu (enhancer) atau penon-aktif (silencer) transkripsi juga dapat ditemukan di dekat atau kadang-kadang berada cukup jauh dari sekuens gen struktural. Di arah ujung 3' dari bagian sandi juga terdapat sekuens yang berperan sebagai regulator dan/atau terminator transkripsi, juga terdapat sekuens yang berperan dalam poliadenilasi dari molekul mRNA hasil transkripsi. Struktur tipikal gen eukariota diperlihatkan dalam Gambar 3.



Gambar 3. Struktur tipikal gen eukariota

### Struktur DNA

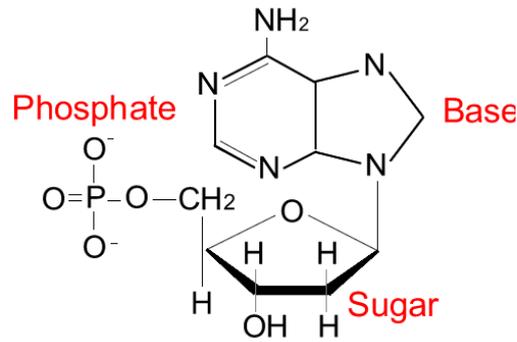
DNA adalah asam nukleat, yaitu polimer dari nukleotida-nukleotida (Gambar 4). Nukleotida adalah senyawa yang tersusun oleh 3 komponen, yaitu residu gula pentosa (ribosa atau deoksiribosa), residu basa nitrogen dan residu fosfat (Gambar 5). Jika dihidrolisis, mula-mula nukleotida akan terurai melepaskan asam fosfat dan nukleosida. Pada hidrolisis selanjutnya, nukleosida akan terurai menghasilkan gula pentosa dan basa nitrogen.



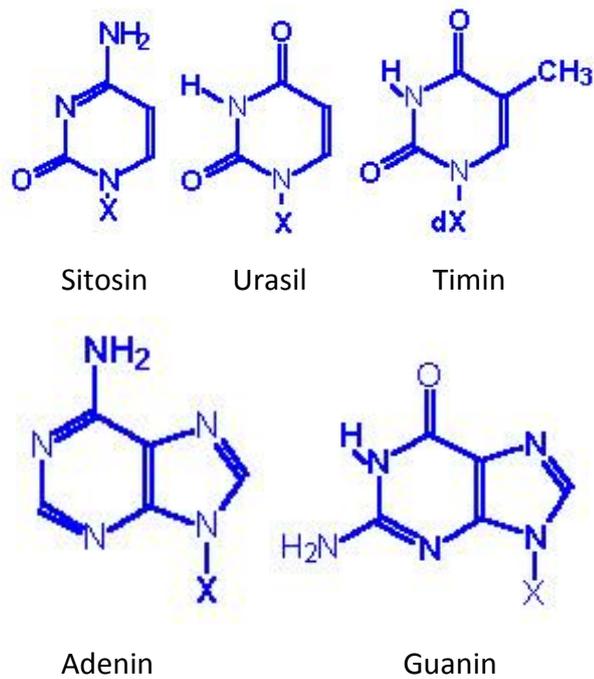
Gambar 4. Rantai asam nukleat tersusun oleh residu nukleotida-nukleotida. Setiap nukleotida tersusun oleh residu gula pentosa (biru)-residu basa nitrogen (pink, hijau, jingga dan merah) dan residu fosfat (kuning).

Basa nitrogen penyusun asam-asam nukleat dapat merupakan basa purin (basa turunan purin) atau basa pirimidin (basa turunan pirimidin). Purin dan pirimidin adalah struktur heterosiklik yang mengandung atom nitrogen. Basa purin penyusun DNA dan RNA ada dua macam, yaitu Adenin (A) dan Guanin (G). Kedua basa purin ini terdapat, baik dalam DNA maupun RNA. Basa pirimidin ada tiga macam yaitu sitosin (C), Timin (T), dan Urasil (U). Sitosin terdapat baik dalam DNA

maupun RNA, sedangkan Timin hanya terdapat di dalam DNA, dan Urasil hanya terdapat di dalam RNA. Dalam Gambar 6 disajikan struktur kimia basa-basa purin dan pirimidin.

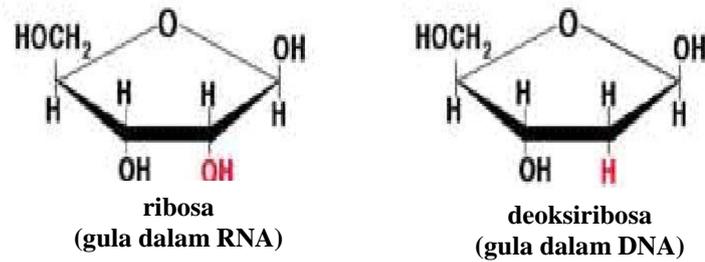


Gambar 5. Struktur nukleotida



Gambar 6. Struktur kimia basa-basa purin dan pirimidin.

Komponen gula pentosa penyusun struktur asam nukleat ada dua macam, yaitu ribosa dan 2-deoksiribosa. Gula pentosa pada DNA adalah deoksiribosa (Gambar 7).



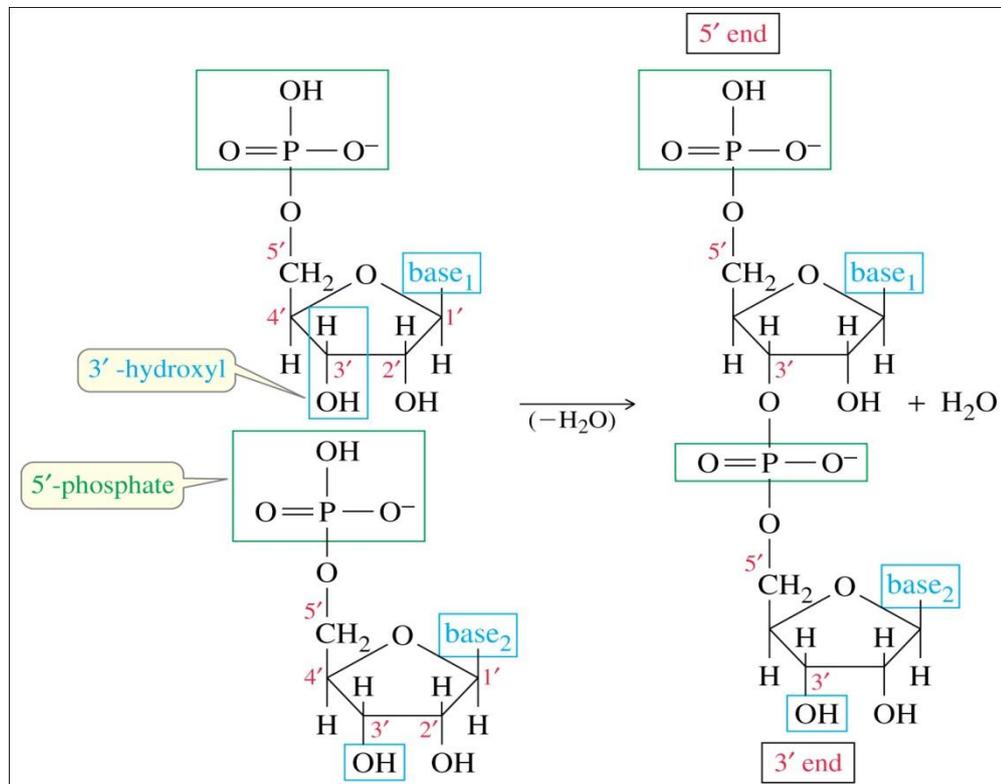
Gambar 7. Struktur ribosa dan deoksiribosa

Nukleotida-nukleotida dalam molekul DNA ataupun RNA terikat satu sama lain melalui ikatan fosfodiester. Ikatan fosfodiester ini merupakan ikatan ester yang terbentuk antara gugus alkohol gula pentosa pada posisi C3 (gugus 3'-hidroksi) dengan gugus fosfat (yang terletak pada C5) pada nukleotida di sebelahnya. Ikatan ester ini terbentuk pada nukleotida yang juga sudah mengandung ikatan ester pada posisi C5, sehingga secara keseluruhan ada dua ikatan ester fosfat pada rantai yang terbentuk, yaitu pada C3 dan C5. Itu sebabnya ikatan ini disebut ikatan fosfodiester (Gambar 8).

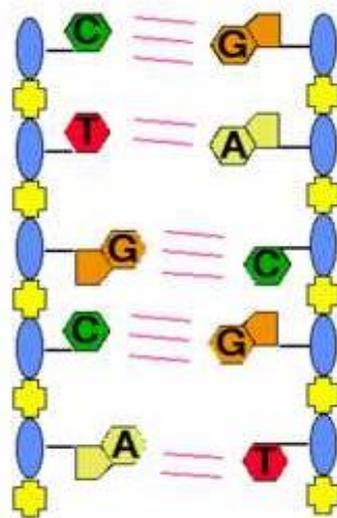
Urutan atau sekuens nukleotida dalam rantai polinukleotida merupakan struktur primer dari asam nukleat. Ujung rantai asam nukleat yang mengandung nukleotida dengan posisi C5 bebas (tidak terikat pada nukleotida lain) disebut ujung 5', sedangkan ujung yang mengandung nukleotida dengan posisi C3 bebas (tidak terikat pada nukleotida lain) disebut ujung 3'. Sesuai konvensi, sekuens nukleotida selalu dibaca dari ujung 5' ke ujung 3'.

Molekul DNA umumnya tersusun oleh dua untai polinukleotida yang terpilin secara anti parallel membentuk struktur untai ganda (*double helix*) yang terikat satu sama lain oleh ikatan-ikatan hidrogen yang terbentuk antar basa-basa nitrogen pada satu untai dengan basa-basa nitrogen pada untai yang lain yang saling berkomplementer (Gambar 9). Pasangan basa yang saling berkomplementer dan membentuk ikatan hidrogen tersebut adalah A-T dan G-C. Antara basa A dan T terbentuk 2 ikatan hidrogen, sedangkan antara basa G dan C terbentuk 3 buah

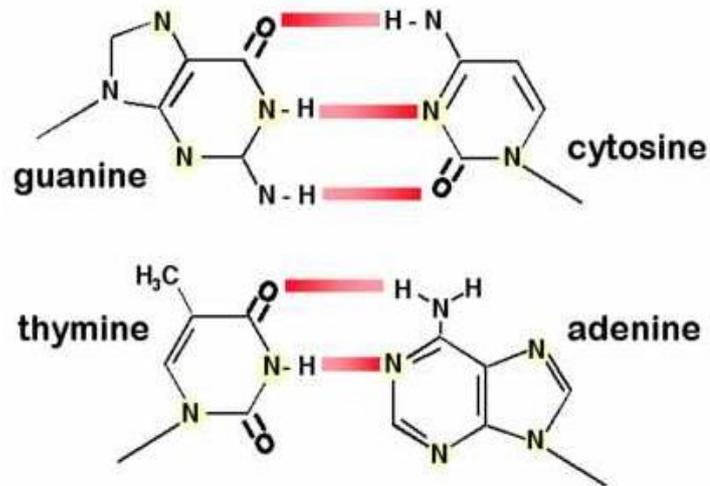
ikatan hidrogen (Gambar 10). Ikatan hidrogen antar basa komplementer inilah yang menstabilkan struktur double helix dari molekul DNA.



Gambar 8. Pembentukan ikatan fosfodiester yang mengikat nukleotida-nukleotida dalam asam nukleat. Perhatikan ikatan ester yang terjadi pada C3 dan C5 ribosa.



Gambar 9. Untai ganda DNA terbentuk karena adanya ikatan hidrogen antar basa-basa yang saling berkomplementer



Gambar 10. Ikatan hidrogen yang terbentuk antar basa-basa yang saling berkomplementer. Antara A (Adenin) dan T (Timin) terbentuk 2 ikatan hidrogen, sedangkan antara G (Guanin) dan C (Sitosin) terbentuk 3 buah ikatan hidrogen.

Molekul DNA manusia merupakan polimer yang sangat panjang, tersusun dari sekitar  $6 \times 10^9$  pasang basa. Satu molekul DNA dari kromosom mamalia dapat mencapai panjang sekitar 2-3 meter. Apabila semua DNA dalam tubuh seorang manusia dihubungkan satu sama lain, maka panjangnya dapat mencapai  $3 \times 10^{13}$  meter, 140 kali jarak bumi-matahari !!! Molekul DNA yang sangat panjang ini terpilin sangat kompak sehingga dapat tersimpan di dalam inti sel yang diameternya sangat kecil, sekitar 0,000001 meter (sepersepjuta meter). Maha Agung Tuhan yang telah menciptakan dan mengatur semua ini dengan sangat hebatnya.

Berbeda dengan DNA manusia dan organisme eukariotik lainnya, DNA sel prokariotik tidak merupakan untai ganda linier, melainkan sebuah untai ganda sirkular, dan ukurannya jauh lebih kecil dibandingkan dengan DNA eukariotik. DNA bakteri *Escherichia coli* misalnya, merupakan untai ganda sirkular yang mengandung lebih kurang 4.600.000 ( $4,6 \times 10^6$ ) pasang basa. Jika direntangkan panjangnya sekitar 1,4 mm. Sangat jauh lebih pendek dibandingkan dengan DNA manusia.

## EKSPRESI GEN

Informasi genetik suatu organisme tersimpan dalam molekul DNA yang terdapat di dalam inti sel (nukleus) atau nukleoid. Unit fungsional dalam molekul DNA yang menyandi sifat keturunan atau sifat genetik tertentu disebut gen. Keseluruhan informasi sifat genetik yang terdapat dalam tubuh suatu makhluk hidup disebut genom.

Ekspresi gen adalah proses penggunaan informasi genetik yang tersimpan di dalam gen untuk mensintesis senyawa-senyawa produk gen. Senyawa-senyawa produk gen ini umumnya adalah protein, namun ada juga berupa senyawa-senyawa RNA fungsional yang tidak merupakan kode untuk protein, misalnya tRNA (transfer RNA), rRNA (ribosomal RNA), dan snRNA (small-nuclear RNA). Untuk mengekspresikan informasi genetik yang dimilikinya, sel melakukan berbagai proses, antara lain penyalinan informasi genetik dari DNA ke mRNA (*messenger* RNA, RNA pembawa pesan), proses ini disebut transkripsi, dan kemudian diikuti dengan penerjemahan informasi genetik yang terdapat dalam molekul mRNA menjadi protein, proses ini disebut translasi. Dengan cara ini sifat genetik diturunkan dari satu generasi ke generasi berikutnya.

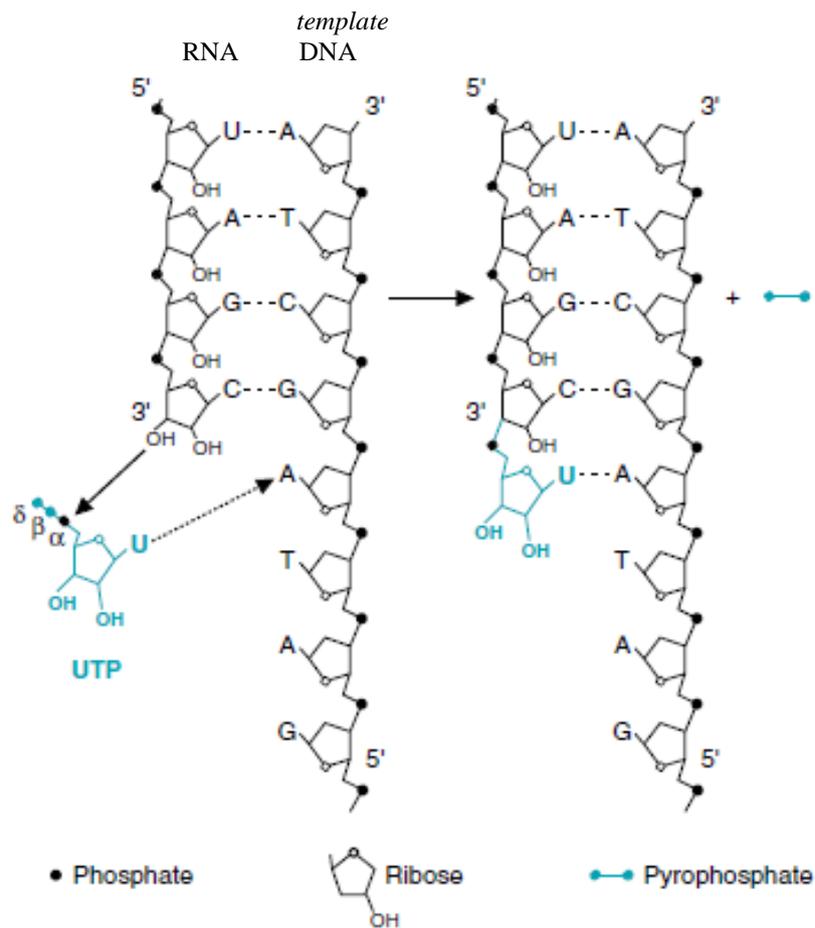
### Transkripsi

Transkripsi adalah proses sintesis RNA dengan *template* gen-gen yang terdapat dalam untai DNA. Proses transkripsi berlangsung di dalam nukleus pada sel-sel eukariotik, atau di dalam sitoplasma pada sel-sel prokariotik. Transkripsi dari setiap gen akan menghasilkan RNA untai tunggal yang sekuensnya merupakan komplemen dari sekuens nukleotida pada salah satu untai DNA untai ganda. Untai DNA ini disebut untai *template* (template strand), sedangkan untai DNA pasangannya sering disebut untai kode (coding strand). Pada proses transkripsi DNA *template* dibaca dari arah 3' → 5', sedangkan sintesis RNA berlangsung dari arah 5' → 3'.

Enzim utama yang berperan pada proses transkripsi adalah RNA polimerase. Enzim ini berbeda dengan DNA polimerase karena RNA polimerase tidak memerlukan primer untuk memulai sintesis untai RNA. Enzim RNA polimerase merupakan enzim dengan multiaktivitas atau multifungsi, karena itu sering disebut sebagai kompleks enzim. Pada eukariota telah diketahui 3 macam kompleks enzim RNA polimerase yaitu RNA polimerase I, II dan III. RNA polimerase I berperan terutama mensintesis 3 macam rRNA (18S; 5,8S; dan 28S), RNA polimerase II terutama mensintesis mRNA, dan RNA polimerase III terutama mensintesis tRNA dan 5S rRNA. Dalam sel-sel prokariotik hanya ada satu macam enzim RNA polimerase. Enzim ini berperan mensintesis ketiga macam RNA, yaitu mRNA, tRNA dan rRNA.

Aktivitas utama enzim RNA polimerase adalah menambahkan residu-residu ribonukleotida untuk membentuk rantai RNA. Jadi, sangat mirip dengan DNA polimerase, enzim ini bekerja membentuk ikatan ester antara gugus fosfat yang terdapat pada C5 suatu nukleotida dengan gugus hidroksil yang terletak pada C3 nukleotida lainnya yang merupakan pasangan komplementer dari nukleotida-nukleotida pada DNA *template* (Gambar 11). Kesesuaian komplementer nukleotida yang baru dengan nukleotida pada *templatnya* diuji dengan pembentukan ikatan hidrogen antara basa pada nukleotida baru tersebut dengan basa pada DNA *template*.

Sebagaimana enzim DNA polimerase, enzim RNA polimerase juga memiliki berbagai aktivitas lain, sehingga dapat dikatakan RNA polimerase merupakan inti dari suatu kompleks enzim yang bekerja dalam proses transkripsi. Namun demikian, berbeda dengan DNA polimerase, enzim RNA polimerase tidak memerlukan primer untuk memulai polimerisasi. Enzim RNA polimerase juga tidak memiliki aktivitas eksonuklease 3' → 5' seperti yang dimiliki oleh DNA polimerase.



Gambar 11. Proses polimerisasi ribonukleotida membentuk rantai RNA dengan *template* DNA.

Secara umum, proses transkripsi dapat dibagi dalam tiga tahap, yaitu inisiasi, elongasi dan terminasi. Tahap inisiasi diawali dengan pengenalan sekuens promoter oleh kompleks enzim RNA polimerase. Pada prokariota, kompleks enzim RNA polimerase, yang disebut juga holoenzim RNA polimerase, terbentuk dari inti enzim RNA polimerase yang berikatan dengan suatu protein yang disebut faktor sigma ( $\sigma$ ). Faktor sigma ( $\sigma$ ) inilah yang membantu pengenalan sekuens promoter oleh kompleks enzim RNA polimerase. Setelah sekuens promoter dikenali oleh kompleks enzim ini, lalu kompleks enzim berikatan dengan sekuens promoter dan memulai transkripsi.

Tahap inisiasi transkripsi pada eukariota lebih rumit dibandingkan dengan prokariota. Pengenalan sekuens promoter dilakukan oleh sekelompok protein yang

disebut sebagai faktor-faktor transkripsi. Ada beberapa faktor transkripsi yang sudah dikenal, beberapa di antaranya yang disebut sebagai faktor-faktor transkripsi umum atau general transcription factors (GTF) disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Beberapa faktor transkripsi

Nama	Keterangan
TFIIA	<p>TFIIA berinteraksi dengan subunit TBP dari TFIID dan membantu pengikatan TBP pada sekuens promoter yang mengandung TATA box. Interaksi TFIIA dengan TBP akan memfasilitasi pembentukan dan menstabilkan kompleks preinisiasi (PIC). Interaksi TFIIA dengan TBP juga akan mencegah terikatnya faktor-faktor negatif atau faktor-faktor represif yang mungkin akan berikatan dengan TBP (yang akan mengganggu pembentukan PIC).</p> <p>TFIIA juga berperan sebagai koaktivator untuk beberapa activator transkripsi, membantu meningkatkan atau mengaktifkan transkripsi.</p>
TFIIB	<p>TFIIB berperan sebagai jembatan atau penghubung antara TFIID dan RNA polimerase II, dengan membentuk interaksi antara TBP (subunit pada TFIID) dan RPB1 (subunit pada RNA polimerase II). TFIIB juga berinteraksi dengan BRE (B-recognition element), elemen promoter yang terdapat pada TATA box, sehingga diperkirakan berperan dalam seleksi titik awal transkripsi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa mutasi pada TFIIB menyebabkan bergesernya titik awal transkripsi.</p>
TFIID	<p>Satu-satunya GTF yang dapat mengenali sekuens spesifik pada DNA (sekuens promoter). Memiliki komponen yang disebut TBP (TATA binding protein) dan beberapa TAF (TBP-associated factors).</p>
TFIIE	<p>TFIIE diperkirakan berperan dalam disosiasi untai ganda DNA pada titik awal transkripsi. Protein ini mengandung motif pita Zn yang dapat berikatan dengan untai tunggal DNA.</p>
TFIIF	

TFIIH	TFIIH tersusun dari beberapa subunit, 7 di antaranya (XPD, XPB, p62, p52, p44, p34 and TTDA) membentuk kompleks inti. Subkompleks kinase yang mengaktifkan siklin (CDK7, MAT1, dan siklin H) terhubung dengan inti melalui protein XPD. Dua di antara subunit-subunit tersebut, yaitu <a href="#">ERCC2/XPD</a> dan <a href="#">ERCC3/XPB</a> , memiliki aktivitas helikase dan ATPase, subunit-subunit ini membantu membentuk gelembung replikasi atau replication bubbles. Dua subunit TFIIH lainnya, yaitu CDK7 dan siklin H, berperan dalam fosforilasi asam amino serin yang terdapat pada domain ujung karbonil enzim RNA polimerase II dan kemungkinan juga protein-protein lain yang berperan dalam siklus sel.
-------	---

Pengenalan sekuens promotor mula-mula dilakukan oleh TFIID (Transcription Factor II D) melalui komponennya yang disebut TBP (TATA Binding Protein). Setelah TFIID berikatan dengan sekuens promotor, lalu faktor-faktor transkripsi lain, yaitu TFIIA dan TFIIC berikatan dengan kompleks ini dan menginduksi konformasi DNA sedemikian rupa agar kondusif untuk pengikatan enzim RNA polimerase. Keseluruhan kompleks yang terbentuk dari faktor-faktor transkripsi dan RNA polimerase yang terikat pada sekuens promotor ini disebut “kompleks inisiasi transkripsi”. Kompleks inisiasi transkripsi ini kemudian bekerja memulai atau menginisiasi transkripsi. Transkripsi adalah proses yang memerlukan energi, oleh sebab itu pada proses ini dibutuhkan ATP.

Pada akhir tahap inisiasi, enzim RNA polimerase mengalami fosforilasi berulang kali yang menyebabkannya terlepas dari protein-protein faktor transkripsi lainnya. Setelah faktor-faktor tersebut terlepas, selanjutnya enzim RNA polimerase melanjutkan pembentukan untai RNA, tahap ini disebut tahap elongasi atau perpanjangan rantai.

Terminasi transkripsi pada prokariota berlangsung apabila enzim RNA polimerase membaca satu sekuens khas pada untai *template* DNA, yang dikenali oleh suatu protein terminasi yang disebut faktor  $\rho$  (rho). Faktor  $\rho$  (rho) adalah

enzim helikase khusus yang diaktifkan atau distimulasi oleh RNA yang bekerja menguraikan kompleks RNA-DNA *nascent*. Setelah terminasi, enzim RNA polimerase terlepas dari *template* DNA dan siap untuk digunakan pada proses transkripsi selanjutnya. Pada eukariota, informasi tentang signal terminasi transkripsi belum semuanya diketahui dengan jelas, salah satunya kemungkinan diberikan oleh sekuens-sekuens tertentu yang disebut palindrom.

### **Translasi**

Protein disintesis oleh ribosom di sitoplasma dalam suatu proses yang disebut translasi. Sekuens protein yang disintesis ditentukan oleh informasi genetik yang terdapat di dalam molekul-molekul mRNA. Informasi genetik yang terdapat di dalam mRNA tersebut dinamakan kodon triplet, karena tersusun oleh tiga buah nukleotida yang terletak bersisian. Kodon triplet dalam untai mRNA dibaca dari ujung 5' ke arah ujung 3', dan polimerisasi asam amino membentuk protein (polipeptida) berlangsung dari ujung N (amino) ke arah ujung C (karbonil). Kodon triplet bersifat universal, artinya berlaku umum untuk semua sel, baik sel prokariota maupun eukariota. Tetapi ada sedikit perbedaan pada kodon triplet untuk gen yang terdapat di dalam mitokondria.

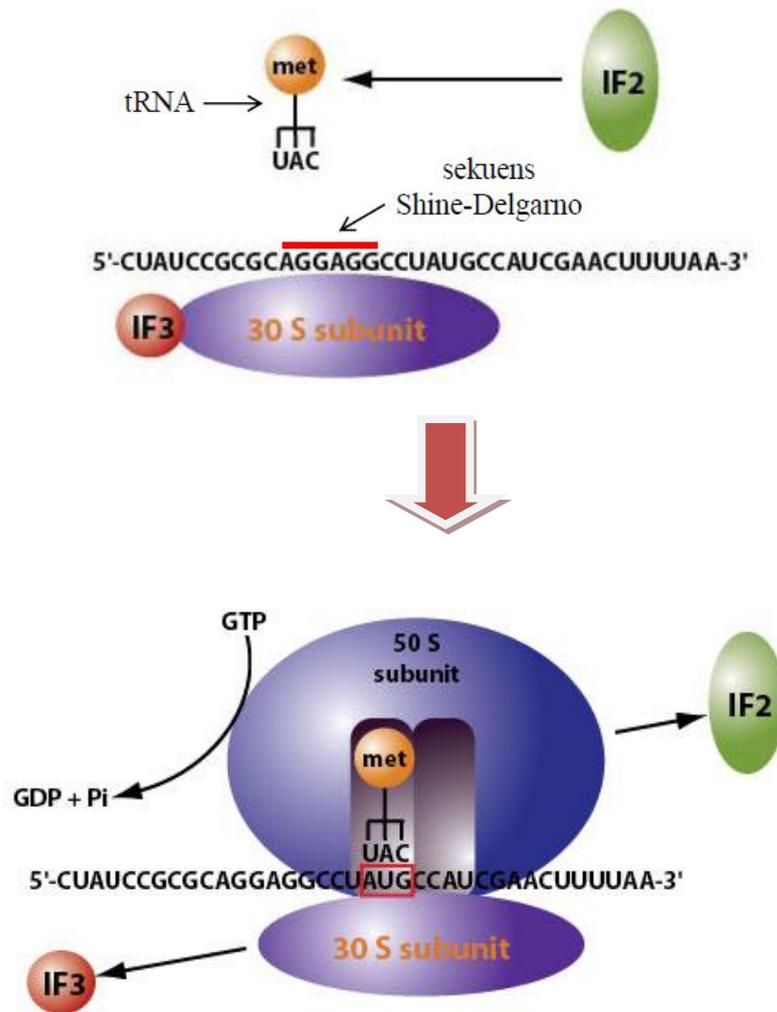
Sintesis protein di dalam sel memerlukan kerja sama dari empat komponen yang membentuk kompleks translasi, yaitu: ribosom yang mengkatalisis pembentukan ikatan peptida, protein-protein faktor translasi yang membantu ribosom dalam setiap tahap proses translasi, mRNA yang membawa informasi genetik tentang protein yang disintesis, dan aminoasil-tRNA yang membawa asam-asam amino untuk membentuk untai polipeptida atau protein yang disintesis.

Pada saat translasi, setiap asam amino akan dibawa ke ribosom oleh tRNA (RNA transfer). Paling tidak ada satu macam tRNA untuk setiap asam amino, beberapa asam amino bahkan memiliki lebih dari satu macam tRNA. Setiap tRNA memiliki sekuens khas yang disebut antikodon, yaitu sekuens yang merupakan komplemen dari sekuen kodon pada mRNA. Komplementasi basa dari sekuens

kodon dan antikodon menjamin setiap asam amino akan ditambahkan pada posisi yang tepat pada untai protein yang sedang dibentuk.

Secara umum, proses translasi dapat dibagi dalam 3 tahap, yaitu inisiasi, elongasi dan terminasi. Pada saat inisiasi, keempat komponen translasi yaitu ribosom, protein-protein faktor translasi, mRNA dan aminoasil-tRNA bergabung membentuk kompleks di posisi kodon pertama atau kodon *start* dalam untai mRNA. Pada saat elongasi, yaitu selama pembentukan polipeptida, kompleks ini bergerak, atau melakukan translokasi, sepanjang untai mRNA dengan arah  $5' \rightarrow 3'$ . Jadi kompleks translasi membaca mRNA dari arah ujung  $5' \rightarrow 3'$ . Polipeptida baru terbentuk dari ujung N (amino) ke arah ujung C (karboksil). Dan akhirnya, pada terminasi translasi, kompleks ini akan terurai, kedua subunit ribosom, subunit besar dan subunit kecil, terpisah dan siap untuk berpartisipasi pada proses translasi berikutnya.

Inisiasi diawali dengan pembacaan kodon mulai atau kodon *start* (AUG) yang terdapat di ujung  $5'$  untai mRNA. Kodon start (AUG) merupakan kodon untuk asam amino metionin. Oleh sebab itu, protein hasil translasi (sebelum diproses lebih lanjut) selalu mengandung asam amino metionin pada ujung N nya. Pengenalan kodon start dilakukan oleh subunit kecil dari ribosom yang sudah berikatan dengan satu set faktor translasi yang disebut IF3. Ikatan antara kodon start dengan subunit kecil ribosom akan diikuti oleh terikatnya metionil-tRNA, yaitu tRNA yang membawa residu asam amino metionin setelah sebelumnya berikatan dengan faktor translasi lainnya yang disebut IF2, membentuk kompleks yang disebut kompleks inisiasi translasi. Selanjutnya ribosom subunit besar akan bergabung pada kompleks ini dan translasi pun dimulai. Inisiasi translasi merupakan proses yang memerlukan energi, energi ini diperoleh dari hidrolisis GTP menjadi GDP (Gambar 13).

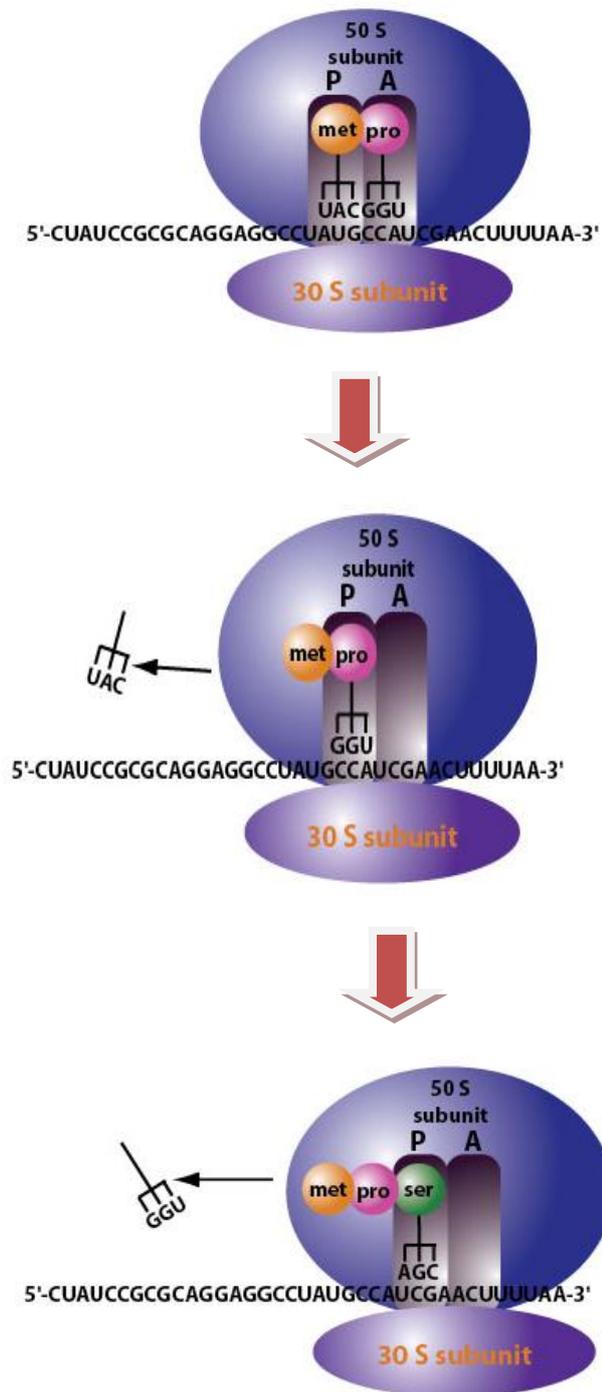


Gambar 13. Inisiasi translasi

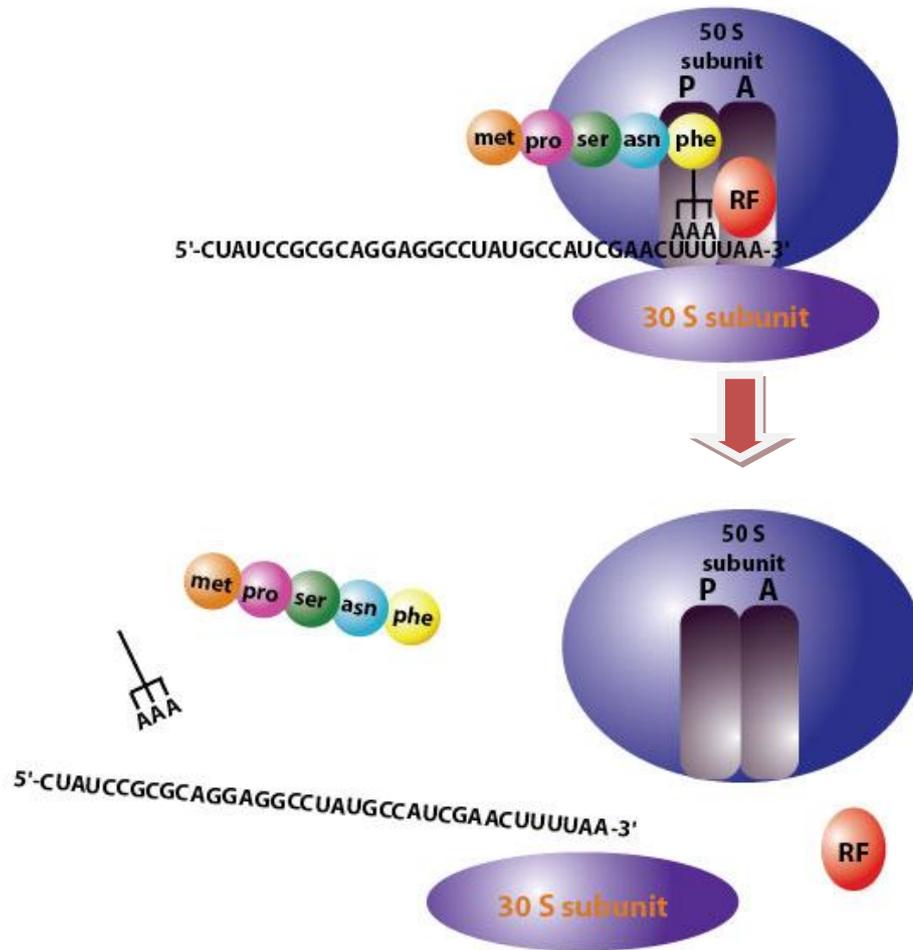
Setelah dua subunit ribosom bergabung menjadi satu unit yang lengkap, maka pada ribosom tersebut terbentuk dua tempat pengikatan, yaitu tempat pengikatan P (peptidil) dan A (aminoasil). tRNA yang pertama akan menempati tempat pengikatan P, dan tRNA berikutnya akan menempati tempat pengikatan A (Gambar 14a). Kemudian enzim peptidil transferase (salah satu dari 31 macam protein yang terdapat di dalam ribosom subunit besar) menautkan kedua residu asam amino tersebut melalui pembentukan ikatan amida antar keduanya, dan pada saat yang sama terjadi pemutusan ikatan antara asam amino dengan tRNA yang membawanya (Gambar 14b). Kemudian, tRNA yang terikat dengan

oligopeptida secara otomatis akan berada di lokasi pengikatan P. Begitu seterusnya, tRNA yang baru membawa asam amino menempati tempat pengikatan A, dan kemudian oligopeptida yang sudah terbentuk terlepas dari tRNA yang berada di tempat pengikatan P dan berpindah serta membentuk ikatan peptida dengan asam amino yang baru dibawa. Ribosom kemudian bergeser sehingga tRNA dengan oligopeptida berada di tempat pengikatan P. tRNA dengan asam amino baru datang dan menempati tempat pengikatan A, demikian seterusnya. Pada saat elongasi kompleks ini bergerak, atau melakukan translokasi, sepanjang untai mRNA dengan arah  $5' \rightarrow 3'$ . Jadi kompleks translasi membaca mRNA dari arah ujung  $5' \rightarrow 3'$ . Polipeptida baru terbentuk dari ujung N (amino) ke arah ujung C (karboksil).

Pada suatu saat ribosom akan sampai pada kodon stop (UAA, UAG atau UGA). Karena tidak ada tRNA yang memiliki antikodon yang komplemen dengan kodon stop, maka tempat pengikatan A akan kosong, dan akan ditempati oleh suatu protein khas yang disebut RF (Release Factor). Ini menyebabkan translasi berhenti, kompleks translasi akan terurai, dan polipeptida yang dihasilkan akan terlepas (Gambar 15). Kedua subunit ribosom, subunit besar dan subunit kecil, terpisah dan siap untuk berpartisipasi pada proses translasi berikutnya.



Gambar 14. Selama elongasi kompleks translasi melakukan translokasi dan membaca kodon triplet pada untai mRNA dari ujung mRNA dari ujung 5' ke arah ujung 3', dan polipeptida baru terbentuk dari ujung N (amino) ke arah ujung C (karboksil).



Gambar 15. Terminasi translasi berlangsung ketika ribosom sampai pada kodon stop (UAA, UAG atau UGA). Protein RF akan menduduki tempat pengikatan A, translasi terhenti, dan kompleks translasi dan polipeptida terlepas

## REGULASI EKSPRESI GEN PROKARIOTIK

Pada sel-sel prokariotik, misalnya sel bakteri, terdapat gen-gen yang mengelompok membentuk struktur yang disebut operon. Gen-gen yang mengelompok menjadi operon ini umumnya mengkode beberapa protein yang diperlukan untuk fungsi yang saling berkoordinasi, misalnya beberapa enzim yang diperlukan untuk biosintesis asam amino tertentu, atau beberapa enzim yang bekerja bersama-sama dalam satu jalur metabolisme tertentu. Gen seperti ini disebut gen polisistronik yaitu kumpulan beberapa gen yang diatur oleh satu gen regulator. Transkripsi dari gen polisistronik akan menghasilkan mRNA polisistronik, yaitu RNA yang mengkode beberapa protein sekali gus.

Pengaturan atau regulasi atau kontrol ekspresi gen pada sel-sel bakteri terutama dilakukan pada tahap inisiasi transkripsi. Sebagaimana gen-gen prokariotik umumnya, inisiasi diatur oleh dua elemen sekuens DNA, yaitu sekuens pada basa -35 yang sekuensnya TTGACA dan sekuens pada posisi basa -10 yang sekuensnya TATAAT. Sekuens pada posisi -10 ini juga dikenal sebagai Pribnow Box. Kedua sekuens ini disebut sekuens promoter, karena keduanya membantu pengenalan tempat dimulainya transkripsi pada untai DNA template (sekuens ini disebut juga sekuens promoter).

Aktivitas RNA polimerase pada masing-masing sekuens promoter dapat dipengaruhi melalui interaksi sekuens promoter dengan protein tertentu, yang disebut protein regulator. Pengikatan protein regulator pada sekuens promoter akan mempengaruhi pengenalan sekuens tersebut oleh RNA polimerase, dapat berupa represi (negatif) atau atenuasi (positif). Jika pengaruhnya negatif, maka protein regulator disebut represor, sebaliknya jika pengaruhnya positif maka disebut protein aktivator.

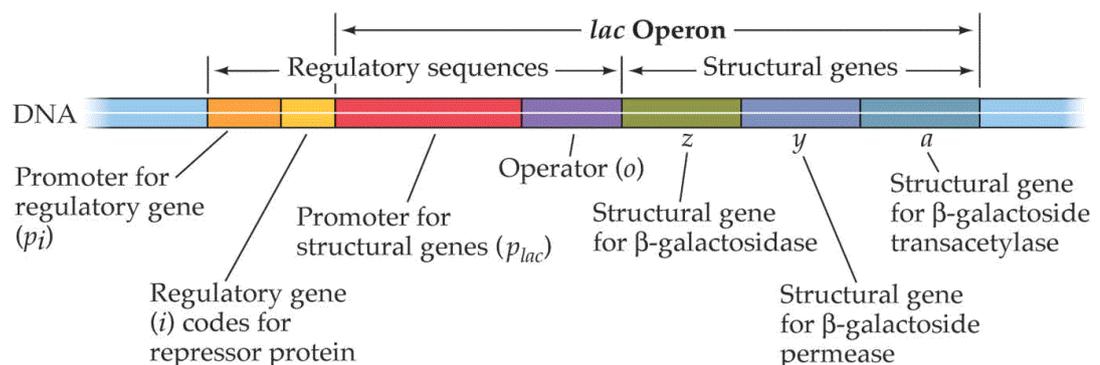
Apabila interaksi RNA polimerase dengan sekuens promoter dihambat (mengalami represi, oleh protein represor), maka transkripsi tentu tidak akan dapat berlangsung. Sebaliknya protein aktivator akan mempermudah interaksi RNA polimerase dengan sekuens promoter, sehingga apabila tanpa aktivator gen

tidak dapat ditranskripsikan, maka dengan adanya aktivator transkripsi akan dapat berlangsung.

### Operon lac

Salah satu contoh regulasi ekspresi gen pada sel-sel bakteri tampak pada regulasi operon lac, yang menyandi enzim-enzim yang berperan dalam katabolisme laktosa. Sistem operon ini mula-mula dipelajari pada sel-sel *Escherichia coli*. Enzim-enzim yang dikode oleh operon lac ini, yaitu enzim-enzim yang diperlukan untuk katabolisme laktosa akan disintesis apabila di dalam medium tempat tumbuh bakteri terdapat laktosa. Jadi disini laktosa berperan sebagai induktor sintesis enzim. Apabila di dalam medium tidak terdapat laktosa, maka ekspresi gen-gen yang terdapat dalam operon ini tidak berlangsung, sehingga biosintesis enzim-enzim yang diperlukan dalam katabolisme laktosa terhambat.

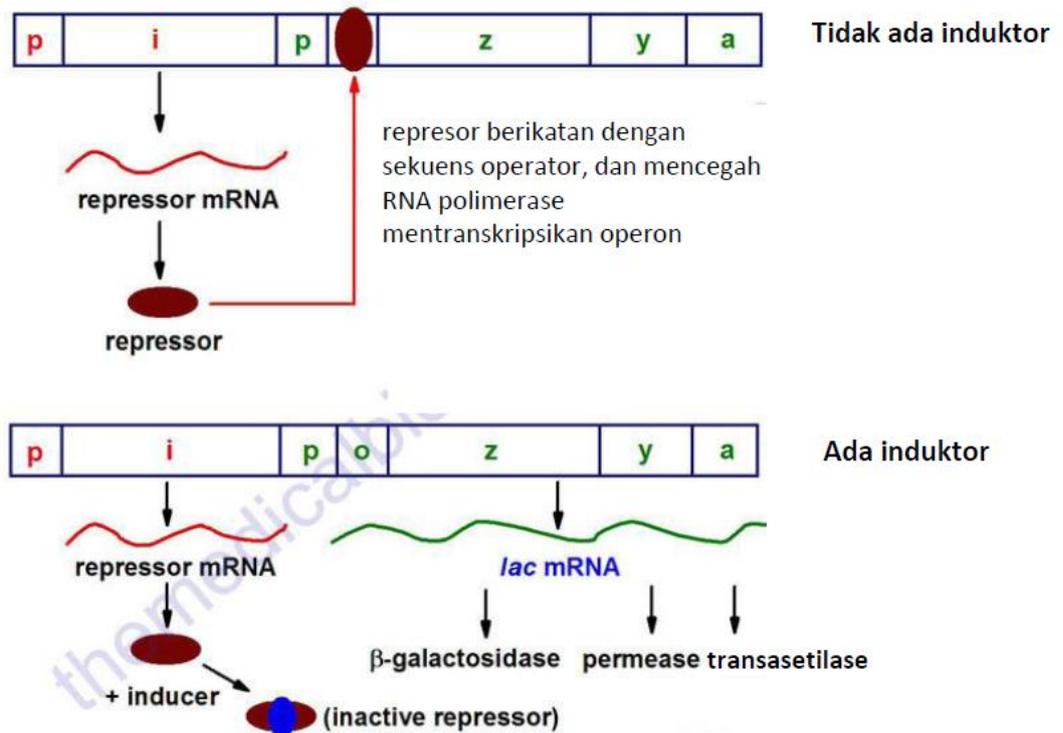
Dalam operon lac terdapat tiga buah gen struktural yang menyandi protein (lac-z, lac-y, dan lac-a) dan sebuah sekuens pengendali yang di dalamnya terdapat gen regulator (gen lac-i) dan satu bagian pengatur yang disebut operator (Gambar 16). Sekuens pengendali ini terdapat di luar sekuens gen struktural yang mengandung kode untuk ketiga enzim tersebut.



Gambar 16. Struktur operon Lac

Gen *lac-i* mengkode protein represor untuk operon *lac*. Gen *lac-z* mengkode enzim  $\beta$ -galaktosidase ( $\beta$ -gal), yang mempunyai peran utama untuk menghidrolisis laktosa menjadi glukosa dan galaktosa. Gen *lac-y* mengkode permease, yang meningkatkan permeabilitas sel terhadap  $\beta$ -galaktosides. Gen *lac-a* mengkode enzim transasetilase.

Dalam pertumbuhan di dalam medium berbasis glukosa (tidak ada laktosa sebagai induktor), protein represor lac yang dihasilkan sebagai ekspresi gen *lac-i*, akan berikatan dengan sekuens operator, dan mencegah terjadinya transkripsi dari gen-gen struktural yang terdapat dalam operon ini (Gambar 17). Akibatnya, sintesis enzim-enzim yang berperan dalam katabolisme laktosa tidak terjadi.



Gambar 17. Dalam keadaan tidak ada induktor ekspresi gen akan terhambat, sebaliknya jika ada induktor maka ekspresi gen akan berlangsung.

Sebaliknya, apabila di dalam medium terdapat laktosa (induktor), maka protein represor akan diikat oleh laktosa. Represor menjadi tidak aktif dan tidak dapat berikatan dengan sekuens operator. Akibatnya, RNA polimerase dapat mengenali dan menduduki sekuens promotor, transkripsi gen-gen struktural yang terdapat dalam operon dapat berlangsung (Gambar 17).

Ekspresi operon *lac* operon akan terhambat, bahkan walau ada laktosa, apabila dalam medium terdapat glukosa. Penghambatan seperti ini dinamakan “represi katabolit”, terjadi karena rendahnya konsentrasi cAMP yang disebabkan oleh cukupnya kadar glukosa di dalam medium. Apabila ke dalam medium ditambahkan cAMP berlebih, maka represi akan hilang, walaupun glukosa masih ada.

Kemampuan cAMP mengaktifkan ekspresi operon *lac* disebabkan oleh interaksi cAMP dengan protein yang disebut CRP (for cAMP receptor protein) atau CAP (catabolite activator protein). Kompleks cAMP-CRP akan berikatan dengan sekuens operon *lac* yang berada di-upstream dari tempat pengikatan RNA polimerase, dan menstimulasi aktivitas RNA polimerase sampai 20-50 kali lipat.

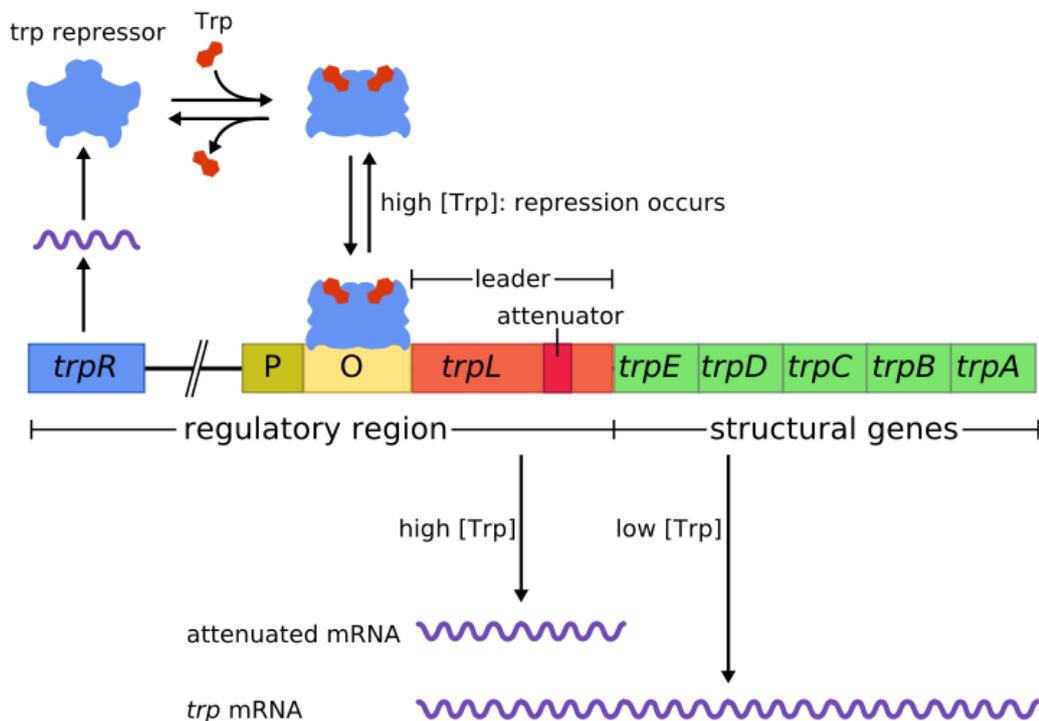
### **Operon trp**

Operon *trp* mengkode protein-protein yang berperan dalam biosintesis triptofan (*trp*), Kelompok gen ini, seperti halnya operon *lac*, diregulasi oleh represor yang berikatan dengan sekuens operator. Aktivitas represor *trp* untuk mengikat sekuens operator akan diperkuat apabila ia terikat dengan triptofan. Dalam hal ini, triptofan disebut sebagai korepresor. Karena aktivitas represor *trp* untuk mengikat sekuens operator akan diperkuat dengan adanya triptofan, maka dapat dikatakan kecepatan ekspresi operon *trp* ditentukan oleh banyaknya triptofan di dalam sel. Apabila triptofan terdapat dalam konsentrasi cukup tinggi, maka ekspresi operon *trp* akan dihambat, sehingga biosintesis triptofan pun terhambat. Mekanisme seperti ini disebut regulasi negatif terhadap ekspresi gen. Sebaliknya pada operon *lac*, adanya laktosa justru akan mengaktifkan ekspresi operon, jadi laktosa berfungsi sebagai induktor. Mekanisme seperti ini disebut regulasi positif.

Operon *trp* mengandung lima gen struktural, yaitu: *trp-E*, *trp-D*, *trp-C*, *trp-B*, dan *trp-A*, yang mengkode enzim triptofan sintetase (Gambar 18). Disamping itu operon *trp* juga mengandung sebuah sekuens promoter tempat RNA polimerase terikat pada saat inisiasi transkripsi, dan sebuah gen represor (*trp R*) yang

mengkode protein represor trp. Protein represor ini yang nantinya akan berikatan dengan sekuens operator, dan menghalangi terjadinya transkripsi.

Pada operon lac, allolaktotase/laktosa yang berikatan dengan protein represor akan menginaktifkan represor, sehingga transkripsi dapat berlangsung. Sebaliknya pada operon trp, pengikatan triptofan pada protein represor justru akan menghalangi terjadinya transkripsi (Gambar 18).



Gambar 18. Struktur Operon trp

Berbeda dengan operon lac, operon trp juga memiliki peptida *leader* dan sebuah sekuens atenuator yang memungkinkan terjadinya regulasi dengan kuantitas bertingkat (*graded regulation*). Proses atenuasi ekspresi gen ini merupakan mekanisme kedua dan melengkapi regulasi terhadap ekspresi operon trp. Jika represor trp dapat menekan transkripsi operon trp sampai 7 kali lebih kecil, maka atenuasi dapat menekannya menjadi 10 kali lipat lagi, sehingga dengan kedua mekanisme ini ekspresi operon trp dapat ditekan sampai 700 kali lebih kecil.

Mekanisme atenuasi ini dapat terjadi karena pada sel prokariotik (yang tidak memiliki membran nukleus), translasi sudah dimulai pada saat transkripsi masih berlangsung. Karena proses transkripsi dan translasi dapat berlangsung pada saat yang sama, maka proses translasi dapat mempengaruhi proses transkripsi operon secara langsung.

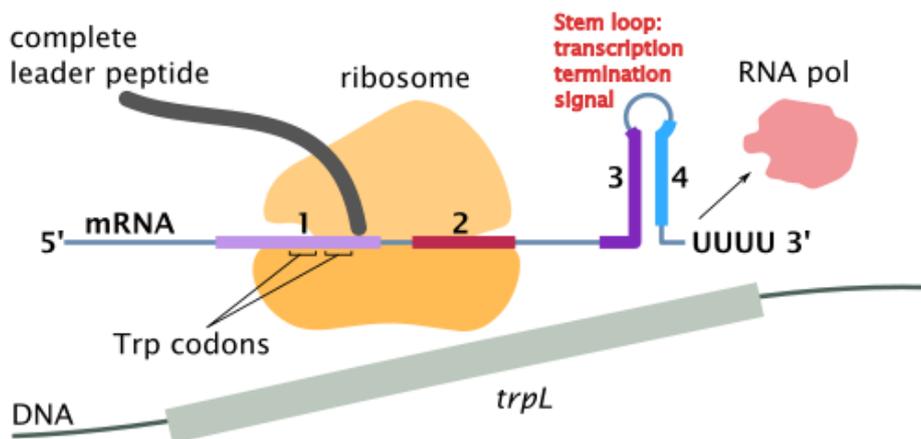
Sebelum gen struktural pertama pada operon *trp* (gen *trpE*), terdapat sebuah sekuens yang panjangnya sekitar 130 nukleotida, yang disebut "*trp leader transcript*" (*trpL*) (Gambar 18). Transkrip ini termasuk empat sekuens pendek, dinamakan sekuens 1-4. Sekuens 1 berkomplemen sebagian dengan sekuens 2. Demikian pula sekuens 2 berkomplemen sebagian dengan sekuens 3, dan sekuens 3 dengan sekuens 4. Jadi ada tiga struktur sekunder berupa *hairpin* yang dapat terbentuk: 1-2, 2-3, atau 3-4. Hibridisasi untai 1 dan 2 membentuk struktur 1-2 akan menghalangi terjadinya struktur 2-3, demikian pula pembentukan struktur 2-3 akan menghalangi terjadinya struktur 3-4. Struktur 3-4 merupakan sekuens terminasi transkripsi, apabila struktur ini terbentuk maka enzim RNA polimerase akan terdisosiasi dari DNA (operon *trp*), akibatnya transkripsi dari gen-gen struktural tidak dapat berlangsung.

Sebagian transkrip *leader* merupakan kode untuk sebuah polipeptida pendek, terdiri dari 14 residu asam amino, yang disebut peptida "*leader*". Peptida ini mengandung dua residu triptofan yang berdampingan. Hal ini bukan merupakan hal biasa, sebab triptofan merupakan asam amino yang tidak banyak terdapat dalam protein-protein bakteri *E. coli*, hanya sekitar 1% dari seluruh asam amino yang menyusun protein *E. coli*. Apabila ribosom akan mensintesis peptida *leader* ini ketika kadar triptofan di dalam sel rendah, maka translasi akan terhenti pada salah satu dari dua kodon *trp* tersebut. Ketika terhenti, ribosom secara fisik akan menutupi atau menghalangi sekuens 1, sehingga struktur *hairpin* 1-2 tidak akan dapat terbentuk. Dengan demikian sekuens 2 bebas untuk berhibridisasi dengan sekuens 3 membentuk struktur 2-3. Kalau ini (struktur 2-3) terjadi maka struktur *hairpin* terminasi 3-4 tidak akan dapat terbentuk (sebab sekuens 3 sudah berikatan dengan sekuens 2). Oleh sebab itu, struktur *hairpin* 2-3 disebut *hairpin anti-*

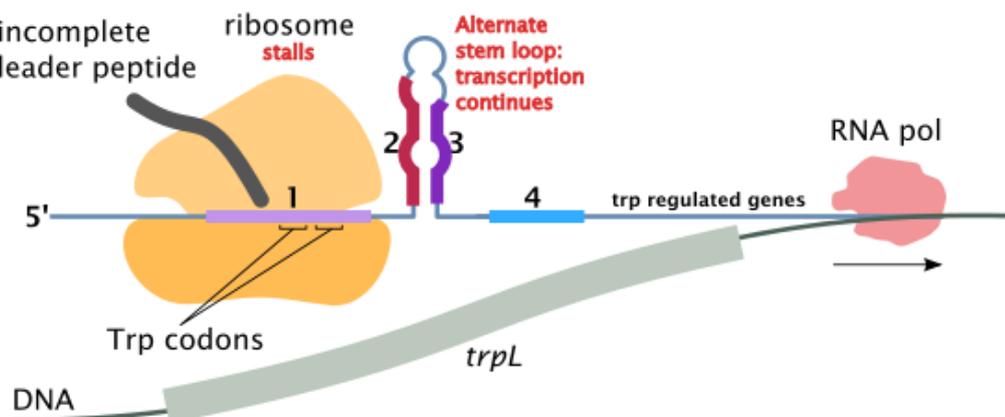
terminasi. Karena tidak menemukan struktur hairpin terminasi, maka RNA polimerase bebas melanjutkan transkripsi seluruh operon.

Jika kadar triptofan dalam sel tinggi, ribosom akan mentranslasikan seluruh peptida leader dan hanya akan berhenti ketika menemui kodon stop saat terminasi translasi. Pada saat ini ribosom secara fisik akan menutupi atau menghalangi kedua sekuens 1 dan 2, sehingga sekuens 3 dan 4 bebas membentuk struktur hairpin 3-4 yang akan menterminasi transkripsi. Jadi, gen-gen struktural dalam operon hanya akan ditranskripsikan apabila kadar triptofan di dalam sel sangat rendah (Gambar 19).

### High level of tryptophan



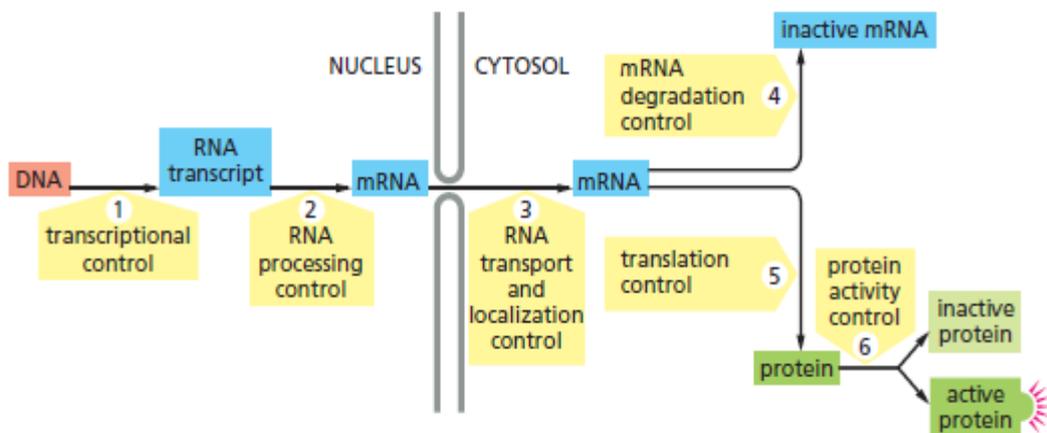
### Low level of tryptophan



Gambar 19. Mekanisme atenuasi transkripsi Operon *trp*.

## REGULASI EKSPRESI GEN EUKARIOTIK

Regulasi ekspresi gen eukariotik dapat berlangsung di berbagai tahap aliran informasi genetik, mulai dari DNA sampai protein. Dari Gambar 20 tampak bahwa sebuah sel dapat mengendalikan protein yang dibuatnya dengan jalan: 1) mengatur kapan dan berapa sering sebuah gen ditranskripsikan (kontrol transkripsi), 2) mengatur bagaimana mRNA hasil transkripsi dipotong atau diproses (kontrol prosesing mRNA), 3) menentukan mRNA mana yang akan diekspor dari nukleus ke sitosol (kontrol lokalisasi dan transport RNA), 4) secara selektif mendegradasi molekul mRNA tertentu (kontrol degradasi RNA), 5) memilih mRNA mana yang ditranslasikan oleh ribosom (kontrol translasi), dan 6) secara selektif mengaktivasi atau mendeaktivasi protein setelah disintesis (kontrol aktivitas protein). Namun demikian, sama seperti pada sel-sel prokaritik, regulasi utama ekspresi gen eukariotik adalah kontrol pada tahap inisiasi transkripsi.



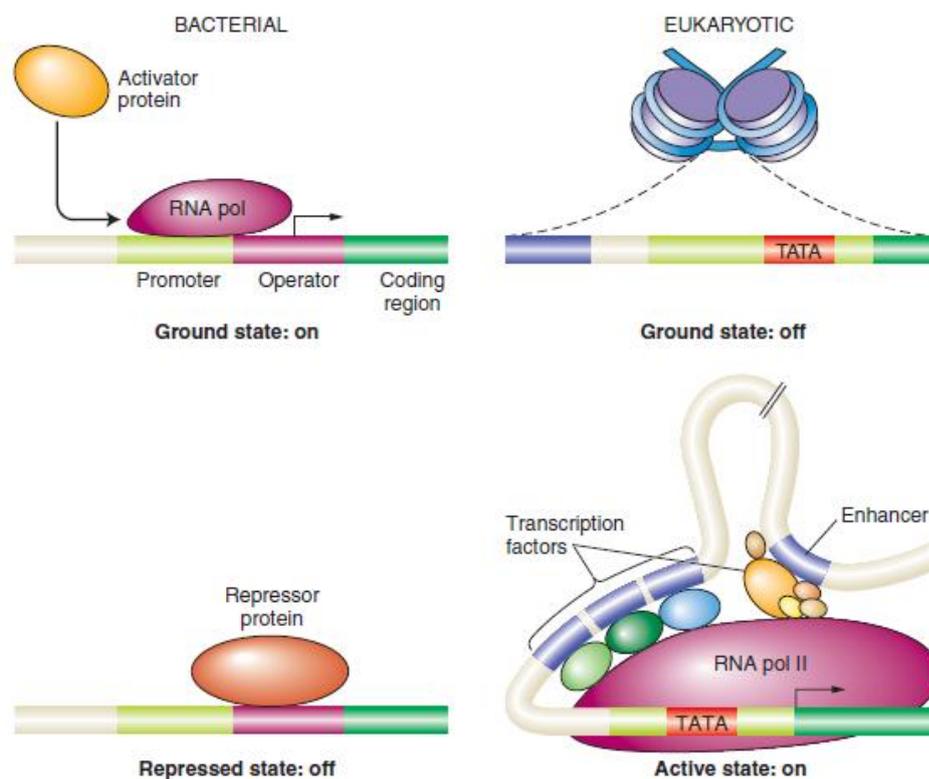
Gambar 20. Ekspresi gen eukariotik dapat dikendalikan atau diregulasi pada beberapa tahap tertentu.

### Regulasi Transkripsi

Sebagaimana pada sel-sel bakteri, transkripsi dalam sel-sel eukariotik dikendalikan melalui pengikatan protein-protein tertentu pada sekuens regulator spesifik pada DNA, yang akhirnya akan memodulasi aktivitas RNA polimerase. Regulasi ekspresi gen pada berbagai jenis sel-sel eukariotik dalam tubuh organisme

multiselular yang sudah berdiferensiasi secara paripurna ini sangat rumit. Hal ini dilakukan terutama melalui kombinasi aksi berbagai jenis protein regulator transkripsi.

Akan tetapi, ada perbedaan mendasar antara regulasi transkripsi pada sel prokariotik dan eukariotik. Kalau pada sel-sel prokariotik, protein represor akan menduduki sekuens operator sehingga transkripsi tidak dapat dimulai, sebaliknya pada sel-sel eukariotik, protein-protein regulator transkripsi justru berperan untuk mempermudah aktivitas RNA polimerase, antara lain dengan jalan mengubah densitas atau posisi nukleosom sehingga sekuens promotor lebih terekspos dan dengan demikian lebih mudah dikenali dan diikat oleh RNA polimerase (Gambar 21).



Gambar 21. Dalam sel bakteri, RNA polimerase dapat memulai transkripsi kecuali protein represor menghalangi atau memblokirnya. Pada sel-sel eukariotik, pengepakan DNA dengan nukleosom akan menghalangi terjadinya transkripsi, kecuali ada protein regulator lain. Protein regulator lain ini akan mengekspos sekuens promotor dengan mengubah densitas atau posisi nukleosom, atau dengan mempermudah RNA polimerase II menduduki situs awal transkripsi.

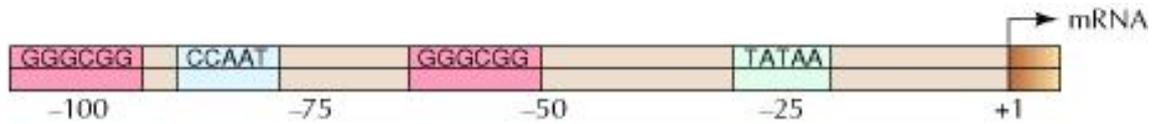
Jadi, dapat dikatakan bahwa pada sel-sel prokariotik, posisi dasar (ground state) gen adalah “on”, artinya siap untuk ditranskripsikan. Apabila ada protein represor, maka transkripsi akan terhambat. Sebaliknya, pada sel-sel eukariotik, posisi dasar (ground state) gen adalah “off”, artinya tidak siap untuk ditranskripsikan. Justru, protein regulator diperlukan untuk mengubah posisi “off” menjadi “on” (gen siap ditranskripsikan).

Regulasi transkripsi merupakan mekanisme terintegrasi yang melibatkan sekuens sekuens yang bekerja secara *cis* (*cis-acting sequences*) dan faktor-faktor yang bekerja secara *trans* (*trans-acting factors*). *Cis-acting sequence* umumnya terdapat di arah 5' dari situs awal transkripsi (*transcriptional start site*). Sekuens-sekuens ini merupakan substrat atau pasangan dari *trans-acting factors*. Faktor-faktor ini membentuk ikatan dengan *cis-acting sequences* dan mempersiapkan DNA dan lingkungannya untuk siap melakukan transkripsi. Karena *trans-acting factors* merupakan protein, maka faktor-faktor ini juga harus dikode oleh gen-gen dalam DNA. Dan gen-gen ini juga dapat dikendalikan oleh interaksi antara *cis-acting sequences* dan *trans-acting factors*. Interaksi antara gen dan *cis-acting sequences* dan *trans-acting factors* merupakan alur tahapan-tahapan dalam peristiwa genetik.

### *Cis-acting Sequences*

Sekuens yang berada di arah 5' dari situs awal atau *start site* transkripsi ini merupakan bagian yang paling penting dalam inisiasi transkripsi. Disinilah dibentuk kompleks transkripsi. Secara umum, bagian ini disebut “sekuens promoter”. Dalam genom eukariotik terdapat beberapa sekuens yang sangat dikonservasi, salah satu di antaranya adalah yang dikenal sebagai “TATA Box”. Sekuens ini terletak sekitar 30 ke arah *upstream* (-30) dari situs awal transkripsi, dan merupakan satu-satunya sekuens yang mutlak ada dalam sekuens promoter. Sekuens lain yang juga sering ditemukan dalam promoter, tetapi tidak selalu ada, adalah sekuens CCAAT (disebut “CAT Box”) dan “Box GC”. Karena mutan dari ketiga sekuens ini hanya mengekspresikan mRNA dalam jumlah sangat kecil, maka diperkirakan ketiganya

merupakan sekuens yang sangat penting dalam kompleks transkripsi. Pada Gambar 22 disajikan contoh sekuens promotor, yaitu dari gen timidin kinase virus Herpes Simplex.



Gambar 22. Sekuens promotor dari gen timidin kinase virus Herpes Simplex mengandung tiga elemen di upstream TATA Box, yang diperlukan untuk terjadinya transkripsi, yaitu: sebuah “CCAAT Box” dan dua “GC Box” (sekuens konsensus GGGCGG).

### Trans-acting Factors

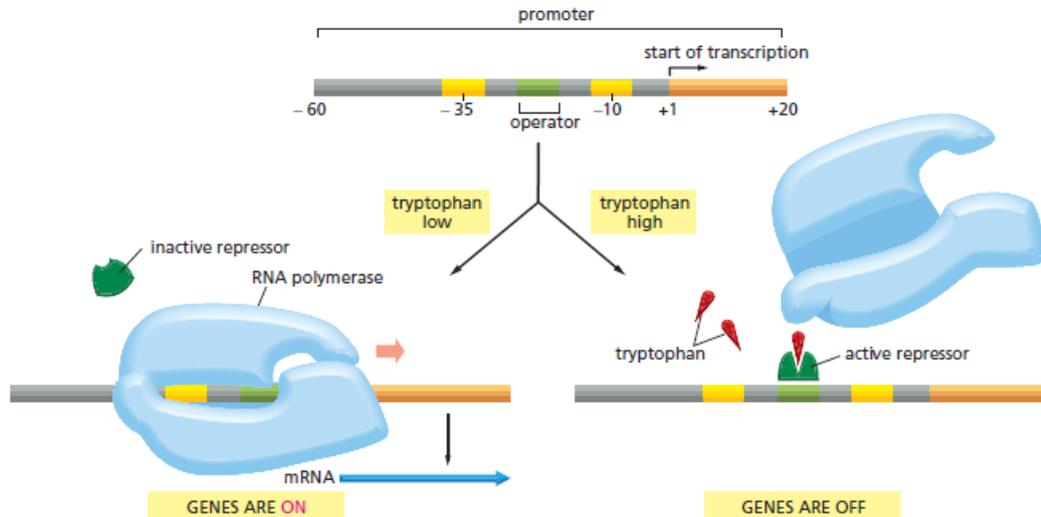
*Trans-acting factors* secara fungsional memiliki dua domain. Domain pertama dibutuhkan untuk berikatan dengan DNA, dan domain yang kedua dibutuhkan untuk aktivasi transkripsi. Ada beberapa kelas *trans-acting factors* yang sudah dikenal, dan seluruhnya mengaktivasi transkripsi dengan jalan berikatan dengan DNA pada sekuens promotor. Dalam tabel 2 berikut ini disajikan beberapa *trans-acting factors* tersebut.

Tabel 2. Beberapa *trans-acting factors* yang sudah dikenal

Kelas	Monomer atau Dimer	Keterangan	Contoh
Heliks-turn-Heliks	Monomer	Domain tiga heliks; heliks 3 berikatan dengan DNA dan heliks 1 dan 2 berikatan dengan protein lain	Protein homeotik <i>Drosophila</i>
Zinc Finger	Monomer	Berikatan dengan Zn (zinc) dalam bagian protein yang kaya histidin-sistein	Protein reseptor steroid
Leucine Zipper	Homo- atau heterodimer	Dimer terbentuk dari interaksi bagian protein yang kaya leusin	Proto-oncogene <i>c-Fos</i> dan <i>c-Jun</i> ; gen <i>op2</i> pada jagung
Heliks-loop-Heliks	Dimer	Dua heliks dihubungkan oleh sebuah loop	Proto-oncogene <i>c-myc</i>

## SOAL BANTU BELAJAR

1. Regulasi ekspresi gen dapat dilakukan pada berbagai tahap dalam aliran informasi gen dari DNA sampai menjadi protein. Sebutkan di tahap-tahap mana saja regulasi tersebut dapat dilakukan. Jelaskan.
2. Dalam hal aktivasi ekspresi gen, posisi dasar atau *ground state* dari gen prokariotik berbeda dengan gen eukariotik. Jelaskan mengenai hal ini.
3. Dalam gen bakteri dikenal sistem regulasi beberapa gen yang disebut Operon. Jelaskan apa yang dimaksud dengan operon. Berikan beberapa contoh Operon yang Saudara ketahui, lalu jelaskan secara ringkas bagaimana pengaturan ekspresi gen pada masing-masing operon tersebut.
4. Sel bakteri dapat mengambil asam amino triptofan (Trp) dari lingkungan sekitarnya. Namun, apabila lingkungannya kekurangan triptofan maka sel bakteri tersebut dapat mensintesis triptofan di dalam selnya. Trp represor adalah regulator transkripsi yang dapat menutup (shut off) atau mencegah transkripsi gen yang mengkode enzim-enzim yang dibutuhkan untuk biosintesis triptofan (lihat gambar di bawah ini).



- a. Apa yang terjadi pada regulasi operon triptofan dalam sel yang mengekspresikan bentuk mutan dari Trp represor yang: 1) tak dapat berikatan dengan DNA, 2) tak dapat mengikat triptofan, atau 3) berikatan dengan DNA walaupun tidak ada triptofan ?
- b. Apa yang akan terjadi pada skenario 1), 2), dan 3), apabila sel, sebagai tambahan, memproduksi protein Trp represor normal dari gen kedua yang normal ?

5. Jelaskan peran *cis-acting sequences* dan *trans-acting factors* dalam regulasi ekspresi gen eukariotik.
6. *Trans-acting factors* memiliki dua domain fungsional. Sebutkan dan jelaskan kedua domain tersebut.
7. Sebutkan beberapa kelas *trans-acting factors*, jelaskan bagaimana perannya dalam regulasi ekspresi gen, dan berikan contohnya.
8. Analogi apa yang dapat ditarik antara *trans-acting factors* yang meregulasi ekspresi gen pada sel-sel eukariotik dengan faktor-faktor yang mempunyai peran yang serupa dalam sel-sel bakteri. Berikan contoh dan jelaskan.
9. Faktor transkripsi apa yang dibutuhkan untuk berlangsungnya transkripsi DNA eukariotik oleh enzim RNA polimerase II?
10. Uraikan hubungan antara promotor, CCAAT Box, GC box, *enhancer* dan *silencer*.

## DAFTAR PUSTAKA

Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. Biochemistry. 5<sup>th</sup> edition. WH Freeman & Co.;

Cooper GM, Sunderland MA. The Cell: A Molecular Approach. 2nd edition. Sinauer Associates; 2000.

King MW. The Medical Biochemistry Page. Diakses pada tanggal 14 Oktober 2013 melalui [themedicalbiochemistrypage.org](http://themedicalbiochemistrypage.org). (last modified: February 8, 2013)

Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harper's Illustrated Biochemistry. 26<sup>th</sup> edition. Lange Medical Books/McGraw-Hill Medical Publishing Division, New York; 2003.

