

GENETIKA BAKTERI

Juliyatin Putri Utami, S.Si, M. Biomed



GENETIKA BAKTERI

Juliyatin Putri Utami, S.Si, M.Biomed



GENETIKA BAKTERI

Penulis:

Juliyatin Putri Utami, S.Si, M.Biomed

PENERBIT:

ULM Press, 2023

d/a Pusat Pengelolaan Jurnal dan Penerbitan ULM

Lantai 2 Gedung Perpustakaan Pusat ULM

Jl. Hasan Basri, Kayutangi, Banjarmasin 70123

Telp/Fax. 0511 - 3305195

ANGGOTA APPTI (004.035.1.03.2018)

Hak cipta dilindungi oleh Undang Undang

Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh isi buku tanpa izin

tertulis dari Penerbit, kecuali

untuk kutipan singkat demi penelitian ilmiah dan resensi

132 hal, 15,5 × 23 cm

Cetakan Pertama. ... 2023

ISBN : ...

*Buku ini kupersembahkan untuk para ibu yang berdedikasi
tinggi di rumah maupun dunia kerja...*

Ingat, kalian berharga!

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim.

Alhamdulillahirabbil a'lamiin.

Dengan rahmat Allah SWT, akhirnya buku ini dapat diselesaikan dengan baik. Sholawat serta salam semoga senantiasa tercurah limpahkan kepada Baginda Rosul Muhammad SAW, keluarga, serta sahabat. Berkat tuntunannya, kita semua diterangi cahaya ilmu pengetahuan seperti pada saat ini.

Buku Genetika Bakteri ini merupakan sebuah buku yang disusun dan ditujukan untuk membantu kalangan akademik, baik dosen, mahasiswa, peneliti untuk mengulas tentang genetika khusus pada bakteri. Di dalam buku ini terdapat kumpulan informasi dengan enam topik utama mulai dari pengantar genetika bakteri, makromolekul, organisasi genom bakteri, mutasi dan seleksi, perpindahan informasi genetik, regulasi ekspresi gen, serta peran genetika bakteri dalam kehidupan. Keseluruhan materi ditujukan untuk dapat digunakan dalam menunjang khasanah pengetahuan genetika bakteri di beberapa bidang seperti kedokteran, biologi, pertanian, perikanan dan sains lainnya.

Meskipun demikian, apa yang ada dalam buku ini bukannya titik akhir karena ilmu pengetahuan bersifat dinamis.

Penulis akan senantiasa menerima saran dan masukan demi kesempurnaan buku ini. Semoga buku ini membantu dalam memberikan referensi genetika bakteri khususnya dan bermanfaat dalam menunjang ilmu pengetahuan dalam konteks yang luas. Amin.

Banjarbaru, 1 Oktober 2023

Juliyatin Putri Utami, S.Si., M.Biomed

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	4
BAB I.....	9
PENGANTAR GENETIKA BAKTERI.....	9
BAB II	13
A. Kromosom.....	32
B. Plasmid	35
C. Bakteriofag	41
A. Deteksi Fenotipe Mutan	47
B. Mutasi Spontan dan Induksi	49
C. Mutasi Berbasis Molekuler	52
D. Tes Komplementasi Bakteri.....	54
E. Supresi dan Reversi	55
F. Transposon.....	78
A. mRNA sebagai Unit Transkripsi.....	88
B. Regulasi Inisiasi Transkripsi.....	89
C. Regulasi Translasi	97
D. Regulon dan Protein Transduksi Sinyal	98
DAFTAR PUSTAKA	119
GLOSARIUM	123
INDEKS.....	129

PROFIL PENULIS	131
SINOPSIS	132

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Ikatan hidrogen pada DNA double heliks	27
Gambar 2. Penggabungan transkripsi dan translasi pada prokariota	29
Gambar 3. DNA kromosom sirkuler (plasmid) bakteri <i>E. coli</i> sedang mengalami replikasi	37
Gambar 4. Konjugasi pada bakteri	64
Gambar 5. Transformasi Bakteri	71
Gambar 6. Transduksi. Biru: DNA Bakteri, Merah muda: DNA virus	72
Gambar 7. Operon <i>trp</i>	93
Gambar 8. Proses Remediasi Logam berat	106

BAB I

PENGANTAR GENETIKA BAKTERI

Seringkali ketika mendengar kata “bakteri” yang muncul di bayangan adalah hal yang kotor, jorok, merugikan dan jauh dari penilaian baik. Dari sifat bakteri yang mudah memperbanyak diri semakin memberikan kesan bahwa bakteri adalah makhluk yang sukar dikendalikan sehingga manusia cenderung menghindarinya. Padahal banyak hal yang belum terungkap dan dapat dipelajari dari bakteri serta peranannya dalam kehidupan sehari-hari.

Genetika bakteri merupakan salah satu aspek bakteri yang penting untuk dipelajari agar lebih mengenal peranan bakteri dalam kehidupan. Sejauh ini bakteri dikenal hanya mampu menyebabkan penyakit dan dikaitkan dengan kesehatan manusia. Peneliti banyak melakukan penelitian tentang bakteri yang dapat dimanfaatkan dalam dunia industri seperti pembuatan antibiotik yang dihasilkan oleh *Streptomyces* atau bakteri yang memiliki kelengkapan khusus untuk mempelajari pola genetiknya. Pada beberapa tahun terakhir analisis sistem genetika dikembangkan pada bakteri seperti *Rhizobium* (berhubungan dengan pengikatan nitrogen pada akar tumbuhan), dan *Pseudomonas*, yang merupakan strain bakteri yang mampu mendegradasi beberapa

senyawa kontaminan dari hasil samping industri seperti benzene, toluene, dan xylene.

Genetika bakteri tidak dapat dipisahkan dari bidang mikrobiologi. Fungsi sel ditentukan oleh fungsi gen dan regulasi gen, sehingga proses dasar pada bakteri sering dilibatkan untuk mempelajari tingkatan gen. Dengan mempelajari mekanisme genetika pada tingkat bakteri, peneliti dapat mengembangkan model untuk mempelajari biologi molekuler dan penelitian genetika.

Mengapa perlu mempelajari genetika bakteri?

Perkembangan genetika bakteri sebenarnya agak terlambat apabila dibandingkan dengan penelitian genetika pada beberapa organisme seperti lalat, jagung dan kacang-kacangan. Namun, perkembangan penelitian genetika bakteri memiliki manfaat besar bagi ilmu pengetahuan. Setiap sel bakteri merupakan organisme kompleks dan pertumbuhannya berdasarkan duplikasi dari sel bakteri itu sendiri. Bakteri tumbuh dengan cepat, biomasnya akan melimpah dalam waktu singkat. Meskipun mengalami diferensiasi molekuler untuk menciptakan tipe sel baru, seperti *endospore*, *fruiting body* atau *heterocyst* masih dikatakan lebih sederhana apabila dibandingkan pada eukariota. Proses genetika dari pertukaran genetik sering dianggap sebagai hal utama untuk mempelajari siklus hidup

organisme eukariota. Namun, hal ini berbeda pada bakteri karena bakteri memiliki komponen sel dan komponen genetik yang memiliki pola berbeda dengan eukariota. Adapun beberapa hal pertukaran materi genetik pada bakteri yang berbeda dari organisme eukariota adalah sebagai berikut.

- a. Bakteri tidak mengalami pertukaran materi genetik dengan pembelahan meiosis. Pada bakteri, melibatkan dua genom di dalamnya.
- b. Bakteri secara umum menukarkan bagian kecil dari genom, sedikit gen pada satu waktu melalui transformasi, transduksi dan konjugasi.
- c. Transfer di antara spesies dalam satu kingdom sering terjadi.

Para ahli mikrobiologi menentukan kebutuhan nutrisi dan mengembangkan media kultur untuk pertumbuhan bakteri di laboratorium. Kebutuhan nutrisi bakteri digunakan untuk mendeteksi fenotif bakteri. Apabila ingin mendeteksi mutan autotrophic yang tidak dapat mensintesis Leucine. Peneliti mengkultur bakteri pada plate petri yang mengandung medium yang terdapat leucine di dalamnya sehingga bakteri prototroph dan bakteri auxotroph yang memiliki alel leu- akan tumbuh pada media tersebut.

Banyak teknik yang mulai dikembangkan untuk memudahkan manusia mengkaji tentang karakteristik bakteri, mengkaitkan dengan informasi genetik yang dibawanya, mempelajari mekanismenya dan melakukan banyak inovasi di dalamnya. Genetika bakteri unik untuk dipelajari, regulasi yang dimiliki dapat menunjukkan bukti bahwa makhluk tak kasat mata ini termasuk makhluk yang pioner, fleksibel dan sangat mudah beradaptasi.

BAB II

MAKROMOLEKUL

A. Struktur Kimia Asam Nukleat

Sel menghasilkan tiga tipe polimer besar yang disebut makromolekul yaitu polisakarida, protein dan asam nukleat. Gula merupakan salah satu bentuk monomer yang digunakan untuk membentuk polisakarida. Makromolekul ini merupakan komponen penting pada dinding sel tumbuhan dan skeleton serangga. Seperti untaian yang membawa informasi yang merupakan sebuah bentukan beberapa unit. Suatu unit akan bersifat identic, dan dapat menerima informasi tambahan yang akan dibawa. Beberapa polisakarida akan menghasilkan kompleksitas informasi yang lebih besar yang berkaitan dengan kode linear unit berbeda pada kasus tertentu. Hal inilah yang merupakan ciri khas dari dua makromolekul biologi, yaitu protein dan asam nukleat (Lodish, 2005).

Asam nukleat adalah komponen genetic penting yang berisi kode-kode penentu sifat makhluk hidup. Asam nukleat, merupakan komponen vital semua makhluk hidup. Pertama kali diisolasi pada tahun 1869 dari sel nanah dan spermatozoa dari salmon Rhine. Asam nukleat terdiri dari gula, grup fosfat dan basa purin dan pirimidin. Struktur kimia dari basa purin termasuk asam

urea (produk akhir dari metabolisme purin pada manusia) yang ditemukan pada akhir abad ke-19. Peran dari asam nukleat dalam menyimpan dan menerjemahkan informasi genetik dalam sel telah dijelaskan pada abad ke-20. Basa ini memiliki peran penting dalam metabolisme dan signaling sel dan organisme.

B. Struktur Kimia Protein

Protein berperan besar pada banyak fungsi biologi sebagai contoh, fungsi protein pada membran untuk membantu transportasi bahan dari dan ke dalam sel. Semua protein adalah polimer yang mengandung rantai asam amino yang terikat secara kimiawi oleh ikatan amida (peptida). Sebagian besar organisme menggunakan 20 asam amino yang terbentuk secara alami untuk membangun protein. Sekuen linier dari asam amino dalam protein ditentukan oleh urutan nukleotida dalam kode genetik suatu organisme.

Asam amino ini disebut asam alfa (α)-amino karena gugus amino melekat pada karbon yang pertama dalam rantai yang terhubung pada karboksil karbon. Asam amino diklasifikasikan berdasarkan polaritas rantai samping gugus R, dan sifat asam atau basa: – netral, nonpolar – netral, polar – basa, polar (mengandung gugus amino tambahan) – asam, polar (mengandung tambahan

gugus karboksilat). Semua asam amino juga dikenal dengan singkatan tiga huruf dan satu huruf.

C. Struktur DNA

Sebelum DNA diidentifikasi sebagai material genetik, pengetahuan manusia tentang material yang mempunyai kemampuan mentransmisikan sifat dari induk kepada keturunannya berkembang melalui serangkaian eksperimen yang menarik. Mulai dari protein, lemak, RNA dan juga DNA menjadi kandidat material yang dianggap sebagai materi pewarisan sifat. Untuk dapat dikategorikan sebagai material genetik, paling tidak terdapat empat karakter yang harus dimiliki material tersebut yakni:

1. Mampu direplikasi/digandakan
2. Mampu menyimpan informasi didalamnya
3. Mampu mengekspresikan informasi tersebut
4. Bersifat stabil namun mampu mengalami variasi melalui proses mutasi

DNA adalah suatu asam nukleat yang berisi informasi biologis unik dari setiap makhluk hidup dan beberapa virus. DNA adalah sebuah polimer materi genetik pembawa informasi tentang

bagaimana, kapan dan di mana tiap jenis protein akan dibuat. Struktur 3D DNA terdiri dari dua untai Panjang berbentuk heliks yang saling mengait terhadap sumbu pusat membentuk heliks ganda. Untaian DNA tersusun dari monomer-monomer nukleotida yang bersifat basa karena strukturnya terdiri dari basa organik siklik. Empat nukleotida yang berbeda ditandai dengan A, T, G dan C digabung dari ujung ke ujung pada untai DNA. A akan berpasangan dengan T, sedangkan G berpasangan dengan C. pasangan komplemen ini akan berikatan dengan kuat. Jika pasangannya terpisah, salah satunya akan merekat ulang pada kondisi yang tepat.

Sebuah molekul DNA terdiri dari dua rantai polinukleotida panjang yang terdiri dari subunit yang dikenal sebagai nukleotida. Sebuah nukleotida terdiri dari basa nitrogen, gula pentosa, dan setidaknya satu gugus fosfat. DNA memiliki gula berupa 2'-deoksiribosa dan tidak memiliki gugus hidroksil yang terikat pada karbon 2' (diucapkan "dua prima"); ini berbeda dengan RNA, yang tidak memiliki posisi 2' gula pentosa karena tereduksi (atau terdeoksigenasi), menjadikannya hanya ribosa. Terikat secara kovalen pada karbon 5' dari 2'-deoksiribosa adalah gugus fosfat. Karena gugus 2'-deoksiribosa dan fosfat selalu ada, yang membedakan keempat nukleotida DNA adalah basa nitrogen yang digabungkan. Setiap organisme memiliki fraksi

DNA genomik yang dapat ditranskripsikan atau dibaca, untuk mengekspresikan informasi yang dimiliki dengan mensintesis RNA dan molekul protein secara langsung. Segmen yang dapat ditranskripsikan disebut gen.

Salah satu perbedaan antara struktur DNA pada prokariot dan eukariot adalah molekul prokariot yang berbentuk sirkuler dan dapat muncul pada mitokondria eukariota, DNA kloroplas dan menjadi bukti teori endosimbiotik pada eukariota. Struktur ini bertolak belakang dengan DNA eukariota bahwa akhir molekul DNA tidak terhubung dan bersifat “bebas”. Prokariota memiliki kromosom berbentuk sirkuler, sedangkan eukariota memiliki variasi ukuran kromosom linear. Untuk tujuan tertentu, pengurangan ukuran untuk memastikan isi di dalamnya tetap terjaga dengan baik, prokariota memanfaatkan supercoiling. Eukariota memiliki lebih banyak DNA daripada prokariota (3234 mbps vs 4.4 mbps).

DNA eukariota jika dibentangkan dapat mencapai 2 meter panjangnya, untuk memperpendek untaian tersebut disusun dan dililit dengan protein histon untuk membentuk nukleosom, selanjutnya nukleosom digulung membentuk benang-benang kromatin yang akan dibungkus menjadi kromosom.

1. Struktur Primer Polinukleotida DNA

DNA tersusun dari monomer-monomer nukleotida. Setiap nukleotida terdiri dari satu basa nitrogen berupa senyawa purin atau pirimidin, satu gula pentosa berupa 2'-deoksi-D-ribosa dalam bentuk furanosa, dan satu molekul fosfat. Penulisan urutan basa dimulai dari kiri yaitu ujung 5' bebas (tidak terikat nukleotida lain) menuju ujung dengan gugus 3' hidroksil bebas atau dengan arah 5'↗3' (Holmes, et al. 1996).

Setiap untai DNA terdiri dari untaian subunit nukleotida yang dihubungkan pada bagian gulanya. Secara khusus, nukleotida dalam untai DNA terikat bersama melalui ikatan ester antara gugus fosfat yang melekat pada karbon 5' dan gugus hidroksil pada karbon 3' dari nukleotida yang berdekatan. Ikatan ini dikenal sebagai ikatan fosfodiester, dan terbentuk melalui reaksi kondensasi selama sintesis DNA. Akibatnya, setiap untai molekul DNA memiliki serangkaian nukleotida dengan gugus 5' fosfat dan 3' hidroksil yang berpartisipasi dalam ikatan fosfodiester. Setiap untai molekul DNA eukariotik memiliki gugus fosfat 5' 'bebas' di satu ujung, tidak terikat pada gugus hidroksil, dan gugus hidroksil 3' 'bebas' di ujung lainnya, tidak terikat pada gugus fosfat. Asimetri ini telah menyebabkan adopsi konvensi di mana DNA dibaca dalam arah tertentu, yaitu dari ujung 5' ke ujung 3'. Urutan nukleotida yang membentuk molekul DNA disebut sebagai **struktur primer**.

2. Struktur Sekunder Polinukleotida DNA

Salah satu sifat biokimia DNA yang menentukan fungsinya sebagai pembawa informasi genetik adalah komposisi basa penyusun. Pada tahun 1949-1953, Edwin Chargaff menggunakan metode kromatografi untuk pemisahan dan analisis kuantitatif keempat basa DNA, yang diisolasi dari berbagai 2 organisme. Kesimpulan yang diambil dari data yang terkumpul adalah sebagai berikut :

- a. Komposisi basa DNA bervariasi antara spesies yang satu dengan spesies yang lain.
- b. Sampel DNA yang diisolasi dari berbagai jaringan pada spesies yang sama mempunyai komposisi basa yang sama.
- c. Komposisi DNA pada suatu spesies tidak berubah oleh perubahan usia, keadaan nutrisi maupun perubahan lingkungan.
- d. Hampir semua DNA yang diteliti mempunyai jumlah residu adenin yang sama dengan jumlah residu timin ($A=T$), dan jumlah residu guanin yang sama dengan jumlah residu sitosin ($G=C$) maka $A+G = C+T$, yang disebut aturan Charrgaff.

- e. DNA yang diekstraksi dari spesies-spesies dengan hubungan kekerabatan yang dekat mempunyai komposisi basa yang hampir sama.

Molekul DNA terdiri dari dua rantai nukleotida terpolimerisasi yang berjalan berdampingan, disatukan oleh ikatan hidrogen yang terbentuk di antara basa nitrogennya. Khususnya, nukleotida terikat bersama dengan cara yang sangat spesifik, dengan A berpasangan dengan T, dan G berpasangan dengan C; Pasangan A dan T adalah dengan dua ikatan hidrogen, dan C dan G dengan tiga. Pasangan spesifik ini menghasilkan sekitar 1 banding 1 rasio pirimidin dan purin dalam sel tertentu, sebuah konsep yang dikenal sebagai aturan Chargaff. Skema pasangan ini disebut sebagai pasangan basa komplementer dan merupakan pasangan yang paling menguntungkan secara energetik.

Selain itu, DNA disusun sedemikian rupa sehingga gula dari setiap untai berada di luar, sedangkan ikatan hidrogen basa di dalam, menghasilkan apa yang dikenal sebagai rangka *backbone* gula-fosfat. Jadi, yang muncul adalah dua rantai *backbone* gula-fosfat yang berjalan berdampingan dengan basa nitrogen berpasangan komplementer yang mengikat ikatan hidrogen di antara kedua rantai tersebut. Dua untai molekul DNA berjalan secara antiparalel, sehingga ujung 5' dari satu untai adalah ujung

3' dari yang lain. Pasangan basa nukleotida antara dua untai molekul DNA tunggal ini disebut sebagai **struktur sekunder DNA**.

3. Struktur Tersier Polinukleotida DNA

Bentuk tiga dimensi dari molekul DNA, atau struktur tersiernya, adalah heliks ganda tangan kanan (right-handed). Basa ikatan hidrogen pada setiap untai ditumpuk secara paralel dan tegak lurus terhadap rangka gula-fosfat. Seperti yang ditunjukkan oleh pola difraksi sinar-x, basa secara teratur berjarak 0,34 nm di sepanjang sumbu heliks.

Ada sekitar sepuluh pasang basa per putaran, karena putaran penuh heliks dibuat setiap 3,4 nm. DNA memiliki rotasi +36 derajat per pasangan basa (bp) dan diameter heliks 1,9 nm. Saat memfokuskan pada rangka heliks DNA, ada dua alur heliks dengan lebar berbeda yang dikenal sebagai alur minor dan mayor. Alur kecil/minor menggambarkan ruang antara dua untai DNA antiparalel yang berjalan paling dekat bersama-sama, sedangkan alur mayor menggambarkan ruang di mana dua untaianya memiliki jarak terjauh.

Dimensi spesifik ini menggambarkan bentuk B dari DNA, bentuk utama yang ada di sebagian besar bagian DNA dalam sel. Ini berbeda dengan bentuk A dan Z DNA yang jauh lebih langka.

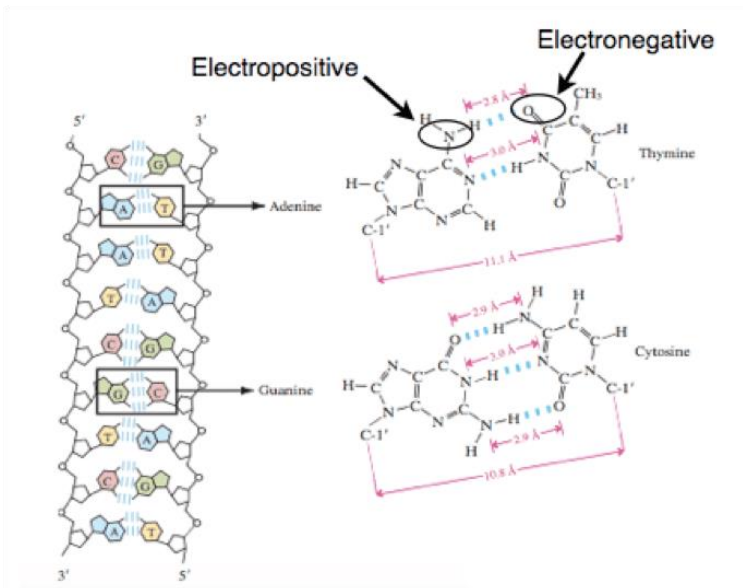
Bentuk A adalah heliks ganda tangan kanan dengan jarak yang lebih kecil antara basa (0,256 nm), dan dengan demikian lebih banyak basa per putaran (11 bp per putaran) dan rotasi heliks yang lebih kecil per pasangan basa (+33 derajat). Z DNA adalah heliks ganda tangan kiri (left-handed) dan paling banyak ditemukan dalam genom manusia di mana ada banyak purin dan pirimidin bergantian berturut-turut (yaitu, dalam urutan seperti GCGCGCGCGCG). Alasan utama DNA mengambil bentuk B, berbeda dengan bentuk lainnya, adalah karena DNA merupakan struktur tersier yang paling stabil secara energi.

D. Denaturasi dan Renaturasi

Denaturasi didefinisikan sebagai perubahan struktur asli biomolekul. Pemutusan ikatan non kovalen seperti hidrogen, ion dan gaya van der Waals dll menyebabkan denaturasi. DNA adalah struktur heliks rantai kanan, terdiri dari dua polinukleotida yang disatukan oleh ikatan hidrogen yang terbentuk di antara pasangan basa nitrogen yang saling melengkapi. Denaturasi DNA berarti pemutusan ikatan hidrogen yang menyebabkan pemisahan dua untai.

Ikatan hidrogen adalah gaya tarik-menarik antara atom hidrogen dari satu atom atau gugus elektronegatif kovalen dengan atom atau gugus elektronegatif lainnya. Ikatan ini merupakan ikatan yang lemah dan kekuatannya berkisar antara 4 kJ hingga

50 kJ per mol. Kekuatan ikatan hidrogen hanya 5% dibandingkan dengan ikatan kovalen. Karena kelemahannya, ikatan hidrogen cenderung mudah putus. Faktor-faktor yang berbeda seperti suhu, pH dan bahan kimia dapat menyebabkan putusnya ikatan hidrogen. Dan karenanya, denaturasi juga dipengaruhi oleh faktor yang sama.



Gambar 1. Ikatan hidrogen pada DNA double heliks (Sumber: (Nelson and Cox, 2017))

Ketika dua untai DNA yang terpisah berikatan kembali, ini disebut sebagai renaturasi DNA. Ini berarti transformasi dari struktur terdenaturasi menjadi struktur asli. Renaturasi DNA terjadi pada suhu kamar atau pH netral atau tanpa adanya zat

kimia yang mendenaturasi. Suhu rendah mengurangi entropi dan mendukung tumbukan dan kontak kedua untai. Ketika dua untai berdekatan, akan cenderung membentuk ikatan hidrogen lagi untuk membentuk heliks untai ganda. Oleh karena itu, Denaturasi adalah proses yang dapat dibalik. Ketika DNA terdenaturasi didenaturasi ulang, absorbansi UV pada 260 nm menurun karena menyembunyikan basa nitrogen, dan ini disebut sebagai pergeseran Hipokromik.

E. Struktur dan Fungsi RNA

Struktur utama RNA terdiri dari nukleotida yang terikat oleh ikatan fosfodiester 5'-3' di antara gula ribosa. Ribosa memiliki rumus molekul $C_5H_{10}O_5$ dan memiliki bentuk D-ribosa yang terjadi secara alami dan L-ribosa yang lebih jarang ditemukan. Penandaan D dan L mengacu pada posisi gugus hidroksil. Basa nukleotida terdiri dari adenin, guanin, sitosin, dan urasil. Dua ikatan hidrogen terbentuk antara adenin dan urasil, sedangkan tiga ikatan terbentuk antara sitosin dan guanin. Pasangan basa melalui ikatan hidrogen adalah dasar dari struktur sekunder RNA. Struktur tersier RNA adalah hasil dari lipatan RNA, yang menciptakan bentuk tiga dimensi yang terdiri dari heliks dan lengkungan. RNA berbeda dengan DNA karena mengandung nukleotida urasil, bukan timin, dan membawa gugus

hidroksil 2', bukan hidrogen 2'. Karena interaksinya dengan lingkungan pelarut, gugus hidroksil 2' berkontribusi pada konformasi RNA (Denning et al., 2012).

1. mRNA (messenger RNA)

mRNA ditranskripsi dari DNA dan berisi cetak biru genetik untuk membuat protein. mRNA prokariotik tidak perlu diproses dan dapat langsung mensintesis protein. Pada eukariota, transkrip RNA yang baru ditranskripsi dianggap sebagai pra-mRNA dan perlu menjalani pematangan untuk membentuk mRNA. Pra-mRNA mengandung daerah non-kode dan kode yang masing-masing dikenal sebagai intron dan ekson. Selama pemrosesan pra-mRNA, intron disambung, dan ekson disatukan. Tutup 5' yang dikenal sebagai 7-metilguanosisin ditambahkan ke ujung 5' dari transkrip RNA, dan ujung 3' dipoliadenilasi. Poliadenilasi mengacu pada proses di mana ekor poli (A), yang merupakan urutan nukleotida adenin, ditambahkan ke dalam transkrip. Ujung 5' melindungi mRNA dari degradasi, dan ekor poli (A) 3' berkontribusi pada stabilitas mRNA dan membantunya dalam transportasi. Para peneliti juga mempelajari mRNA sebagai pengobatan anti-kanker karena kemampuannya untuk memodifikasi sel (Van et al., 2013).

2. tRNA (transfer RNA)

tRNA adalah molekul RNA yang menerjemahkan mRNA menjadi protein. tRNA ini memiliki struktur daun semanggi yang terdiri dari situs akseptor 3', fosfat terminal 5', lengan D, lengan T, dan lengan antikodon. Fungsi utama tRNA adalah membawa asam amino pada situs akseptor 3' ke kompleks ribosom dengan bantuan aminoasil-tRNA sintetase. Aminoasil-tRNA sintetase adalah enzim yang memuat asam amino yang sesuai ke tRNA bebas untuk mensintesis protein. Setelah asam amino terikat pada tRNA, tRNA dianggap sebagai aminoasil-tRNA. Jenis asam amino pada tRNA tergantung pada kodon mRNA, yang merupakan urutan tiga nukleotida yang mengkode asam amino. Lengan antikodon dari tRNA adalah tempat antikodon, yang melengkapi kodon mRNA dan menentukan asam amino mana yang akan dibawa. tRNA juga mengatur apoptosis dengan bertindak sebagai pemulung sitokrom c (Raina et al., 2014).

3. rRNA (ribosomal RNA)

rRNA membentuk ribosom, yang sangat penting dalam sintesis protein. Ribosom mengandung subunit ribosom besar dan kecil. Pada prokariota, subunit ribosom 30S kecil dan subunit ribosom

50S besar membentuk ribosom 70S. Pada eukariota, subunit 40S dan 60S membentuk ribosom 80S. Ribosom terdiri dari bagian Exit (E), Peptidil (P), dan Akseptor (A) untuk mengikat aminoasil-tRNA dan menghubungkan asam amino untuk membuat polipeptida.

F. Sintesis dan Replikasi DNA

Selama replikasi genom bakteri, setiap untai dalam DNA heliks ganda berfungsi sebagai cetakan untuk sintesis untai komplementer baru. Setiap molekul DNA untai ganda anak perempuan dengan demikian mengandung satu untai polinukleotida lama dan satu untai yang baru disintesis. Jenis replikasi DNA ini disebut semikonservatif. Replikasi DNA kromosom pada bakteri dimulai pada situs kromosom tertentu yang disebut asal dan berlangsung dua arah sampai proses selesai. Ketika bakteri membelah dengan pembelahan biner setelah menyelesaikan replikasi DNA, kromosom yang direplikasi dipartisi ke dalam masing-masing sel anak. Daerah asal secara khusus dan sementara berasosiasi dengan membran sel setelah replikasi DNA dimulai, yang mengarah ke model di mana perlekatan membran mengarahkan pemisahan kromosom anak (model replika). Karakteristik replikasi DNA selama pertumbuhan bakteri ini memenuhi persyaratan materi genetik untuk direproduksi secara akurat

dan diwarisi oleh setiap sel anak pada saat pembelahan sel.

Selama replikasi, untaian komplementer dalam DNA untaian ganda disintesis dengan kecepatan yang berbeda. Replikasi pertama kali dimulai pada untaian terdepan. Replikasi dimulai kemudian, terjadi lebih lambat, dan berlangsung secara terputus-putus pada untaian yang tertinggal.

Ada beberapa perbedaan utama antara sintesis leading dan lagging strand. 1) Sintesis leading strand terjadi searah dengan arah pembukaan garpu replikasi, sedangkan sintesis untaian tertinggal lagging strand terjadi pada arah yang berlawanan. 2) Untuk sintesis leading strand, diperlukan satu primer, sedangkan untuk sintesis lagging strand diperlukan beberapa primer RNA. 3) Setelah sintesis primer awal, leading strand hanya membutuhkan DNA polimerase agar replikasi dapat berlanjut, sedangkan lagging strand membutuhkan beberapa enzim, termasuk DNA polimerase I, RNase H, dan ligase. 4) Leading strand disintesis sebagai bagian yang berkesinambungan, sedangkan lagging strand disintesis sebagai serangkaian potongan yang lebih pendek yang disebut fragmen Okazaki. Dengan demikian, sintesis lagging strand adalah proses multistep yang melibatkan koordinasi kompleks di antara molekul yang berbeda.

Karena ukuran genom prokariota dan eukariota yang

berbeda, proses sintesis lagging strand berbeda di antara keduanya. Perbedaan yang paling menonjol adalah panjang fragmen Okazaki. Panjang fragmen Okazaki rata-rata adalah sekitar 1000 hingga 2000 nukleotida pada prokariota, tetapi hanya 100 hingga 200 nukleotida pada eukariota.

G. Proofreading

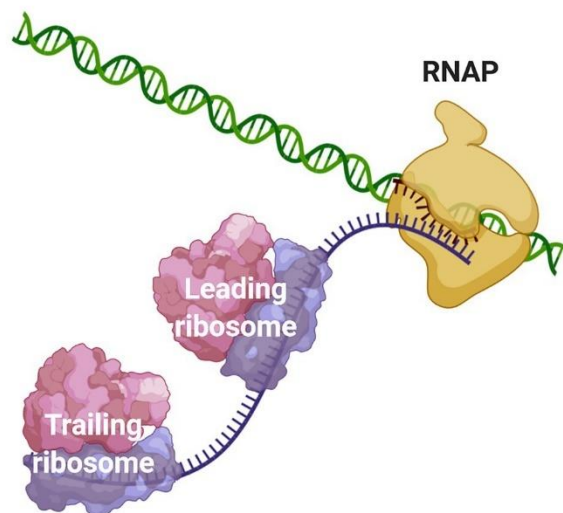
Sintesis molekul DNA baru dimulai ketika DNA polimerase menghubungkan nukleotida bersama-sama dalam urutan yang saling melengkapi dengan untai DNA template. Polimerase DNA memiliki afinitas yang lebih tinggi terhadap basa yang benar untuk memastikan ketepatan dalam replikasi DNA. DNA polimerase selanjutnya mengoreksi selama replikasi, menggunakan domain eksonuklease yang memotong nukleotida yang salah dari untai DNA yang baru terbentuk.

H. Transkripsi dan Translasi

Transkripsi prokariotik adalah proses di mana transkrip RNA messenger dari materi genetik dalam prokariota diproduksi, untuk ditranslasikan menjadi protein. Transkripsi prokariotik terjadi di dalam sitoplasma berdampingan dengan translasi. Transkripsi dan translasi prokariotik dapat terjadi secara bersamaan. Hal ini tidak mungkin terjadi pada eukariota, di mana transkripsi terjadi di dalam nukleus yang terikat membran

sementara translasi terjadi di luar nukleus di dalam sitoplasma. Pada prokariot, materi genetik tidak dilindungi inti yang tertutup membran dan memiliki akses bebas ke ribosom di dalam sitoplasma.

Pada bakteri, inisiasi translasi terjadi secara kotranskripsional, dengan RNA polimerase (RNAP) dan ribosom yang secara fisik berinteraksi satu sama lain. Ribosom mengikat situs pengikatan ribosom (RBS) dari mRNA segera setelah muncul dari RNAP. Penghambatan translasi menyebabkan peningkatan jeda RNAP, menunjukkan bahwa transkripsi dan translasi digabungkan secara kinetik (Rondina, 2018).



Gambar 2. Penggabungan transkripsi dan translasi pada prokariota (Irastortza-Olaziregi M, 2021).

Secara detail, ketika mRNA yang baru terbentuk muncul dari RNAP, transkrip diikat oleh leading ribosom yang membentuk kompleks transkripsi-translasi. Ribosom tambahan dapat berasosiasi dengan mRNA yang baru untuk membentuk konvoi trailing ribosom pada transkrip yang masih terikat pada mesin transkripsi. Leading ribosom dapat berinteraksi secara fisik dengan RNAP, atau kedua mesin tersebut dapat terhubung melalui proses transkripsi (Irastortza-Olaziregi M, 2021).

BAB III

ORGANISASI GENOM BAKTERI

Materi genetik bakteri dan plasmid adalah DNA. Virus bakteri (bakteriofag atau fag) memiliki DNA atau RNA sebagai materi genetik. Dua fungsi penting materi genetik adalah replikasi dan ekspresi. Materi genetik harus bereplikasi secara akurat sehingga keturunan mewarisi semua determinan genetik spesifik (genotipe) dari organisme induk. Ekspresi materi genetik spesifik di bawah serangkaian kondisi pertumbuhan tertentu menentukan karakteristik yang dapat diamati (fenotipe) organisme. Bakteri memiliki beberapa fitur struktural atau perkembangan yang dapat diamati dengan mudah, tetapi mereka memiliki beragam kemampuan biokimia dan pola kerentanan terhadap agen antimikroba atau bakteriofag. Karakteristik terakhir ini sering dipilih sebagai sifat yang diturunkan untuk dianalisis dalam studi genetika bakteri.

A. 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 ± 1 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 (± 70 -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.

Genom bakteri bervariasi dalam ukuran dari sekitar $0,4 \times 10^9$ menjadi $8,6 \times 10^9$ daltons (Da), beberapa yang terkecil adalah parasit obligat (mikoplasma) dan yang terbesar milik bakteri yang mampu berdiferensiasi kompleks seperti *Myxococcus*. Jumlah DNA dalam genom menentukan jumlah maksimum informasi yang dapat dikodekan. Sebagian besar bakteri memiliki genom haploid, kromosom tunggal yang terdiri dari molekul DNA untai ganda melingkar. Namun kromosom linier telah ditemukan pada bakteri Gram-positif *Borrelia* dan *Streptomyces* spp. Dan satu kromosom linier dan

satu kromosom sirkular terdapat pada bakteri Gram-negatif *Agrobacterium tumefaciens*. Kromosom tunggal dari bakteri usus biasa *E. coli* adalah 3×10^9 Da (4.500 pasangan kilobase [kbp]) dalam ukuran, terhitung sekitar 2 sampai 3 persen dari berat kering sel. Genom *E. coli* hanya sekitar 0,1% lebih besar dari genom manusia, tetapi cukup untuk mengkode beberapa ribu polipeptida dengan ukuran rata-rata (40 kDa atau 360 asam amino). *E. Coli* memiliki kromosom dengan panjang kontur sekitar 1,35 mm, beberapa ratus kali lebih panjang dari sel bakteri, tetapi DNA superkoil dan dikemas rapat dalam nukleoid bakteri. Waktu yang diperlukan untuk replikasi seluruh kromosom adalah sekitar 40 menit, yang kira-kira dua kali waktu pembelahan terpendek untuk bakteri ini. Replikasi DNA harus dimulai sesering sel membelah, jadi dengan cepat menumbuhkan bakteri babak baru replikasi kromosom dimulai sebelum babak sebelumnya selesai. Pada tingkat pertumbuhan yang cepat mungkin ada empat kromosom yang bereplikasi untuk membentuk delapan pada saat pembelahan sel, yang digabungkan dengan penyelesaian putaran replikasi kromosom. Jadi, kromosom pada bakteri yang tumbuh cepat bereplikasi di lebih dari satu titik. Replikasi DNA kromosom pada bakteri adalah kompleks dan melibatkan banyak protein yang berbeda.

Dalam genom, molekul DNA umumnya sangat panjang, polimer tipis dengan diameter 2 nm dan panjang yang dapat meluas ke 108-109 nm. Sebagai penyimpan informasi, DNA tidak hanya harus dapat menyandikan informasi genetik yang diperlukan untuk menentukan protein, tetapi juga harus dikemas dalam bentuk kompak yang memungkinkan aksesibilitas informasi itu diatur. Pada gilirannya, akses fungsional informasi juga dapat melibatkan perubahan struktural dalam heliks ganda (eukariot) itu sendiri. Namun, sifat DNA mengharuskan di dalam sel molekul dipadatkan menjadi volume kecil sambil mempertahankan aksesibilitas. Persyaratan untuk pepadatan, aksesibilitas dan modulasi struktural menyiratkan bahwa DNA menjadi fleksibel dan mampu mengubah konformasi dalam menanggapi manipulasi enzimatik. Molekul DNA dapat dimodelkan sebagai string tipis yang sangat panjang elastisitas moderat yang dapat ditekuk ke dalam konfigurasi yang diperlukan untuk menjadi satu kesatuan kompleks.

B. Plasmid

Plasmid merupakan materi genetik di luar kromosom (ekstra kromosomal). Tersebar luas dalam populasi bakteri. Terdiri dari beberapa – 100 kpb, beratnya \pm 1-3 % 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.

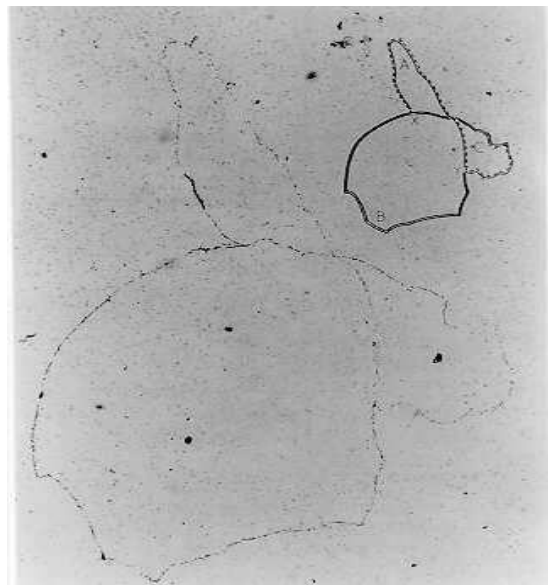
Plasmid adalah replika yang dipertahankan sebagai elemen genetik ekstrakromosomal yang terpisah pada bakteri. Ukurannya biasanya jauh lebih kecil daripada kromosom bakteri, bervariasi dari kurang dari 5 sampai lebih dari beberapa ratus kbp, meskipun plasmid sebesar 2 Mbp terjadi pada beberapa bakteri. Plasmid biasanya mengkodekan sifat-sifat yang tidak penting untuk kelangsungan hidup bakteri, dan bereplikasi secara independen dari kromosom. Kebanyakan plasmid adalah molekul DNA untai ganda, melingkar, superkoil, tetapi plasmid linier juga telah ditunjukkan dalam Borreliadan *Streptomyces*. Plasmid yang terkait erat atau identik menunjukkan ketidakcocokan; mereka tidak dapat dipertahankan secara stabil dalam inang bakteri yang sama.

Klasifikasi plasmid didasarkan pada ketidakcocokan atau penggunaan probe DNA spesifik dalam uji hibridisasi untuk mengidentifikasi urutan nukleotida yang merupakan karakteristik dari replikon plasmid tertentu. Beberapa plasmid hibrida mengandung lebih dari satu replika. Plasmid konjugatif mengkode fungsi yang mendorong transfer plasmid dari bakteri donor ke bakteri penerimalainnya, tetapi plasmid non-konjugatif

tidak. Plasmid konjugatif yang juga mempromosikan transfer kromosom bakteri dari bakteri donor ke bakteri penerima lainnya disebut plasmid kesuburan, dan dibahas di bawah ini. Jumlah rata-rata molekul plasmid tertentu per kromosom bakteri disebut nomor salinannya. Plasmid besar (> 40 pasangan kilobase) sering bersifat konjugatif, memiliki nomor salinan kecil (1 hingga beberapa per kromosom), kode untuk semua fungsi yang diperlukan untuk replikasi, dan mempartisi diri di antara sel anak selama pembelahan sel dengan cara yang mirip dengan kromosom bakteri.

Plasmid yang lebih kecil dari 7,5 kilobase pasangan biasanya non-konjugatif, memiliki jumlah salinan yang tinggi (biasanya 10-20 per kromosom), bergantung pada inang bakteri untuk menyediakan beberapa fungsi yang diperlukan untuk replikasi, dan didistribusikan secara acak antara sel anak pada pembelahan. Banyak plasmid mengontrol sifat-sifat penting secara medis dari bakteri patogen, termasuk resistensi terhadap satu atau beberapa antibiotik, produksi toksin, dan sintesis struktur permukaan sel yang diperlukan untuk perlekatan atau kolonisasi. Plasmid yang menentukan resistensi terhadap antibiotik sering disebut plasmid R (atau faktor R). Racun representatif yang dikodekan oleh plasmid termasuk enterotoksin yang labil terhadap panas dan stabil terhadap panas

yaitu dari *E. coli*, toksin eksfoliatif dari *Stafilokokus aureus*, dan toksin tetanus dari *Clostridium tetani*. Beberapa plasmid bersifat samar dan tidak memiliki efek yang dapat dikenali pada sel bakteri yang menampungnya. Membandingkan profil plasmid adalah metode yang berguna untuk menilai kemungkinan keterkaitan isolat klinis individu dari spesies bakteri tertentu untuk studi epidemiologi. Peran plasmid dalam evolusi resistensi terhadap antibiotik dibahas di bawah ini.



Gambar 3. DNA kromosom sirkuler (plasmid) bakteri *E. coli* sedang mengalami replikasi (sumber: *Randall K. Holmes & Michael G. Jobling, 2001*)

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.

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. Faktor R juga membawa gen untuk replikasi dirinya sendiri dan gen untuk mengatur produksi protein yang mencegah pengenalan plasmid lain. 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.

a) Faktor F

Faktor F merupakan sebuah plasmid konjugatif yang dipindahkan dari sel satu ke sel yang lain secara konjugasi. Faktor F adalah sebuah episom yaitu elemen genetic yang dapat masuk ke dalam kromosom dan bereplikasi sebagai plasmid sirkular. Memiliki Panjang plasmid dengan jumlah copy yang rendah yaitu ~100 kb in length, dan terdapat 1-2 copy pada tiap selnya. Biasanya faktor F akan memperbanyak diri atau bereplikasi satu kali tiap sel dan disegregasikan pada dua sel anakan pada saat pembelahan.

b) Faktor Hfr

High frequency of recombination (Hfr) merupakan Sel dengan plasmid F yang terintegrasi ke dalam kromosom bakteri. F factor dapat berintegrasi ke dalam kromosom melalui pertukaran genetic antara elemen IS pada factor F dan kopian homolognya yang berlokasi pada kromosom bakteri. Ketika sel Hfr mengalami

konjugasi, proses perpindahan factor F diawali dengan cara yang sama seperti pada sel F⁺. Faktor F merupakan bagian dari kromosom bakteri, maka transfer dari Hfr juga melibatkan DNA dari kromosom bakteri.

C. Bakteriofag

Bakteriofag (virus bakteri, fag) adalah agen infeksi yang bereplikasi sebagai parasit intraseluler obligat pada bakteri. Partikel fag ekstraseluler secara metabolik inert dan terutama terdiri dari protein ditambah asam nukleat (DNA atau RNA, tetapi tidak keduanya). Protein dari partikel fag membentuk cangkang pelindung (kapsid) yang mengelilingi genom asam nukleat yang terbungkus rapat. Genom fag bervariasi dalam ukuran dari sekitar 2 hingga 200 kilo basa per untai asam nukleat dan terdiri dari DNA untai ganda, DNA untai tunggal, atau RNA. Genom faga, seperti plasmid, mengkodekan fungsi yang diperlukan untuk replikasi pada bakteri, tetapi tidak seperti plasmid, yang ternyata mampu mengkodekan protein kapsid dan protein nonstruktural yang diperlukan untuk perakitan faga. Beberapa jenis faga yang berbeda secara morfologis telah dideskripsikan, termasuk polihedral, berfilamen, dan kompleks. Infeksi dimulai dengan adsorpsi fag ke reseptor spesifik pada permukaan bakteri inang yang rentan.

Kapsid tetap berada di permukaan sel, dan genom DNA atau RNA memasuki sel target (penetrasi).

Karena infektivitas DNA genom atau RNA jauh lebih sedikit daripada virus dewasa, ada waktu segera setelah infeksi yang disebut periode gerhana di mana fag infeksi intraseluler tidak dapat dideteksi. RNA atau DNA fag yang menginfeksi direplikasi untuk menghasilkan banyak salinan baru dari genom fag, dan protein spesifik fag diproduksi. Untuk sebagian besar fag, perakitan keturunan terjadi di sitoplasma, dan pelepasan keturunan terjadi melalui lisis sel. Sebaliknya, fag berfilamen terbentuk pada selubung sel dan dilepaskan tanpa membunuh sel inang. Periode gerhana berakhir ketika keturunan infeksi intraseluler muncul. Periode laten adalah interval dari infeksi sampai keturunan ekstraseluler muncul, dan periode naik adalah interval dari akhir periode laten sampai semua fag berada di ekstraseluler. Jumlah rata-rata partikel fag yang dihasilkan oleh setiap sel yang terinfeksi, yang disebut ukuran ledakan, merupakan karakteristik untuk setiap virus dan seringkali berkisar antara 50 dan hingga ratusan.

Untuk pembahasan struktur, perkalian, dan klasifikasi virus hewan. Fag diklasifikasikan menjadi dua kelompok besar: virulen dan sedang. Pertumbuhan fag virulen pada

bakteri yang rentan menghancurkan sel inang. Infeksi bakteri yang rentan oleh fag sedang dapat memiliki salah satu dari dua hasil: pertumbuhan daur litik atau lisogenik. Pertumbuhan litik bakteriofag sedang dan virulen serupa, menyebabkan produksi keturunan fag dan kematian bakteri inang. Lisogenik adalah jenis spesifik dari infeksi virus laten di mana genom fag bereplikasi sebagai profag dalam sel bakteri. Pada sebagian besar bakteri lisogenik, gen yang diperlukan untuk perkembangan fag litik tidak diekspresikan, dan produksi fag infeksius tidak terjadi. Selanjutnya, sel-sel lisogenik kebal terhadap superinfeksi oleh virus yang mereka tempati sebagai profag.

Keadaan fisik profag tidak sama untuk semua virus sedang (*temperate*). *E. coli* diintegrasikan ke dalam kromosom bakteri pada tempat tertentu dan bereplikasi sebagai bagian dari kromosom bakteri, sedangkan profag bakteriofag P1 pada *E. coli* bereplikasi sebagai plasmid ekstrakromosomal. Pertumbuhan fag litik terjadi secara spontan di sebagian kecil sel lisogenik, dan beberapa fag ekstraseluler terdapat dalam kultur bakteri lisogenik. Untuk beberapa bakteri lisogenik, induksi sinkron perkembangan fag litik terjadi di seluruh populasi bakteri lisogenik yang diperlakukan dengan agen yang merusak DNA, seperti sinar ultraviolet atau mitomycin

C.

Hilangnya profage dari bakteri lisogenik, mengubahnya menjadi bakteri non-lisogenik. Keadaan nonlisogenik dan pemulihan kerentanan terhadap infeksi oleh fag yang semula ada sebagai profag, disebut penyembuhan. Beberapa fag sedang mengandung gen untuk karakteristik bakteri yang tidak berhubungan dengan perkembangan fag litik atau keadaan lisogenik, dan ekspresi gen tersebut disebut konversi fag (atau konversi lisogenik). Contoh konversi fag yang penting untuk virulensi mikroba termasuk produksi toksin difteri oleh *Corynebacterium diphtheriae*, toksin eritrogenik oleh *Streptococcus pyogenes* (streptokokus-hemolitik grup A), toksin botulinum oleh *Clostridium botulinum*, dan racun seperti Shiga oleh *E. coli*. Dalam masing-masing contoh ini, gen yang mengkode toksin bakteri terdapat dalam genom fag sedang. Spesifisitas antigen O dalam Salmonella juga dapat dikontrol oleh konversi fag. Pengetikan fag adalah pengujian strain spesies bakteri tertentu untuk kerentanan terhadap bakteriofag tertentu. Pola kerentanan terhadap kumpulan fag pengetikan memberikan informasi tentang kemungkinan keterkaitan isolat klinis individu. Informasi tersebut sangat berguna untuk penyelidikan epidemiologi

BAB IV

MUTASI DAN SELEKSI

Meskipun sebagian besar gen bakteri berada pada satu kromosom sirkuler, masih ada elemen genetik lain yang ditemukan di dalam genom bakteri. Elemen-elemen tersebut adalah plasmid, transposon, integron, atau kaset gen dengan urutan dna yang lebih pendek yang terlibat penting pada peristiwa rekombinasi. Replikasi dan transkripsi DNA bakteri terjadi secara bersamaan dan menggunakan DNA cetakan yang sama. Percabangan replikasi ini berjalan secara dua arah dengan satu sumber replikasi, yaitu *OriC*.

Gen bakteri dengan fungsi yang sama sering kali berbagi satu promotor (tempat pengikatan RNA polimerase) dan ditranskripsi secara bersamaan; sistem ini disebut **operon**. Operon yang umum terdiri dari beberapa gen struktural yang mengkode enzim yang diperlukan untuk jalur tersebut. Regulasi terjadi melalui faktor transkripsi yang mengikat urutan pendek DNA antara daerah promotor dan gen struktural yang disebut **operator**.

Mutasi adalah perubahan urutan nukleotida pada daerah pendek genom, dan hasil fenotipik dapat bervariasi tergantung pada tingkat keparahan dan lokasi mutasi. Mutasi dapat terjadi akibat kesalahan selama replikasi DNA atau disebabkan oleh paparan mutagen (seperti bahan kimia dan radiasi). Mutasi spontan terjadi pada tingkat 1 dalam 10^5 hingga 10^8 dan berkontribusi pada variasi populasi secara acak. Karena bakteri bersifat haploid untuk sebagian besar gennya dan memiliki pergantian generasi yang pendek, maka variasi fenotipik akibat mutasi titik dapat terjadi relatif cepat.

Hasil mutasi dapat menyebabkan perubahan karakteristik struktural atau koloni bakteri atau hilangnya sensitivitas terhadap antibiotik. Beberapa konsekuensi potensial dari mutasi adalah sebagai berikut (Wattford dan Warrington, 2023):

- Auxotrof: memiliki mutasi yang membuat proses nutrisi esensial menjadi tidak berfungsi.
- Mutan resisten: dapat bertahan dari tekanan paparan molekul penghambat atau antibiotik akibat mutasi yang didapat.
- Mutan regulator: memiliki gangguan pada urutan regulasi seperti daerah promotor.
- Mutan konstitutif: secara terus menerus mengekspresikan

gen yang biasanya aktif dan nonaktif seperti pada operon.

A. Deteksi Fenotipe Mutan

Media selektif dan diferensial sangat membantu untuk mengisolasi mutan bakteri. Beberapa media selektif memungkinkan mutan tertentu untuk tumbuh, tetapi tidak memungkinkan strain *wildtype* untuk tumbuh. Mutan langka dapat diisolasi dengan menggunakan media selektif tersebut. Media diferensial memungkinkan bakteri *wildtype* dan mutan untuk tumbuh dan membentuk koloni yang berbeda tampilannya. Deteksi mutan langka pada media diferensial dibatasi oleh jumlah koloni yang dapat diamati. Pertimbangkan strain tipe *wildtype* dari *E. Coli* yang rentan terhadap antibiotik streptomisin (fenotipe Str^S) dan dapat memanfaatkan laktosa sebagai satu-satunya sumber karbon (fenotipe Lac⁺). Str yang terjadi secara spontan R mutan jarang dan biasanya ditemukan pada frekuensi kurang dari satu per 10⁹ bakteri dalam kultur *wildtype E. coli*. Meskipun demikian, mutan Str^r dapat diisolasi dengan mudah dengan menggunakan media selektif yang mengandung streptomisin, karena Str^S bakteri terbunuh. Isolasi laktosa-negatif (fenotipe Lac⁻) mutan dari *E. Coli* menimbulkan masalah yang berbeda. Pada media minimal dengan laktosa sebagai satu-satunya sumber karbon,

Lac+galur *wildtype* akan tumbuh, tetapi Lac-mutan tidak dapat tumbuh.

Pada media diferensial seperti agar MacConkey-laktosa atau agar eosin-metilen biru-laktosa, Lac+wild-type dan Lac-strain mutan dari *E. coli* dapat dibedakan berdasarkan warnanya, tetapi Lac spontan-mutan terlalu langka untuk diisolasi dengan mudah. Media selektif untuk Lac-mutan dari *E. coli* dapat dibuat dengan menggabungkan analog kimia laktosa yang diubah menjadi metabolit toksik oleh Lac+ bakteri tetapi tidak oleh Lac-mutan. Lac-mutan kemudian dapat tumbuh pada media tersebut, tetapi Lac+bakteri *wildtype* terbunuh. Mutasi yang menonaktifkan gen esensial pada organisme haploid biasanya mematikan, tetapi mutasi yang berpotensi mematikan tersebut sering dapat dipelajari jika ekspresinya dikendalikan oleh manipulasi kondisi eksperimental. Misalnya, mutasi yang meningkatkan termolabilitas produk gen esensial dapat mencegah pertumbuhan bakteri pada 42°C, meskipun bakteri mutan masih dapat tumbuh pada 25°C. Sebaliknya, mutan peka dingin mengekspresikan fenotipe mutan pada suhu rendah, tetapi tidak pada suhu tinggi. Mutasi peka suhu dan peka dingin adalah contoh mutasi bersyarat, seperti mutasi yang dapat ditekan yang dijelaskan kemudian dalam bab ini. Sebuah

fenotipe mematkan bersyarat menunjukkan bahwa gen mutan sangat penting untuk kelangsungan hidup.

B. Mutasi Spontan dan Induksi

Laju mutasi pada bakteri ditentukan oleh ketepatan replikasi DNA, terjadinya kerusakan DNA, dan efektifitas mekanisme perbaikan DNA yang rusak. Untuk strain bakteri tertentu di bawah kondisi pertumbuhan yang ditentukan, tingkat mutasi untuk setiap gen tertentu adalah konstan dan dinyatakan sebagai probabilitas mutasi per pembelahan sel. Dalam populasi bakteri yang tumbuh dari inokulum kecil, proporsi mutan biasanya meningkat secara progresif seiring dengan peningkatan ukuran populasi bakteri.

Mutasi spontan terjadi tanpa induksi mutasi dan merupakan hasil dari kesalahan selama replikasi DNA. Ketika DNA Pol III mensintesis untai DNA baru, kadang-kadang, nukleotida akan salah berpasangan, ditambahkan, atau dihilangkan. Dengan demikian, mutasi titik akan terjadi. Sebagai contoh, ketika nukleotida salah berpasangan, akan terlihat bahwa satu nukleotida menggantikan nukleotida lain yang menyebabkan satu untai DNA baru yang bermutasi. Dua kerusakan terpisah harus terjadi pada mesin replikasi DNA bakteri agar hal ini dapat terjadi:

- DNA pol III memasangkan basa nukleotida komplementer yang salah pada untai induk dalam garpu replikasi
- Aktivitas kimiawi dari pasangan yang salah tidak cukup untuk memperlambat bagian polimerase dari DNA polimerase sehingga eksonuklease dapat menghilangkan pasangan yang salah
- Studi dengan *Escherichia coli* menunjukkan bahwa mutasi spontan terjadi 20 kali lebih sering pada lagging strand dari pada leading strand.

Mutasi spontan pada individu bakteri jarang terjadi. Beberapa mutasi menyebabkan perubahan karakteristik fenotipik; terjadinya mutasi tersebut dapat disimpulkan dari efek yang mereka hasilkan. Dalam genetika mikroba, organisme referensi spesifik ditetapkan sebagai galur *wildtype*, dan keturunan yang memiliki mutasi pada genomnya disebut mutan. Dengan demikian, mutan dicirikan oleh perbedaan warisan antara mereka dan galur *wildtype* leluhurnya. Bentuk varian dari determinan genetik tertentu disebut alel. Simbol genotipe adalah huruf kecil, singkatan miring yang menentukan gen individu, dengan superskrip (+) menunjukkan alel *wildtype*. Simbol fenotip dikapitalisasi dan tidak dicetak miring, untuk membedakannya dari simbol genotipe. Sebagai contoh, lacZ⁺,

dan mutan yang tidak dapat menghasilkan galaktosidase adalah lacZ. Fenotipe yang memfermentasi laktosa disebut Lac+, dan ketidakmampuan untuk memfermentasi laktosa.

Paparan bakteri terhadap agen mutagenik menyebabkan tingkat mutasi meningkat, terkadang beberapa kali lipat. Banyak agen kimia dan fisik, termasuk sinar-X dan sinar ultraviolet, memiliki aktivitas mutagenik. Bahan kimia yang bersifat karsinogenik bagi hewan seringkali bersifat mutagenik bagi bakteri, atau dapat diubah oleh jaringan hewan menjadi metabolit yang bersifat mutagenik bagi bakteri. Tes standar untuk mutagenisitas pada bakteri digunakan sebagai prosedur penyaringan untuk mengidentifikasi agen lingkungan yang mungkin menjadi karsinogenik pada manusia. Gen mutator pada bakteri menyebabkan peningkatan laju mutasi spontan untuk berbagai gen lain. Ekspresi gen-gen ini, yang diinduksi oleh kerusakan DNA, memungkinkan perbaikan lesi DNA yang seharusnya mematikan, tetapi dengan mekanisme rawan kesalahan yang meningkatkan laju mutasi. Tingkat mutasi keseluruhan kemungkinan bahwa mutasi akan terjadi di suatu tempat dalam genom bakteri per pembelahan sel relatif konstan untuk berbagai organisme dengan ukuran genom yang berbeda dan tampaknya menjadi faktor penting dalam menentukan kesesuaian galur bakteri untuk kelangsungan hidup di alam.

Kebanyakan mutasi bersifat merusak.

C. Mutasi Berbasis Molekuler

Mutasi diklasifikasikan berdasarkan perubahan struktural yang terjadi pada DNA. Beberapa mutasi terlokalisasi dalam segmen pendek DNA (misalnya, substitusi nukleotida, mikrodelesi, dan penyisipan mikro). Mutasi lain melibatkan daerah besar DNA dan termasuk penghapusan, penyisipan, atau penataan ulang segmen DNA. Ketika substitusi nukleotida terjadi di wilayah DNA yang mengkode polipeptida, salah satu dari tiga nukleotida dalam satu kodon dari molekul mRNA yang sesuai akan diubah.

Mutasi diam tidak menyebabkan perubahan struktur atau fungsi polipeptida, karena satu kodon dalam mRNA diubah menjadi kodon lain untuk asam amino yang sama. Substitusi lain menyebabkan satu asam amino digantikan oleh yang lain pada posisi spesifik dalam polipeptida yang sesuai dengan kodon yang diubah.

Mutasi yang menghasilkan penggantian satu asam amino dengan yang lain dalam rantai polipeptida disebut mutasi missense. Efek penggantian asam amino pada fungsi produk gen polipeptida bervariasi dan bergantung pada lokasi dan identitas pengganti asam amino. Polipeptida mutan yang mengandung

pengganti asam amino biasanya berbagi determinan antigenik dengan polipeptida *wildtype* dan sering memiliki beberapa aktivitas biologis residual.

Mutasi yang menghasilkan penggantian kodon asam amino dengan kodon terminasi disebut mutasi nonsense. Ini menghasilkan produksi fragmen terminal amino dari polipeptida normal ketika mRNA mutan diterjemahkan. Mutasi nonsense sering mengakibatkan hilangnya aktivitas produk gen. Karena sifat triplet dari kode genetik, konsekuensi mutasi yang disebabkan oleh penyisipan atau penghapusan sejumlah kecil nukleotida (mikroinsersi, mikrolelesi) bergantung pada jumlah dan urutan nukleotida yang terlibat. Penghapusan atau penambahan kelipatan tiga pasangan nukleotida tidak memengaruhi kerangka pembacaan, tetapi menyebabkan penghapusan atau penambahan jumlah asam amino yang sesuai di satu tempat dalam polipeptida. Jika kodon pemutus rantai baru diperkenalkan, pemutusan rantai prematur terjadi di dalam polipeptida. Sebaliknya, penambahan atau penghapusan sejumlah pasangan nukleotida mengubah kerangka pembacaan untuk seluruh segmen mRNA. Oleh karena itu, mutasi frameshift cenderung menyebabkan perubahan drastis pada struktur dan aktivitas produk gen polipeptida.

D. Tes Komplementasi Bakteri

Untuk menentukan apakah mutasi terletak pada gen yang sama atau gen yang berbeda, tes komplementasi dilakukan dengan strain bakteri diploid parsial. Dua salinan wilayah kromosom bakteri yang menyimpan mutasi terdapat pada bakteri yang sama, dengan setiap salinan mengandung mutasi yang berbeda (mutasi berada dalam susunan trans). Fenotipe *wildtype* menunjukkan bahwa mutasi berada pada gen yang berbeda. Fenomena ini disebut komplementasi. Jika fenotipe mutan diamati, eksperimen kontrol harus dilakukan dengan mutasi pada susunan cis untuk mengecualikan kemungkinan bahwa alel *wildtype* tidak dapat diekspresikan secara normal dalam strain bakteri diploid parsial.

Tes komplementasi awalnya disebut tes "cis-trans", dan istilah cistron kadang-kadang digunakan sebagai sinonim untuk gen. Sebagai contoh, pertimbangan untuk menggunakan uji komplementasi untuk mengkarakterisasi dua Lac yang diturunkan secara independen-mutan dari *E. coli*. Jalur biokimia untuk pemanfaatan laktosa membutuhkan -galaktosida permease (simbol genotip lacY) untuk mengangkut laktosa ke dalam sel bakteri dan -galaktosidase (simbol genotipe lacZ) untuk mengubah laktosa menjadi D- glukosa dan D-galaktosa. Mutan yang kekurangan -galaktosida permease atau

galaktosidase tidak dapat memanfaatkan laktosa untuk pertumbuhan.

Jika mutasi pada kedua Lac-mutan menonaktifkan protein yang sama (misalnya galaktosida) kemudian strain diploid parsial yang mengandung lacZ gen dari kedua mutan dalam susunan trans tidak akan mampu memanfaatkan laktosa. Sebaliknya, jika genotipe dari dua mutan adalah lacZ⁺ lacY⁻ dan lacZ⁻ lacY⁺, bakteri diploid parsial akan menghasilkan galaktosidase aktif dari lacZ⁺-determinan dan permease galaktosida aktif dari lacY⁺-determinan. Komplementasi akan terjadi, dan strain diploid sebagian akan memanfaatkan laktosa. Tes komplementasi dapat dilakukan dan diinterpretasikan bahkan jika fungsi biokimia spesifik dari produk gen tidak diketahui.

E. Supresi dan Reversi

Mutasi yang mengubah fenotipe dari *wildtype* menjadi mutan disebut mutasimaju, dan mutasi yang mengubah fenotipe dari mutan kembali ke *wildtype* disebut mutasi balik (reversi). Strain bakteri yang mengandung mutasi terbalik disebut revertan. Analisis mutasi yang menyebabkan reversi fenotipik menghasilkan informasi yang berguna. Mutasi terbalik yang mengembalikan urutan nukleotida yang tepat dari DNA *wildtype*

adalah pembalikan yang sebenarnya. Revertan yang sebenarnya identik dengan galur *wildtype* baik secara genotip maupun fenotip. Mutasi terbalik yang tidak mengembalikan urutan nukleotida yang tepat dari DNA *wildtype* disebut mutasi penekan (supresor).

Beberapa revertan yang menyimpan mutasi supresor secara fenotip tidak dapat dibedakan dari galur *wildtype*. Revertants lainnya, yang disebut pseudorevertants, dapat dibedakan secara fenotipik dari galur *wildtype*, misalnya, dengan perbedaan halus dalam karakteristik aktivitas enzimatis yang telah diperoleh kembali (seperti aktivitas spesifik, spesifisitas substrat, konstanta kinetik, atau kerentanan terhadap inaktivasi termal atau kimia). Pengenalan fenotipe pseudorevertan menunjukkan adanya mutasi penekan. Mutasi supresor dapat bersifat intragenik atau ekstragenik. Penekan intragenik terletak di gen yang sama dengan mutasi maju yang mereka tekan. Kemungkinan lokasi dan sifat penekan intragenik ditentukan oleh mutasi maju asli dan oleh hubungan antara struktur utama produk gen dan aktivitas biologisnya.

Penekan ekstragenik terletak di gen yang berbeda dari mutasi yang efeknya ditekan. Kemampuan penekan ekstragenik untuk menekan berbagai mutasi independen dapat diuji. Beberapa supresor ekstragenik spesifik untuk gen tertentu,

beberapa spesifik untuk kodon tertentu, dan beberapa memiliki pola spesifisitas lainnya. Penekan ekstragenik yang membalikkan efek fenotipik kodon pemutus rantai telah dikarakterisasi dengan baik dan ditemukan dapat mengubah struktur tRNA spesifik. Suatu tRNA supresor tertentu dapat mengizinkan suatu kodon pemutus rantai spesifik untuk diterjemahkan, menghasilkan penggabungan asam amino spesifik ke dalam polipeptida yang baru lahir pada posisi yang sesuai dengan kodon pemutus rantai. Pada bakteri yang memiliki mutasi pemutusan rantaidan penekan ekstragenik yang sesuai, translasi mRNA yang mengandung kodon mutan dapat menghasilkan pembentukan polipeptida full-length. Aktivitas biologis polipeptida full-length yang terbentuk sebagai konsekuensi dari supresi baik pada jumlah protein yang dibuat maupun pada konsekuensi fungsional dari penggantian asam amino spesifik yang ditentukan oleh tRNA supresor.

BAB V

PERUBAHAN INFORMASI GENETIK

Signifikansi seksualitas biologis pada mikroorganisme adalah untuk meningkatkan kemungkinan bahwa mutasi independen yang langka akan terjadi bersama-sama dalam satu mikroba dan menjadi sasaran seleksi alam. Interaksi genetik antara mikroba memungkinkan genom mereka berkembang jauh lebih cepat daripada hanya dengan mutasi. Fenomena representatif dari kepentingan medis yang melibatkan pertukaran informasi genetik atau penyusunan ulang genom termasuk kemunculan dan penyebaran plasmid resistensi antibiotik yang cepat, variasi fase flagel pada *Salmonella*, dan variasi antigenik dari antigen permukaan di *Neisseria* dan *Borrelia*. Proses seksual pada bakteri melibatkan transfer informasi genetik dari donor ke penerima dan menghasilkan substitusi alel donor untuk alel penerima atau penambahan elemen genetik donor ke genom penerima.

Pertukaran materi genetik antara spesies bakteri dimediasi oleh proses dasar konjugasi, transduksi dan transformasi. Pertukaran ini merupakan dasar untuk evolusi dan adaptasi bakteri dalam lingkungan yang dinamis. Transformasi, transduksi, dan konjugasi melibatkan mekanisme berbeda untuk memasukkan DNA donor ke dalam bakteri penerima. Karena DNA donor tidak dapat bertahan dalam bakteri penerima kecuali merupakan bagian dari replika, rekombinasi antara genom donor dan resipien sering diperlukan untuk menghasilkan keturunan hibrida yang stabil. Rekombinasi paling mungkin terjadi ketika bakteri donor dan resipien berasal dari spesies yang sama atau berkerabat dekat. Signifikansi biologis seksualitas dalam mikroorganisme adalah untuk meningkatkan kemungkinan bahwa mutasi independen yang langka akan terjadi bersamaan dalam satu mikroba dan menjadi sasaran seleksi alam.

Interaksi genetik antara mikroba memungkinkan genom bakteri berkembang jauh lebih cepat dari pada hanya dengan mutasi. Fenomena representatif dari kepentingan medis yang melibatkan pertukaran informasi genetik atau penyusunan ulang genom termasuk kemunculan dan penyebaran plasmid resistensi antibiotik yang cepat, variasi fase flagel pada *Salmonella*, dan variasi antigenik dari antigen permukaan di

Neisseria dan *Borrelia*. Proses seksual pada bakteri melibatkan transfer informasi genetik dari donor ke penerima dan menghasilkan substitusi alel donor untuk alel penerima atau penambahan elemen genetik donor ke genom penerima. Transformasi, transduksi, dan konjugasi adalah proses seksual yang menggunakan mekanisme berbeda untuk memasukkan DNA donor ke dalam bakteri penerima. Karena DNA donor tidak dapat bertahan dalam bakteri penerima kecuali merupakan bagian dari replika, rekombinasi antara genom donor dan resipien sering diperlukan untuk menghasilkan keturunan hibrida yang stabil. Rekombinasi paling mungkin terjadi ketika bakteri donor dan resipien berasal dari spesies yang sama atau berkerabat dekat.

Banyak bakteri memiliki sistem restriksi-modifikasi (RM), yang terdiri dari modifikasi enzim yang memetilasi residu adenin atau sitosin pada urutan spesifik dalam DNANYA sendiri dan endonuklease restriksi yang sesuai yang membelah DNA asing yang tidak membawa modifikasi spesifik pada urutan target yang sama. Beberapa enzim restriksi hanya akan membelah DNA yang telah termetilasi pada urutan tertentu. Sistem restriksi ini, yang mungkin telah berevolusi untuk melindungi bakteri terhadap invasi oleh fag atau plasmid, merupakan penghalang penting untuk pertukaran genetik

antara strain atau spesies bakteri yang berbeda. Bukti terbaru menunjukkan bahwa sistem RM yang dibawa oleh plasmid mungkin merupakan cara bagi plasmid untuk memastikan pengangkutannya dalam strain inang.

Konjugasi, transduksi dan transformasi, dan elemen DNA untuk pertukaran genetik bakteri (plasmid, transposon, urutan penyisipan, integron, dan DNA) menawarkan akses bakteri ke genom strain, spesies dan genera bakteri lain, dan bahkan eukariota. Ini menciptakan database besar informasi genetik dari mana bakteri dapat memperoleh gen dan meningkatkan kemampuan bertahan hidup. Ini adalah hasil evolusi mendasar dari pertukaran genetik bakteri. Pertukaran genetik bakteri di mana-mana menunjukkan bahwa itu telah dipilih di alam selama jutaan tahun evolusi sebagai cara paling efisien untuk meningkatkan keragaman genetik dan kelangsungan hidup, sambil mempertahankan integritas genom bakteri. Pertukaran genetik bakteri memainkan peran utama dalam pengembangan bakteri patogen virulen bagi manusia.

Pertukaran DNA bakteri melalui tiga mekanisme: transformasi alami, konjugasi, dan transduksi. Transformasi terjadi ketika DNA telanjang diambil dari lingkungan. Konjugasi menghasilkan transfer sekuens plasmid atau transposon dan mungkin sekuens genomik jika elemen genetik

bergerak telah terintegrasi ke dalam kromosom. Transduksi terjadi ketika DNA bakteri dienkapsidasi secara abnormal dalam partikel bakteriofag (fag) dan kemudian disuntikkan ke sel lain. DNA yang masuk dapat terdegradasi dan nukleotida didaur ulang, bereplikasi secara otonom dari kromosom, atau berintegrasi ke dalam kromosom, pertukaran informasi genetik atau penataan ulang genom, adalah kemunculan dan difusi cepat plasmid resisten antibiotik, perubahan fase vesikular *Salmonella*, dan perubahan antigen permukaan antigen *Neisseria* dan *Borrelia*. Proses seksual bakteri melibatkan transfer informasi genetik dari donor ke penerima, menggunakan alel penerima bukan alel donor, atau Penambahan elemen genetik donor ke genom penerima.

Transformasi, transduksi, dan konjugasi adalah proses seksual yang menggunakan mekanisme yang berbeda. DNA donor sebagai bakteri penerima, karena donor DNA tidak dapat bertahan hidup dalam bakteri kecuali mereka adalah bagian dari bakteri. Replikasi seringkali membutuhkan rekombinasi antara genom donor dan resipien untuk menghasilkan keturunan yang stabil. Mungkin rekombinan Jika bakteri donor dan resipien berasal dari spesies yang sama atau berkerabat dekat. Agar rekombinan dapat dideteksi, fenotipenya harus berbeda dari kedua tetuanya. Pertumbuhan atau sel mungkin

diperlukan terlebih dahulu Fenotip rekombinan diekspresikan. Penundaan fenotip rekombinan sampai genom rekombinan haploid terpisah disebut penundaan isolasi dan ekspresi Analisis kuantitatif Tautan yang mendukung pembuatan peta genetik. Genom dari E. coli dan ditentukan oleh hubungan genetik Analisis biokimia langsung DNA kromosom, dan peta genetik berada pada garis yang sama dengan peta fisik

DNA kromosom. Pemetaan genetik dan fisik juga digunakan Menganalisis replika ekstrakromosom seperti bakteriofag dan plasmid.

A. Konjugasi

Konjugasi adalah proses transfer materi genetik yang melibatkan plasmid yang berpindah dari sebuah sel bakteri F⁺ ke dalam sel bakteri F⁻. Di dalam sel F⁺ terdapat F (Fertile) faktor yang terdiri dari gen-gen yang membawa sifat dalam suatu plasmid DNA. Transfer materi genetik diperantarai oleh struktur menyerupai tabung yang terhubung dari perlekatan membran protein khusus yang disebut pilus, dibentuk di antara sel untuk dapat dilalui plasmid DNA. Perpindahan ini terjadi secara unidirectional, yaitu satu arah.

Sel donor harus punya faktor kesuburan, ada 2 jenis :

- a. **Sel F⁺** = faktor kesuburan bebas (tidak dimasukkan ke dalam kromosom sel bakteri)
- b. **Sel Hfr** = faktor kesuburan yg dimasukkan ke dalam kromosom sel bakteri (Sel ini punya 1 molekul DNA besar yang tertutup secara kovalen, mengandung kromosom & faktor kesuburan).

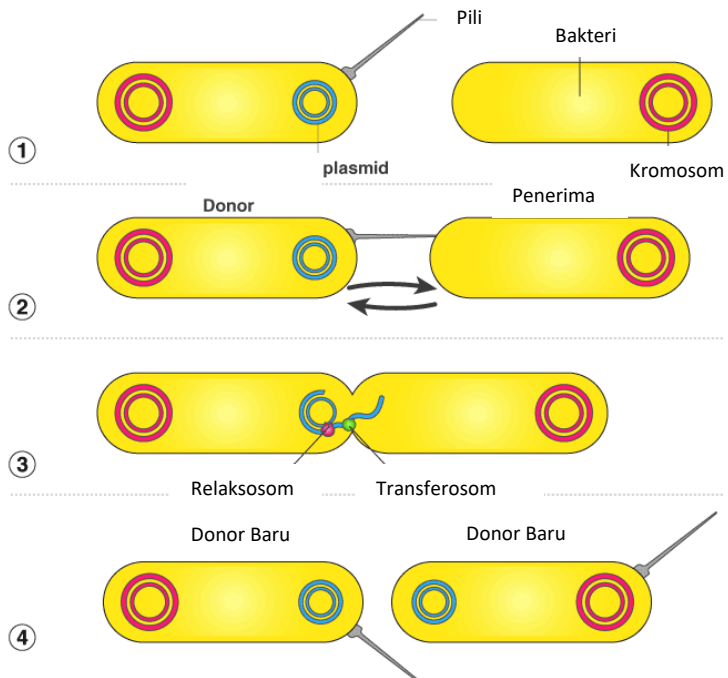
Sel Resipien (sel F⁻) tidak memiliki faktor kesuburan, sel-sel ini hanya memiliki kromosom bakteri

F⁻ = merupakan resipien dalam tiap persilangan.

Saat terjadi transfer, plasmid akan membuka untaian. Template Lagging strand mulai terurai dan ditransferkan ke resipien. Template leading strand akan direplikasikan di dalam sel donor sedangkan template lagging strand direplikasikan di dalam resipien, sehingga kedua sel sama-sama memiliki cetakan plasmid. Beberapa plasmid konjugatif dapat membawa untaian gen yang menentukan resistensi bakteri terhadap obat.

Dalam konjugasi, kontak langsung antara bakteri donor dan resipien mengarah pada pembentukan jembatan sitoplasmik (pili) di antara mereka dan transfer sebagian atau seluruh genom donor ke resipien. Kemampuan donor ditentukan oleh plasmid konjugatif spesifik yang disebut plasmid fertilitas atau plasmid seks. Plasmid F (juga disebut faktor F) dari *E. coli* adalah prototipe plasmid fertilitas pada bakteri Gram-negatif. Strain dari

E. Coli dengan plasmid F ekstrakromosomal disebut F⁺ dan berfungsi sebagai donor, sedangkan strain yang tidak memiliki plasmid F adalah F⁻ dan berperilaku sebagai penerima.



Gambar 4. Konjugasi pada bakteri (Sumber: byjus.com)

Fungsi konjugatif dari plasmid F ditentukan oleh sekelompok setidaknya 25 transfer (lalui) gen yang menentukan ekspresi F pili, sintesis dan transfer DNA selama perkawinan, gangguan kemampuan F⁺bakteri untuk melayani sebagai penerima, dan fungsi lainnya. Setiap F⁺bakteri memiliki 1

sampai 3 F pili yang mengikat protein membran luar tertentu (produk gen *ompA*) pada bakteri penerima untuk memulai perkawinan. Sebuah jembatan sitoplasma antar sel terbentuk, dan satu untai DNA plasmid F ditransfer dari donor ke penerima, dimulai dari asal yang unik dan berlanjut ke arah 5 ke 3. Untai yang ditransfer diubah menjadi DNA plasmid F untai ganda melingkar di bakteri penerima, dan untai baru disintesis di donor untuk menggantikan untai yang ditransfer. Kedua bakteri ekskonjugasi tersebut adalah F⁺, dan plasmid F karena itu dapat menyebar melalui infeksi di antara populasi bakteri yang kompatibel secara genetik. Selain pili F berperan dalam konjugasi, mereka juga berfungsi sebagai reseptor untuk fag spesifik donor (khusus jantan).

Plasmid F dalam *E. coli* dapat eksis sebagai elemen genetik ekstrakromosomal atau diintegrasikan ke dalam kromosom bakteri. Karena plasmid F dan kromosom bakteri keduanya merupakan molekul DNA sirkular, rekombinasi timbal balik di antarakeduanya menghasilkan lingkaran DNA yang lebih besar yang terdiri dari DNA plasmid F yang disisipkan secara linier ke dalam kromosom. *E. coli* berisi banyak salinan dari beberapa elemen genetik berbeda yang disebut urutan penyisipan (lihat bagian transposon untuk lebih detail), di berbagai lokasi di kromosomnya dan di plasmid F. Rekombinasi homolog antara

urutan penyisipan dalam kromosom dan plasmid F mengarah pada integrasi preferensial plasmid F di situs kromosom di mana urutan penyisipan berada. Situs kromosom di mana urutan penyisipan ditemukan bervariasi, bagaimanapun, di antara strain *E. coli*. Sebuah *E. coli* strain dengan plasmid F terintegrasi mempertahankan kemampuannya untuk berfungsi sebagai donor dalam perkawinan suami-istri. Karena strain donor dengan faktor F terintegrasi dapat mentransfer gen kromosom ke penerima dengan efisiensi tinggi, mereka disebut Hfr (High Frequency Rekombinasi) strain.

Transfer DNA untai tunggal dari donor Hfr ke penerima dimulai dari asal di dalam plasmid F dan berlangsung seperti dijelaskan di atas, kecuali bahwa DNA yang ditransfer adalah replika hibrid yang terdiri dari plasmid F yang terintegrasi ke dalam kromosom bakteri. Transfer seluruh replika ini, termasuk kromosom bakteri, membutuhkan waktu sekitar 100 menit. Identitas gen kromosom pertama yang ditransfer dan polaritas transfer kromosom ditentukan oleh tempat integrasi plasmid F dan orientasinya terhadap kromosom bakteri. Karena bakteri kawin biasanya terpisah secara spontan sebelum seluruh kromosom ditransfer, konjugasi biasanya hanya mentransfer sebagian dari kromosom donor ke penerima.

Probabilitas bahwa gen donor akan memasuki bakteri

penerima selama konjugasi berkurang, oleh karena itu, karena jaraknya dari asal F (dan oleh karena itu waktu transfernya) meningkat. Sel-sel yang kawin juga dapat dipecah secara eksperimental dengan menundukkannya pada gaya geser yang kuat dalam blender mekanis; ini disebut kawin terputus. Pembentukan keturunan rekombinan membutuhkan rekombinasi antara DNA donor yang ditransfer dan genom bakteri penerima.

Analisis keturunan dari perkawinan yang terputus setelah interval yang berbeda menunjukkan gen kromosom mana yang ditransfer pertama kali oleh strain donor tertentu, waktu masuk berurutan untuk gen yang ditransfer selanjutnya, dan semakin rendah kemungkinan bahwa gen yang ditransfer kemudian akan muncul dalam keturunan rekombinan. Sirkularitas peta genetik *E. Coli* awalnya disimpulkan dari data tumpang tindih kelompok sirkuler dari gen terkait yang ditransfer lebih awal oleh strain donor individu di mana faktor F diintegrasikan di lokasi kromosom yang berbeda. Dalam perkawinan antara F⁺ dan F⁻ bakteri, hanya plasmid F yang ditransfer dengan efisiensi tinggi ke bakteri penerima. Gen kromosom ditransfer dengan efisiensi yang sangat rendah, dan itu adalah mutan Hfr spontan di populasi sel F⁺ yang memediasi transfer gen kromosom donor. Dalam perkawinan antara Hfr dan F⁻ strain,

segmen plasmid F yang terkandung akan ditransfer terakhir, setelah seluruh kromosom bakteri telah ditransfer. Kebanyakan rekombinan dari perkawinan antara Hfr dan F⁻-sel gagal mewarisi seluruh set gen plasmid F dan secara fenotip F⁻. Dalam perkawinan antara F⁺ dan F⁻ strain, plasmid F menyebar dengan cepat ke seluruh populasi bakteri, dan sebagian besar rekombinan adalah F⁺. Plasmid F terintegrasi dalam galur Hfr kadang-kadang dapat dikeluarkan dari kromosom bakteri. Jika eksisi justru membalikkan proses integrasi, sel F⁺ diproduksi. Eksisi yang terjadi dengan rekombinasi yang melibatkan urutan penyisipan atau gen lain pada kromosom bakteri yang terletak agak jauh dari situs integrasi aslinya jarang terjadi. Dalam kasus seperti itu, segmen kromosom bakteri dapat digabungkan ke dalam plasmid F hibrid yang disebut plasmid F'.

Dengan proses serupa, segmen kromosom bakteri terkadang dapat digabungkan ke dalam plasmid R untuk menghasilkan plasmid R' hibrida. Plasmid R' konjugatif dapat berfungsi sebagai plasmid fertilitas karena dapat berintegrasi ke dalam kromosom bakteri melalui rekombinasi homolog dan memediasi transfer gen kromosom selama perkawinan dengan bakteri penerima. Plasmid F', plasmid R', fag transduksi khusus, dan plasmid rekombinan atau fag yang dibangun dengan kloning gen (dijelaskan di bawah) adalah replika hibrid yang dapat mencakup

segmen kromosom bakteri. Oleh karena itu, salah satu dari elemen genetik ini dapat digunakan untuk membangun strain bakteri diploid parsial yang diperlukan untuk uji komplementasi dan tujuan lainnya. Konjugasi juga terjadi pada bakteri gram positif. Bakteri donor gram positif menghasilkan adhesin yang menyebabkan mereka beragregasi dengan sel resipien, tetapi pilus tidak terlibat. Dalam beberapa *Streptokokusspecies*, bakteri penerima menghasilkan feromon seks ekstraseluler yang menyebabkan fenotipe donor diekspresikan oleh bakteri yang memiliki plasmid konjugatif yang sesuai, dan plasmid konjugatif mencegah sel donor memproduksi feromon yang sesuai.

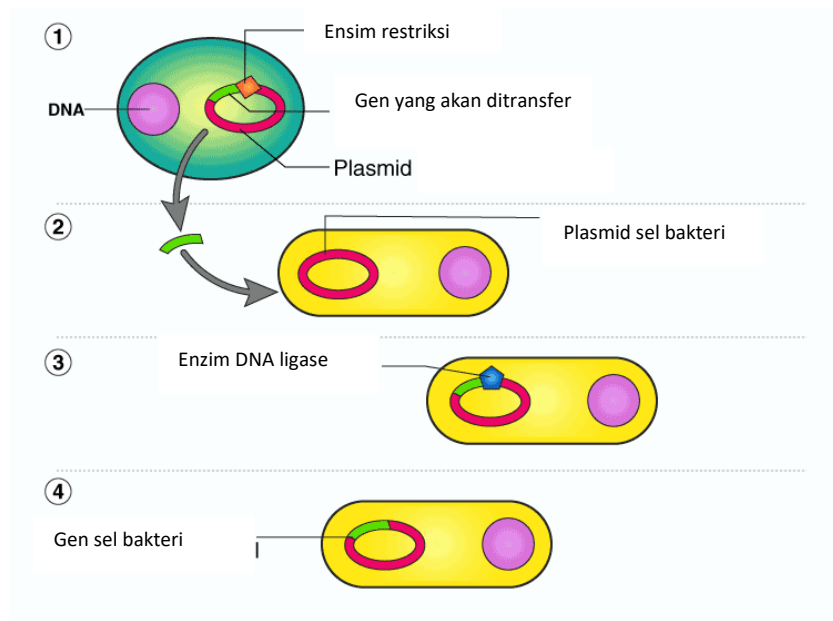
B. Transformasi

Transformasi adalah pengambilan DNA dari lingkungan luar sel bakteri itu sendiri. Hanya ada sebuah untaian DNA yang akan diambil, karena peran serta dari adanya kompleks protein khusus pada membran sel bakteri. Proses ini membutuhkan ion kalsium (Ca^{2+}). Transformasi terjadi pada frekuensi yang sangat rendah, tetapi pada populasi bakteri yang cukup besar, hal itu menjadi sebuah proses transfer genetik yang cukup memberikan perubahan yang signifikan.

Dalam transformasi, potongan DNA yang dilepaskan dari bakteri donor diambil langsung dari lingkungan ekstraseluler oleh bakteri penerima. Rekombinasi terjadi antara molekul tunggal DNA transformasi dan kromosom bakteri penerima. Agar aktif dalam transformasi, molekul DNA harus memiliki panjang setidaknya 500 nukleotida, dan aktivitas transformasi dihancurkan dengan cepat dengan memperlakukan DNA dengan deoksiribonuklease. Molekul DNA transformasi sesuai dengan fragmen yang sangat kecil dari kromosom bakteri. Oleh karena itu, kotransformasi gen tidak mungkin terjadi, kecuali jika molekul tersebut terkait erat sehingga mereka dapat dikodekan pada satu fragmen DNA.

Transformasi ditemukan di *Streptococcus pneumoniae* dan terjadi pada genera bakteri lain termasuk *Haemophilus*, *Neisseria*, *Basil*, dan *Stafilokokus*. Kemampuan bakteri untuk mengambil DNA ekstraseluler dan berubah, yang disebut kompetensi, bervariasi menurut keadaan fisiologis bakteri. Banyak bakteri yang biasanya tidak kompeten dapat dibuat untuk mengambil DNA dengan manipulasi laboratorium, seperti kejutan kalsium atau paparan pulsa listrik tegangan tinggi (elektroporasi). Pada beberapa bakteri (termasuk *Haemophilus* dan *Neisseria*) serapan DNA bergantung pada keberadaan sekuens oligonukleotida spesifik dalam DNA transformasi,

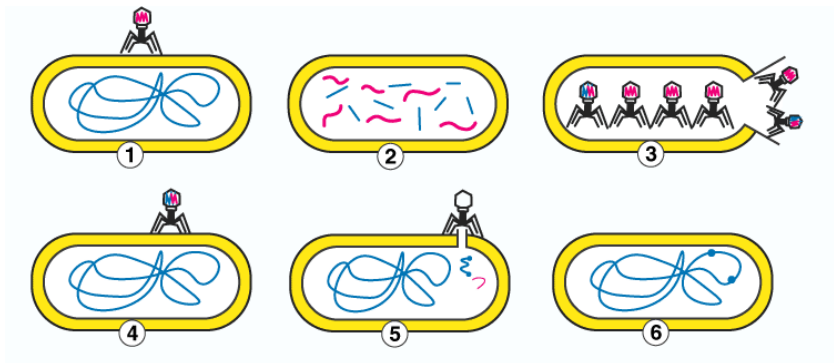
tetapi pada yang lain (termasuk *Streptococcus pneumoniae*) serapan DNA tidak spesifik sekuens. Bakteri yang kompeten juga dapat mengambil DNA bakteriofag utuh (transfeksi) atau DNA plasmid, yang kemudian dapat bereplikasi sebagai elemen genetik ekstrakromosomal pada bakteri penerima. Sebaliknya, sepotong DNA kromosom dari bakteri donor biasanya tidak dapat bereplikasi dalam bakteri penerima kecuali menjadi bagian dari replika dengan rekombinasi. Secara historis, karakterisasi "prinsip transformasi" dari *S. pneumoniae* asalkan bukti langsung pertama DNA adalah materi genetik.



Gambar 5. Transformasi Bakteri

C. Transduksi

Transduksi merupakan transfer materi genetik dari satu bakteri ke bakteri yang lain oleh bakteri virus, bakteriofaga. DNA dari plasmid akan diinsersikan dan bersatu dalam genom bakteriofaga. Bakteriofaga akan mentransfer plasmid ke populasi bakteri lain dengan kata lain terjadi perpindahan DNA dari satu sel bakteri ke sel bakteri yang lain. Reproduksi bakteriofag bergantung pada replikasi, transkripsi, dan translasi sel bakteri inang untuk membuat virion baru. Selama proses ini, pengemasan DNA bakteriofag adalah peristiwa dengan ketelitian yang relatif rendah dan potongan-potongan kromosom bakteri mungkin salah dikemas ke dalam kapsid bakteriofag. Siklus litik menyebabkan berkembangnya partikel bakteriofag baru, yang dilepaskan oleh lisis sel inang.



Gambar 6. Transduksi. Biru: DNA Bakteri, Merah muda: DNA virus

Ada 2 macam tipe faga transduksi.

1. Transduksi Umum.

Transduksi ini disebut juga transduksi litik. Faga transduksi, secara tidak sengaja terjadi kesalahan mengemas sepotong kromosom bakteri ke dalam partikel DNA virus dan menyerupai partikel virus itu sendiri. Faga yang membawa DNA bakteri kemudian mengirimkannya ke sel penerima yang lain dan mencoba menginfeksi sel tersebut. DNA bakteri akan diinjeksikan ke dalam kromosom penerima melalui rekombinasi homolog dan menggantikan alel dari inang.

Dalam penelitian Alfred Fillol-Salom dkk (2019) transduksi umum dapat berfungsi sebagai sifat mutualistik di mana faga akan menciptakan iklim bekerja sama dengan sel inang (bakteri) untuk bertahan hidup di lingkungan yang berubah dengan cepat. Ini

menyiratkan bahwa transduksi umum bukan hanya kesalahan dalam pengemasan DNA tetapi dipilih oleh faga untuk memastikannya bertahan hidup. Bakteri dan faga akan bekerja sama untuk bertahan dalam kondisi buruk seperti keberadaan antibiotik melalui integrasi faga dan transduksi gen resistensi antibiotik dari sel tetangga. Sel yang dihasilkan akan tahan terhadap serangan faga karena kekebalan yang diberikan oleh profag terintegrasi dan mereka dapat bertukar bakteri DNA dengan sel lain yang mengandung profag serupa melalui partikel transduksi. Sebelumnya, transduksi telah dianggap sebagai kesalahan dalam biologi faga. Di sini dapat dikatakan bahwa bukannya menjadi kecelakaan, justru transduksi umum adalah evolusi sifat faga untuk bertahan di lingkungan yang berubah dengan cepat. Selama infeksi litik, transduksi umum terjadi pada bakteri Gram positif seperti *Staphylococcus* dan *Salmonella*. Semua faga dapat mengalami siklus litik. Faga yang hanya dapat menjalani siklus litik disebut virulen.

2. Transduksi Khusus.

Alternatif terhadap siklus litik disebut siklus lisogenik: tidak ada partikel keturunan yang diproduksi, bakteri yang terinfeksi bertahan, dan DNA faga akan ditransmisikan ke setiap sel keturunan bakteri saat terjadi pembelahan. DNA bakteriofag berintegrasi ke situs spesifik dalam kromosom inang dan tetap

tidak aktif. Faga yang dapat juga menjalani siklus lisogenik disebut faga temperate. Pada penelitian Paras Jain dkk (2014) Transduksi khusus telah terbukti berguna untuk menghasilkan mutan delesi gen penyebab keganasan di sebagian besar mikobakteri, termasuk *Mycobacterium tuberculosis*.

Frekuensi transduksi yang gagal biasanya satu hingga dua kali lipat lebih besar daripada frekuensi transduksi umum, yang menunjukkan bahwa sebagian besar sel yang terinfeksi oleh fag transduksi umum tidak menghasilkan keturunan rekombinan. Transduksi khusus berbeda dari transduksi umum dalam beberapa hal. Hal ini ditentukan oleh jenis fag tertentu, dan hanya beberapa gen donor spesifik yang dapat ditransfer ke bakteri penerima. Fag transduksi khusus terbentuk hanya ketika bakteri donor lisogenik memasuki siklus litik dan melepaskan keturunan fag.

Fag transduksi khusus adalah rekombinan langka yang tidak memiliki bagian dari genom fag normal dan mengandung bagian dari kromosom bakteri yang letaknya berdekatan dengan situs perlekatan profag. Banyak fag transduksi khusus yang rusak dan tidak dapat menyelesaikan siklus litik pertumbuhan fag dalam sel yang terinfeksi, kecuali fag pembantu ditemukan untuk menyediakan fungsi fag yang hilang. Hasil transduksi khusus dari lisogenisasi bakteri penerima oleh fag transduksi khusus dan ekspresi gen donor. Konversi fag dan transduksi khusus memiliki

banyak kesamaan, tetapi asal usul gen pengubah pada fag masih belum diketahui.

D. Rekombinasi

Rekombinasi melibatkan pemisahan dan penggabungan molekul DNA induk untuk membentuk molekul hibrid rekombinan. Beberapa jenis rekombinasi yang berbeda telah diidentifikasi yang bergantung pada fitur yang berbeda dari genom yang berpartisipasi dan memerlukan aktivitas produk gen yang berbeda. Enzim spesifik yang bekerja pada DNA (misalnya, eksonuklease, endonuklease, polimerase, ligase) berpartisipasi dalam rekombinasi.

Rekombinasi umum melibatkan molekul DNA donor dan penerima yang memiliki urutan nukleotida homolog. Pertukaran timbal balik dapat terjadi antara setiap donor homolog dan situs penerima. Rekombinasi situs-spesifik melibatkan pertukaran timbal balik hanya antara situs-situs tertentu dalam molekul DNA donor dan penerima.

Integrasi bakteriofag λ sedang ke dalam kromosom *E. coli* adalah contoh rekombinasi spesifik lokasi yang dipelajari dengan baik. Situs lampiran (att) spesifik pada kromosom *E. Coli* dan DNA fag memiliki urutan inti umum dari 15

nukleotida, di mana rekombinasi timbal balik terjadi, diapit oleh urutan yang berdekatan yang tidak homolog dalam genom fag dan bakteri. Pada faga, produk dari *inward* gen (integrase) diperlukan untuk peristiwa integrasi spesifik lokasi dalam lisogenisasi; produk dari *inward* gen dan *xis* (gen excisionase) keduanya diperlukan untuk peristiwa eksisi spesifik lokasi komplementer yang terjadi selama induksi pengembangan fag litik dalam sel lisogenik. Rekombinasi tidak sah adalah istilah yang digunakan untuk menggambarkan peristiwa rekombinasi yang tidak homolog dan menyimpang seperti yang terlibat dalam pembentukan fag transduksi khusus. Mekanisme rekombinasi tidak sah belum diketahui secara pasti.

E. Transposon

Transposon adalah segmen DNA yang dapat berpindah dari satu situs dalam molekul DNA ke situs target lain dalam molekul DNA yang sama atau berbeda. Proses ini disebut transposisi dan terjadi melalui mekanisme yang tidak bergantung pada rekombinasi umum. Transposon adalah elemen genetik penting karena menyebabkan mutasi, memediasi penataan ulang genom, berfungsi sebagai daerah portabel homologi genetik, dan memperoleh gen baruan berkontribusi pada penyebarannya dalam populasi bakteri. Penyisipan transposon sering

mengganggu urutan linier gen dan menonaktifkannya. Transposon memiliki peran utama dalam menyebabkan penghapusan, duplikasi, dan inversi segmen DNA serta fusi antara replicon. Transposon bukanlah elemen genetik yang mereplikasi diri, namun, kebanyakan transposon berbagi sejumlah informasi umum. Setiap transposon mengkodekan fungsi yang diperlukan untuk transposonnya, termasuk enzim transposase yang berinteraksi dengan sekuens spesifik di ujung transposon. Selama transposisi, urutan pendek DNA target diduplikasi, dan transposon dimasukkan di antara urutan target yang diulang secara langsung. Panjang duplikasi pendek ini bervariasi, tetapi merupakan karakteristik untuk setiap transposon. Duplikasi dianggap melibatkan pembelahan DNA asimetris pada situs target, diikuti oleh sintesis untai komplementer baru yang sesuai dengan wilayah antara situs pembelahan.

Beberapa transposon masuk ke hampir semua urutan target, sedangkan yang lain memiliki spesifisitas target yang relatif ketat. Dua jenis transposisi diakui. Eksisi transposon dari situs donor diikuti dengan penyisipannya ke situs target disebut transposisi nonreplikatif. Jika transposon di situs donor direplikasi dan salinannya dimasukkan ke situs target, bagaimanapun, prosesnya disebut transposisi replikatif. Proses

transposisi replikatif dapat melibatkan pembentukan kointegrasi, molekul DNA sirkular tunggal yang terdiri dari dua replika yang digabungkan dengan salinan transposon dalam urutan bergantian. Resolusi kointegrasi ke dalam replika komponennya sering dicapai oleh resolvase yang dikodekan transposon yang mengkatalisis rekombinasi spesifik lokasi antara transposon. Rekombinasi umum antara transposon homolog juga dapat menyebabkan pembentukan atau resolusi kointegrasi. Kebanyakan transposon pada bakteri dapat dipisahkan menjadi tiga kelas utama.

Urutan penyisipan dan transposon komposit terkait terdiri dari kelas pertama. Urutan penyisipan paling sederhana dalam struktur dan hanya mengkodekan fungsi yang diperlukan untuk transposisi. Urutan penyisipan yang diketahui bervariasi panjangnya dari sekitar 780 hingga 1500 pasangan nukleotida, memiliki pengulangan pendek (15-25 pasangan basa) terbalik di ujungnya, dan tidak terkait erat satu sama lain. DNA antara pengulangan terminal terbalik mengandung satu (atau jarang dua) gen transposase dan tidak mengkode resolvase. Transposon kompleks bervariasi panjangnya dari sekitar 2.000 hingga lebih dari 40.000 pasangan nukleotida dan mengandung urutan penyisipan (atau urutan yang terkait erat) di setiap ujungnya, biasanya sebagai pengulangan terbalik. Seluruh elemen

kompleks dapat ditransposisikan sebagai satu unit. DNA antara urutan penyisipan terminal transposon kompleks mengkodekan beberapa fungsi yang tidak penting untuk transposisi.

Pada bakteri yang penting secara medis, gen yang menentukan produksi kesesuaian antigen, toksin, atau faktor virulensi lainnya, atau menentukan resistensi terhadap satu atau lebih antibiotik, sering terletak di transposon kompleks. Contoh transposon kompleks yang terkenal adalah Tn5 dan Tn10, yang menentukan resistensi terhadap kanamisin dan tetrasiklin, masing-masing. Transposon kompleks mungkin berevolusi dengan transposisi urutan penyisipan homolog ke situs terdekat dalam molekul DNA.

BAB VI

REGULASI EKSPRESI GEN

Informasi genetik yang dikodekan dalam DNA diekspresikan oleh sintesis RNA dan protein spesifik, dan informasi mengalir dari DNA ke RNA ke protein. Sintesis RNA yang diarahkan DNA disebut transkripsi. Karena untai DNA heliks ganda bersifat antiparalel dan komplementer, hanya satu dari dua untai DNA yang dapat berfungsi sebagai cetakan untuk sintesis molekul mRNA tertentu. Messenger RNA (mRNA) mengirimkan informasi dari DNA, dan setiap mRNA pada bakteri berfungsi sebagai cetakan untuk sintesis satu atau lebih protein spesifik. Proses di mana urutan nukleotida molekul

mRNA menentukan urutan asam amino primer protein disebut translasi.

Ribosom, kompleks RNA ribosom (rRNA) dan beberapa protein ribosom, menterjemahkan setiap mRNA ke dalam urutan polipeptida yang sesuai dengan bantuan RNA transfer (tRNA), sintesis amino-asil tRNA, faktor inisiasi dan faktor pemanjangan. Semua komponen alat sintesis protein ini berfungsi dalam produksi banyak protein yang berbeda. Gen adalah urutan DNA yang mengkode molekul protein, rRNA, atau tRNA (produk gen). Kode genetik menentukan bagaimana nukleotida dalam mRNA menentukan asam amino dalam polipeptida. Karena hanya ada 4 nukleotida yang berbeda dalam mRNA (mengandung U, A, C dan G), nukleotida tunggal tidak mengandung informasi yang cukup untuk menentukan secara unik semua 20 asam amino. Dalam dinukleotida 16 (4×4) pengaturan dari empat nukleotida dimungkinkan, dan dalam trinukleotida 64 ($4 \times 4 \times 4$) pengaturan dimungkinkan. Jadi, minimal tiga nukleotida diperlukan untuk memberikan setidaknya satu urutan unik yang sesuai dengan masing-masing dari 20 asam amino.

Kode genetik "universal" yang digunakan oleh sebagian besar organisme adalah kode triplet di mana 61 dari 64 kemungkinan trinukleotida (kodon) mengkode asam amino

tertentu, dan salah satu dari tiga kodon yang tersisa (UAG, UAA atau UGA) menghasilkan penghentian translasi. Kodon pemutus rantai juga disebut kodon nonsense karena tidak menentukan asam amino. Kode genetik digambarkan sebagai degenerasi, karena beberapa kodon dapat digunakan untuk satu asam amino, dan sebagai nonoverlapping, karena kodon yang berdekatan tidak memiliki nukleotida yang sama. Pengecualian untuk kode "universal" termasuk penggunaan UGA sebagai kodon triptofan pada beberapa spesies mikoplasmata dan dalam DNA mitokondria, dan beberapa perbedaan kodon tambahan dalam DNA mitokondria dari ragi, *Drosophila*, dan mamalia. Penerjemahan mRNA biasanya dimulai pada kodon AUG untuk metionin, dan kodon yang berdekatan diterjemahkan secara berurutan saat mRNA dibaca dalam arah 5 ke 3. Rantai polipeptida yang sesuai dirakit mulai dari ujung aminonya dan berlanjut ke ujung karboksinya. Urutan asam amino dalam polipeptida, oleh karena itu, kolinear dengan urutan nukleotida dalam mRNA dan gen yang sesuai. Reaksi enzimatik spesifik yang terlibat dalam DNA, RNA, dan sintesis protein berada di luar cakupan bab ini. Ekspresi penentu genetik pada bakteri melibatkan aliran informasi searah dari DNA ke RNA ke protein. Pada bakteriofag, baik DNA atau RNA dapat berfungsi sebagai materi genetik. Selama infeksi bakteri oleh bakteriofag RNA, molekul RNA berfungsi sebagai cetakan untuk replikasi RNA dan

sebagai mRNA. Studi dengan kelompok virus hewan retrovirus mengungkapkan bahwa molekul DNA dapat disintesis dari cetakan RNA oleh enzim yang ditunjuk sebagai polimerase DNA yang bergantung pada RNA (transkriptase terbalik). Pembalikan arah aliran informasi genetik yang biasa ini, dari RNA ke DNA maupun dari DNA ke RNA, merupakan mekanisme penting untuk memungkinkan informasi dari retrovirus dikodekan dalam DNA dan dimasukkan ke dalam genom sel hewan.

Sifat fenotipik bakteri ditentukan oleh genotipe dan kondisi pertumbuhannya. Untuk bakteri dalam kultur murni, perubahan kondisi pertumbuhan sering menghasilkan adaptasi fisiologis yang dapat diprediksi pada semua anggota populasi. Biasanya, produk gen esensial dibuat dalam jumlah yang memungkinkan pertumbuhan tercepat di lingkungan tertentu, dan produk yang dibutuhkan dalam keadaan khusus dibuat hanya ketika dibutuhkan. Adaptasi fisiologis sering dikaitkan dengan perubahan aktivitas metabolisme. Aliran metabolit melalui jalur biokimia tertentu dapat dikontrol baik dengan mengatur sintesis enzim tertentu maupun dengan mengubah aktivitas enzim yang ada.

Mekanisme yang mengatur ekspresi gen dengan mempengaruhi sintesis produk gen tertentu mulai dibahas pada

bab sini. Regulasi khusus melibatkan gen atau kelompok gen yang terlibat dalam proses metabolisme tertentu. Induksi dan represi memungkinkan bakteri untuk mengatur produksi produk gen tertentu sebagai respons terhadap sinyal yang sesuai. Umumnya enzim katabolik diinduksi ketika substrat untuk jalur tersebut ada dalam media pertumbuhan, dan enzim biosintetik ditekan oleh produk jalur tersebut. Enzim yang berpartisipasi dalam jalur biokimia tunggal sering menempati posisi yang berdekatan pada kromosom bakteri dan secara terkoordinasi diinduksi atau ditekan. Mereka membentuk operon, sekelompok gen yang berdekatan yang ditranskripsikan sebagai satu unit dan diterjemahkan untuk menghasilkan produk gen yang sesuai. Organisasi menjadi operon adalah strategi penting untuk mengatur ekspresi gen pada bakteri secara terkoordinasi. Operon yang dapat diinduksi atau ditekan dikendalikan dengan mengikat protein pengatur spesifik ke urutan nukleotida tertentu yang berfungsi sebagai situs pengatur di dalam operon.

Perbandingan urutan asam amino dari banyak protein pengatur yang berbeda ini menunjukkan bahwa mereka dapat dikelompokkan bersama ke dalam keluarga regulator (misalnya keluarga protein *lysR*) yang mungkin telah berevolusi dari nenek moyang yang sama. Anggota dari keluarga *lysR* termasuk pengatur berbagai fenomena seperti metabolisme lisin, sistein

dan metionin dalam perbandingan urutan asam amino dari banyak protein pengatur yang berbeda ini menunjukkan bahwa mereka dapat dikelompokkan bersama ke dalam keluarga regulator (misalnya keluarga protein lysR) yang mungkin telah berevolusi dari gen nenek moyang yang sama. Anggota dari keluarga lysR termasuk pengatur berbagai fenomena seperti metabolisme lisin, sistein dan metionin pada *E. coli* dan represi besi *V. kolera*. Regulasi global secara simultan mengubah ekspresi sekelompok gen dan operon, yang secara kolektif disebut regulasi, yang dikendalikan oleh sinyal regulasi yang sama. Regulasi global menentukan respons bakteri terhadap nutrisi dasar seperti karbon, nitrogen atau fosfat, reaksi terhadap tekanan seperti kerusakan DNA atau kejutan panas, dan sintesis oleh patogen dari faktor virulensi spesifik selama pertumbuhan pada hewan inangnya. Jumlah protein spesifik dalam sel bakteri dapat bervariasi dari yang tidak ada hingga ribuan molekul. Kisaran luas ini sering ditentukan oleh aksi gabungan dari beberapa mekanisme pengaturan yang mempengaruhi ekspresi gen struktural yang sesuai. Regulasi dicapai dengan menentukan seberapa sering gen ditranskripsi menjadi mRNA fungsional, seberapa efisien mRNA diterjemahkan menjadi protein, seberapa cepat mRNA terdegradasi.

A. mRNA sebagai Unit Transkripsi

Ekspresi gen dimulai dengan DNA-dependent RNA polymerase (RNA polimerase) yang mengkatalisis transkripsi mRNA spesifik dari satu untai cetakan DNA. Pengikatan RNA polimerase ke DNA terjadi di tempat spesifik yang disebut promotor, dan transkripsi dimulai di dekat promotor. Promotor yang kuat dapat berinteraksi secara efisien dengan RNA polimerase dan memulai transkripsi dengan kecepatan tinggi; promotor lemah memulai transkripsi dengan kecepatan lambat. Dalam kedua kasus tersebut, mRNA disintesis dari ujung 5 menuju ujung 3 pada kecepatan yang kira-kira konstan sampai RNA polimerase mengenali situs spesifik lain yang disebut terminator.

RNA polimerase kemudian berdisosiasi dari template, dan transkripsi mRNA selesai. Molekul mRNA individu dapat mengkode satu atau lebih polipeptida. Transkripsi operon menghasilkan mRNA polikistronik yang mengkode beberapa polipeptida. Terjemahan mRNA polikistronik mengarah pada sintesis koordinat polipeptida yang dikodekan, tetapi setiap polipeptida disintesis sebagai molekul terpisah. Situs pengikatan ribosom spesifik terletak tepat di hulu dari awal setiap urutan pengkodean pada molekul mRNA. Messenger RNA pada bakteri terdegradasi dengan cepat dengan waktu paruh rata-rata

beberapa menit, berbeda dengan tRNA dan rRNA yang jauh lebih cepat lebih stabil. Meskipun mRNA mewakili sekitar setengah dari RNA yang baru disintesis, mereka hanya mewakili sebagian kecil dari total RNA. Waktu paruh mRNA yang pendek memiliki konsekuensi penting untuk ekspresi gen. Jika sintesis mRNA spesifik dicegah, produksi polipeptida yang sesuai menurun dengan cepat.

Kontrol ekspresi gen terjadi dengan mengatur satu atau lebih langkah dalam jalur dari cetakan DNA ke produk gen aktif. Regulasi simultan pada beberapa level memungkinkan kontrol yang lebih besar atas ekspresi gendaripada yang dimungkinkan dengan mekanisme regulasi tunggal. Cara paling umum untuk mengatur ekspresi gen pada bakteri adalah dengan mengontrol produksi mRNA tertentu. Karena laju pemanjangan molekul RNA kira-kira konstan, faktor utama yang mengontrol sintesis mRNA adalah laju inisiasi dan kemungkinan bahwa transkrip panjang penuh akan diproduksi.

B. Regulasi Inisiasi Transkripsi

Beberapa mRNA pada bakteri disintesis dengan kecepatan konstan, menghasilkan produksi konstitutif dari polipeptida yang dikodekan. Namun, jumlah mRNA dan polipeptida spesifik yang dihasilkan dari gen konstitutif yang berbeda sangat

bervariasi, dan sering kali mencerminkan perbedaan kekuatan promotor untuk gen tersebut. Transkripsi banyak operon diatur sebagai respons terhadap perubahan kondisi lingkungan. Promotor menentukan tingkat maksimum inisiasi transkripsi untuk operon tersebut, tetapi protein pengatur berpartisipasi dalam mengendalikan transkripsi. Urutan nukleotida dalam operon yang mengikat protein pengatur spesifik disebut situs pengatur atau operator. Operator dan promotor terletak berdekatan di dalam operon dan mungkin memiliki urutan DNA yang tumpang tindih. Pengikatan protein regulator ke operator dapat meningkatkan (regulasi positif) atau menurunkan (regulasi negatif) frekuensi inisiasi transkripsi. Protein yang berfungsi sebagai regulator negatif biasanya disebut represor. Karena protein pengatur dapat berdifusi melalui sitoplasma, Kemampuan untuk merasakan ada atau tidaknya senyawa tertentu dan mengubah laju sintesis produk gen yang sesuai merupakan pusat kendali ekspresi gen. Protein pengatur menawarkan satu solusi untuk masalah penggabungan stimulus-respons ini.

Banyak protein pengatur bersifat bifungsional dan mengikat tidak hanya pada operator yang sesuai tetapi juga pada efektor spesifik, yang merupakan molekul kecil seperti gula tertentu, asam amino, dan metabolit lainnya. Lebih lanjut, protein

pengatur bersifat alosterik, artinya mereka dapat eksis dalam konformasi berbeda yang menunjukkan afinitas pengikatan yang berbeda untuk operator dan efektor serumpunnya. Konsentrasi efektor yang cukup mendukung pembentukan kompleks protein-efektor pengatur, yang memiliki afinitas tinggi atau rendah untuk operator dalam kasus tertentu. Dalam sistem yang diatur secara negatif, efektor berfungsi sebagai korepresor jika kompleks protein-efektor pengatur adalah represor aktif, dan efektor berfungsi sebagai penginduksi dan menyebabkan derepresi jika protein pengatur bebas adalah represor aktif. Sebaliknya, dalam sistem yang diatur secara positif, efektor merangsang ekspresi operon jika kompleks protein-efektor pengatur adalah regulator positif, dan efektor menghambat ekspresi operon jika protein pengatur bebas adalah regulator positif.

Operon laktosa (*lac*) dari *E. coli* adalah contoh dari operon yang diinduksi dan diatur secara negatif. Kode gen *lac I* untuk represor yang mengikat *lac* operator dan mencegah transkripsi dari *lac* promotor. Gen struktural untuk represor ini terpisah dari operon *lac*, dan represor disintesis secara konstitutif pada tingkat yang rendah. Ketika induser berikatan dengan *lac* represor, kompleks tidak dapat berikatan dengan operator dan tidak dapat mencegah pengikatan RNA polimerase ke promotor. Jika

kondisi lain menguntungkan, maka lac operon diekspresikan, menghasilkan sintesis-galaktosidase, galaktosida permease dan -galaktosida transasetilase. Lac operon dapat diinduksi oleh laktosa atau oleh senyawa yang terkait secara struktural seperti isopropil-bD-thiogalactoside (IPTG). IPTG disebut penginduksi bebas karena menginduksi operon lac, tetapi bukan substrat untuk -galaktosidase. Regulasi negatif juga terjadi di banyak operon biosintetik di *E. coli*. Dalam operon seperti itu, produk dari jalur biosintetik berfungsi sebagai efektor untuk sistem regulasi negatif. Arabinosa (ara) operasi di *E. coli* diatur secara positif dan negatif. Dengan adanya arabinosa, protein pengatur merangsang transkripsi ara operon. Dengan tidak adanya arabinosa, bagaimanapun, protein pengatur menekan operasi. Operon sering dikendalikan oleh lebih dari satu mekanisme. Ketika *E. coli* ditumbuhkan dalam media yang mengandung glukosa dan sumber karbon alternatif seperti laktosa atau arabinosa, induksi lac atau ara operon dan pemanfaatan laktosa atau arabinosa ditunda sampai glukosa telah dikonsumsi. Fenomena ini disebut pertumbuhan diauxic. Kegagalan untuk menginduksi operon lac atau ara dengan adanya glukosa adalah contoh dari represi katabolit. Operon lac dan ara diregulasi secara positif oleh cyclic-3',5'-adenosine monophosphate (cAMP) dan protein catabolite geneactivator (CAP) (produk dari gen *crp*).

Kompleks cAMP-CAP berinteraksi dengan situs pengikatan CAP di daerah regulasi beberapa operon, termasuk operon *lac* dan *ara*, dan merangsang transkripsi dari promotor yang sesuai.

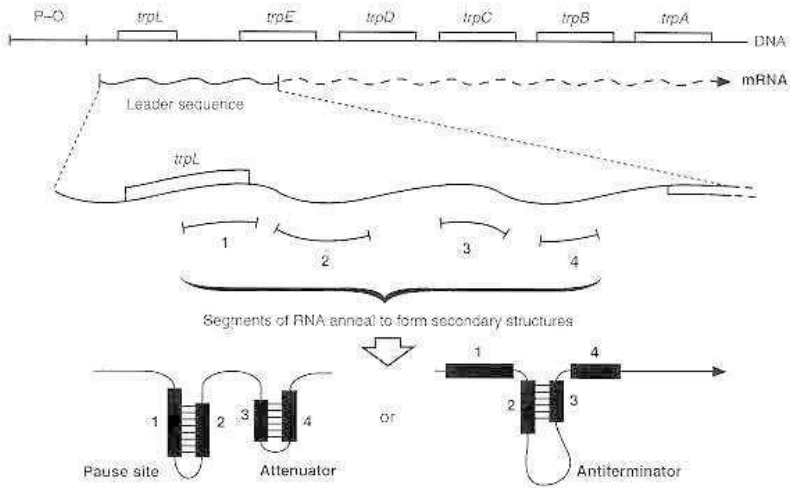
Tingkat cAMP intraseluler di *E. coli* tinggi selama pertumbuhan tanpa adanya glukosa, dan rendah selama pertumbuhan dengan adanya glukosa. Oleh karenanya, represi katabolit disebabkan oleh kurangnya aktivasi operon yang bergantung pada cAMP ketika bakteri ditumbuhkan dengan adanya glukosa atau sumber karbon tertentu lainnya yang dapat dimetabolisme dengan cepat.

C. Regulasi Pemutusan Transkripsi

Atenuasi adalah mekanisme untuk mengatur operon dengan menghentikan transkripsi mRNA sebelum waktunya. Atenuasi umum terjadi pada operon biosintetik, termasuk operon *trp*, histidin (*his*), treonin (*thr*), isoleusin-valin (*ilv*), dan fenilalanin (*phe*). operon *trp* pada *E. coli* dikendalikan baik oleh represi dan atenuasi. Dengan adanya kadar triptofan yang berlebih, inisiasi transkripsi dari *trp* promotor akan ditekan. Selain itu, bagaimanapun, transkrip yang dimulai dari *trp* promotor biasanya dihentikan sebelum salah satu gen struktural dari *trp* operon itu ditranskripsi. Konsentrasi triptofan intraseluler yang

dibutuhkan untuk mempertahankan represi lebih banyak dari yang dibutuhkan untuk proses atenuasi. Kontrol ganda tersebut memungkinkan sel untuk menyempurnakan ekspresi *trp* operon dalam merespon penurunan konsentrasi triptofan.

Struktur sekunder mRNA memiliki peran penting dalam mekanisme atenuasi. Semua mRNA memiliki urutan pemimpin antara situs awal transkripsi dan awal urutan pengkodean untuk gen struktural pertama. Untuk operon biosintetik asam amino yang mengalami atenuasi, urutan pemimpin mRNA memiliki dua ciri khas. Hal ini mengkodekan peptida pendek yang mengandung asam amino yang diproduksi oleh jalur yang diatur, dan dapat membentuk struktur RNA untai ganda alternatif yang saling tidak kompatibel yang berpartisipasi dalam peristiwa pengaturan. Misalnya, peptida yang dikodekan oleh *trp* urutan pemimpin mRNA mengandung dua residu triptofan yang berdekatan, dan peptida yang dikodekan oleh *his* urutan pemimpin mRNA memiliki serangkaian tujuh residu histidin berturut-turut.



Gambar 7. Operon *trp* (Sumber: Holmes dan Jobling, 1996)

Gambar 6 menunjukkan operon *trp* dan menggambarkan struktur sekunder alternatif dalam urutan pemimpin dari mRNA *trp*. Ada tiga kemungkinan struktur sekunder untuk wilayah ini, yang disebut situs jeda (segmen 1+2), anti-terminator (segmen 2+3), dan attenuator (segmen 3+4). Segmen 1 dari situs jeda tumpang tindih dengan wilayah pengkodean untuk peptida *trpL*. Struktur sekunder mana yang terbentuk bergantung pada efisiensi translasi peptida *trpL*. Ketika segmen 1 dan 2 ditranskripsi, mereka segera menyatu dan menyebabkan RNA polimerase berhenti sementara. Inisiasi terjemahan selanjutnya dari peptida *trpL* mengganggu situs jeda dan

memungkinkan RNA polimerase untuk melanjutkan transkripsi. Jika triptofan ada, transkripsi segmen 3 dan 4 dan pembentukan struktur attenuator terjadi saat ribosom memblokir segmen 2, menyebabkan RNA polimerase menghentikan transkripsi. Jika triptofan kekurangan, triptofanil-tRNA juga kekurangan, dan ribosom berhenti di kodon triptofan di segmen 1. Hal ini memungkinkan segmen 2 untuk bergabung dengan segmen 3 yang baru disintesis untuk membentuk anti terminator, sehingga membuat segmen 3 tidak tersedia untuk menyesuaikan dengan segmen 4. Oleh karena itu, pembentukan attenuator dicegah, dan RNA polimerase mentranskripsikan seluruh *trp* operon. Dengan cara ini, pengurangan triptofan (kurangnya pasokan triptofanil-tRNA) digabungkan dengan regulasi transkripsi operon biosintetik untuk triptofan.

Pada *E. coli*, transkripsi dan translasi digabungkan secara fungsional. Mutasi yang tidak masuk akal yang menyebabkan penghentian terjemahan prematur sering menyebabkan penurunan transkripsi gen yang lebih distal dalam operon yang sama. Fenomena ini disebut polaritas. Ribosom biasanya memulai terjemahan molekul mRNA yang sedang tumbuh sebelum penyelesaian transkripsi, dan terjemahan semacam itu menutupi situs yang jika tidak akan menyebabkan RNA polimerase untuk menghentikan transkripsi. Penghentian

terjemahan yang prematur oleh kodon nonsense memisahkan ribosom dari mRNA dan memungkinkan RNA polimerase untuk berinteraksi dengan situs penghentian transkripsi yang terbuka.

Dalam beberapa sistem biologis, termasuk fag lambda, antiterminasi digunakan sebagai mekanisme pengaturan positif untuk mengontrol ekspresi gen.

Segera setelah infeksi *E. coli* oleh lambda, RNA polimerase mengikat dua promotor dalam DNA lambda dan memulai primer yang berbeda transkrip primer yang berakhir pada situs tertentu pada genom lambda. Protein yang dikodekan oleh salah satu transkrip primer berinteraksi dengan RNA polimerase dan memungkinkannya untuk melanjutkan transkripsi melalui situs penghentian primer, sehingga mengekspresikan set kedua gen lambda. Satu produk yang dikodekan oleh transkrip sekunder memblokir penghentian mRNA lain dan mengaktifkan ekspresi set gen ketiga. Oleh karena itu, antiterminasi memiliki peran kunci dalam mengendalikan kaskade ekspresi gen selama pertumbuhan litik fag lambda.

D. Regulasi Translasi

Situs pengikatan ribosom pada mRNA melengkapi urutan pada ujung 3' dari 16S rRNA. Interaksi antara urutan ini memfasilitasi pembentukan kompleks inisiasi untuk sintesis

protein. Baik tingkat homologi dengan 16S rRNA dan jarak situs pengikatan ribosom dari kodon inisiasi mempengaruhi efisiensi inisiasi translasi. Penggunaan kodon dalam mRNA juga mempengaruhi efisiensi translasi. Messenger RNA untuk protein yang dibutuhkan dalam jumlah besar cenderung menggunakan kodon yang diterjemahkan oleh spesies tRNA yang paling melimpah, dan sebaliknya juga berlaku. Kontrol translasi penting untuk regulasi sintesis protein ribosom. Produksi ribosom melibatkan biaya metabolisme yang tinggi untuk bakteri, dan pada tingkat pertumbuhan yang tinggi, ribosom dapat membentuk hampir setengah dari berat sel.

Kebanyakan protein ribosom dan rRNA yang ada terakit menjadi satu dengan ribosom, dan kumpulan subunit ribosom bebas tersebut berukuran sangat kecil. Gen untuk protein ribosom disusun menjadi beberapa operon. Protein ribosom bebas tertentu secara langsung menghambat translasi mRNA polikistronik yang mengkodekannya, sehingga memastikan bahwa sintesis protein ribosom seimbang dengan kebutuhan penggunaannya.

E. Regulon dan Protein Transduksi Sinyal

Sebuah regulon adalah sekelompok gen atau operon yang dikendalikan oleh regulator umum. Ada beberapa keuntungan

untuk menempatkan operon yang berbeda di bawah kendali regulator yang sama. Ini memungkinkan penginderaan stimulus tunggal untuk digabungkan dengan ekspresi sejumlah besar gen yang mungkin diperlukan untuk respons yang tepat, dan menghilangkan persyaratan untuk gen yang diatur secara terkoordinasi untuk dihubungkan pada kromosom bakteri.

Rangsangan yang ditanggapi regulon dapat berupa komponen intraseluler atau sinyal lingkungan. Operon individu juga dapat diatur oleh beberapa mekanisme yang berbeda dan diekspresikan dalam kondisi yang berbeda dari yang mempengaruhi seluruh regulasi.

Lebih dari 40 regulasi yang berbeda telah diidentifikasi pada *E. coli*. Contoh spesifik dari regulator yang merespons komponen intraseluler termasuk regulasi cAMP- CAP yang dijelaskan sebelumnya dan regulasi yang dikendalikan oleh respons ketat dan respons SOS. Ketika ribosom menemukan molekul tRNA yang tidak bermuatan selama sintesis protein, respons yang ketat diaktifkan dan menghasilkan penghentian segera sintesis rRNA. Sebuah nukleotida baru yang disebut guanisin-3'-difosfat-5'- difosfat (ppGpp) terakumulasi selama kelaparan asam amino. ppGpp yang dihasilkan oleh idling ribosom menjadi mediator dari respon yang ketat, tetapi mekanisme yang tepat yang menyebabkan penghambatan

sintesis rRNA masih belum diketahui. Respon SOS dikaitkan dengan kerusakan DNA dan melibatkan induksi lebih dari 20 gen yang terlibat dalam beberapa jalur. Produk dari gen *recA* mendeteksi penghambatan sintesis DNA dan menginisiasi kejadian pembelahan proteolitik dan inaktivasi represor untuk jalur SOS yang dikode oleh gen *lexA*.

Beberapa regulon diinduksi oleh rangsangan lingkungan tertentu, seperti adanya keterbatasan nutrisi dan stres osmotik. Seringkali operon lebih dari satu regulon yang dapat diinduksi, dan set gen yang berhasil diinduksi dikenal dengan istilah stimulon. Biasanya, bakteri merasakan kondisi lingkungan seperti itu dengan dua sistem komponen. Komponen pertama adalah protein membran-spanning dengan domain ekstraseluler dan intraseluler. Domain ekstraselulernya mendeteksi stimulus lingkungan, dan domain sitoplasmiknya mentransmisikan sinyal. Komponen kedua adalah protein sitoplasmik bifungsional yang memiliki domain penerima yang berinteraksi dengan modul pemancar dari komponen pertama, serta domain efektor yang mengontrol ekspresi dari regulon yang sesuai. Modul pemancar dan penerima dari dua sistem pengaturan komponen dari berbagai macam regulasi memiliki keterkaitan secara genetik dan homologi asam amino. Akan tetapi, domain pendeteksi sinyal dan efektor protein dari berbagai regulon yang

berbeda turut menentukan sinyal yang dideteksi dan adanya operon yang diaktifkan ataupun ditekan merupakan respons terhadap sinyal tersebut.

Regulasi global memiliki peran penting dalam fisiologi bakteri patogen. Sebagai contoh, *Vibrio cholerae* dan *Bordetella pertussis* mengekspresikan banyak faktor penentu virulensinya berdasarkan kontrol sistem transduksi sinyal yang berhubungan dengan dua sistem komponen yang dijelaskan sebelumnya. Pada *Shigella*, ekspresi protein yang dibutuhkan untuk fenotipe invasif dikendalikan oleh suhu. *Yersinia enterocolitica* merasakan suhu lingkungan dan konsentrasi ion kalsium dan memasang sinyal-sinyal ini untuk ekspresi gen dan lokasi seluler dari produk gen yang sesuai untuk lingkungan intraseluler atau ekstraseluler. Dalam jaringan inang memiliki konsentrasi besi bebas sangat rendah, dan sebagian besar bakteri patogen memiliki sistem transportasi besi dengan afinitas tinggi yang diinduksi dalam keadaan konsentrasi besi yang rendah. Sintesis toksin difteri oleh *C. difteri*, toksin Shiga oleh *Shigella* disentri, eksotoksin A oleh *Pseudomonas aeruginosa*, dan proteinspesifik lainnya pada banyak bakteri patogen diinduksi dalam kondisi pertumbuhan dengan keterbatasan zat besi.

BAB VII

PERAN MIKROBA DALAM KEHIDUPAN

A. Kemampuan Resistensi Bakteri terhadap Logam

Manusia adalah tempatnya bakteri untuk tumbuh, mulai dari atas kepala sampai ujung kaki, semua bagian pada manusia dapat menjadi habitat yang nyaman bagi bakteri untuk memperoleh ketersediaan makanan. Seperti halnya pada tumbuhan dan hewan. Bakteri membantu kita mencerna makanan

kita dan pada gilirannya mampu bereproduksi. *E. coli* merupakan bakteri usus yang umum ditemukan di usus kita. Dalam keadaan yang wajar *E.coli* tetap akan hidup sewajarnya dalam membantu pencernaan manusia. Akan tetapi dalam kondisi tertentu, ketika mekanisme sel terganggu dan menciptakan respon perlawanan bakteri, maka bakteri akan bereaksi mengganggu pencernaan dan berakibat gangguan kesehatan bagi manusia.

Ketika bakteri mulai tumbuh di tempat yang berbahaya bagi kita (misalnya, dalam aliran darah atau luka), sel-sel sistem kekebalan tubuh kita melawan, menetralsir atau melahap agen asing yang masuk. Obat-obatan antibiotik dapat secara selektif menghancurkan sel-sel prokariotik, memberikan bantuan cepat untuk respons imun tubuh. Sel bakteri dapat dengan cepat melakukan adaptasi terhadap serangan system imun yang diberikan padanya dengan cara membentuk sebuah resistensi terhadap antibiotik. Tidak hanya resistensi terhadap antibiotik, bakteri juga memiliki ketahanan terhadap senyawa logam. Bakteri memiliki mekanisme pertahanan bakteri terhadap lingkungan hidup yang tidak memungkinkan baginya seperti adanya logam berat. Kemampuan bakteri untuk bertahan ini ditentukan oleh beberapa factor, fase dan jenis bakteri.

Mikroorganisme terdapat dimana-mana dan dapat beradaptasi dimanapun. Dari semua jenis mikroorganisme,

bakteri menunjukkan mekanisme pertahanan yang berbeda terhadap logam berat. Beberapa interaksi bakteri dengan logam berat dapat menghasilkan efek yang berguna untuk menghilangkan racun dari lingkungan. Beberapa bakteri telah mengembangkan beberapa sistem yang efisien untuk detoksifikasi logam. Mekanismenya dapat digolongkan ke dalam 5 kategori, yaitu (1) penyerapan intraseluler; (2) mengekspor; (3) mereduksi; (4) absorpsi ekstraseluler; dan (5) detoksifikasi ekstraseluler.

Hampir semua mekanisme resistensi bakteri dikode gen yang terdapat pada plasmid dan transposon dan hal itu memungkinkan transfer gen atau mutasi spontan yang menyebabkan bakteri resisten terhadap logam. Bakteri yang mampu resisten terhadap logam diharapkan mampu meremediasi cemaran logam di lingkungan. Selain itu, kadar cemaran logam dapat dikurangi dengan adanya kemampuan biodegradasi logam oleh bakteri.

B. Bioremediasi

Bioremediasi adalah teknik menghilangkan dan memperbaiki ion logam berat menjadi bentuk yang lebih ringan dan berkurang derajat toksisitasnya, dengan menggunakan organisme hidup seperti bakteri, fungi, algae dan tanaman. Keuntungan utama dari metode biologis ini adalah

pengoperasian yang rendah biaya, selektivitas untuk remediasi logam tertentu, minimalisasi volume lumpur kimia dan biologi, dan efisiensi tinggi dalam detoksifikasi. Beberapa faktor yang mempengaruhi dan membatasi efisiensi bioremediasi meliputi suhu, pH, potensi redoks, nutrisi pada media pertumbuhan, kelembaban, komposisi kimia logam berat, sumber energi (donor elektron), akseptor elektron, substrat atau metabolit penghambat, bentuk alami polutan (solid, semisolid, liquid, volatil, toksik atau tidak, organik atau anorganik), logam berat atau tidak, bentuk hidrokarbon aromatik polisiklik, atau bentuk lainnya, serta diversitas mikroorganisme. Mikroba memiliki mekanisme perlindungan dari resistensi logam berat yaitu matriks ekstraseluler, dan transpor aktif ion logam (eflux), sekuestrasi intraseluler, dan reduksi ion logam (Lubis SS, 2019; Kurniawan A, *et al.* 2016).

Remediasi mikroba digambarkan sebagai penggunaan mikroorganisme untuk melakukan penyerapan, presipitasi, oksidasi, dan reduksi logam berat di dalam tanah. Mikroorganisme memiliki jalur metabolisme yang memanfaatkan berbagai senyawa beracun sebagai sumber energi untuk pertumbuhan dan perkembangan, melalui respirasi, fermentasi, dan ko-metabolisme. Bioremediasi ion logam berat adalah untuk meminimalkan toksisitasnya. Mikroorganisme dapat mengikat ion logam berat melalui gugus fungsi yang

dimiliki dan dapat mengubah logam berat dari bentuk kompleks menjadi lebih sederhana melalui melalui reaksi redoks, toksisitas logam berat ion dapat berkurang secara efisien.

Mikroba memiliki enzim degradatif untuk kontaminan tertentu, dan mengembangkan beragam mekanisme untuk mempertahankan homeostasis dan tahan terhadap logam berat, serta mampu beradaptasi pada lingkungan tersebut. Mekanisme yang dimiliki oleh mikroba dalam proses bioremediasi antara lain bioakumulasi, biomineralisasi, biosorpsi, dan biotransformasi (Lubis SS, 2019).

Secara umum teknik bioremediasi terbagi dua in situ (on-site), dapat dilakukan langsung di lokasi tanah tercemar dan ex situ (off-site) yaitu tanah tercemar digali dan dipindahkan ke dalam penampungan yang lebih terkontrol. Lalu diberi perlakuan khusus dengan memakai mikroba. Ada 4 teknik dasar yang biasa digunakan dalam bioremediasi:

1. Stimulasi aktivitas mikroorganisme asli (di lokasi tercemar) dengan penambahan nutrisi, pengaturan kondisi redoks, optimasi pH.
2. Inokulasi (penanaman) mikroorganisme di lokasi tercemar, yaitu mikroorganisme yang memiliki kemampuan biotransformasi khusus.
3. Penerapan immobilized enzymes.

4. Penggunaan tanaman (phytoremediation) untuk menghilangkan atau mengubah pencemar (Suryani Y, 2011).

Prinsip aplikasi bioremediasi dapat dibagi menjadi tiga jenis metode yaitu pelemahan alami, bioaugmentasi, dan biostimulasi.

- a. Metode pelemahan alami

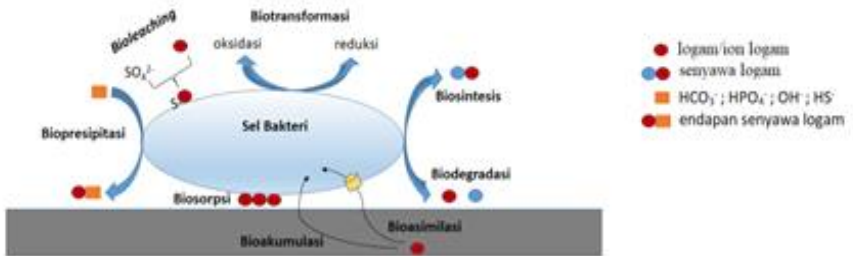
Adalah jenis metode paling sederhana yaitu dilakukan dengan memonitor variasi konsentrasi populasi untuk memastikan transformasi limbah berjalan (Fidiastuti HR, *et al.* 2019).

- b. Bioaugmentasi

Umumnya digunakan pada kasus dimana jumlah komunitas mikroba alami yang terdapat pada lokasi pencemaran terlalu sedikit atau bahkan tidak ada sehingga memerlukan penambahan mikroba ke lokasi. Bioaugmentasi dilakukan dengan cara menambahkan mikroorganisme ke dalam sedimen terkontaminasi dengan meningkatkan aktivitas biologisnya untuk mendegradasi dan mempercepat penghilangan logam berat. Mikroorganisme yang dipilih harus mampu beradaptasi dengan lingkungan terkontaminasi dan memiliki kemampuan katabolik spesifik untuk menurunkan kontaminan target. Kontaminan logam berat tidak dapat langsung terdegradasi menjadi senyawa yang tidak berbahaya. Namun, mikroorganisme seperti bakteri dapat mengubah bentuk kimia,

mobilitas, toksisitas, dan bioavailabilitas logam berat melalui proses metabolisme. Interaksi antara sel bakteri dan logam berat terjadi melalui biosorpsi, bioakumulasi, bioasimilasi, biopresipitasi, bioleaching, biodegradasi, biosintesis, dan biotransformasi (Fidiastuti HR, *et al.* 2019; Harmesa, 2020).

c. Biostimulasi



Gambar 8. Proses Remediasi Logam berat (Sumber: Peng dkk, 2018 dalam Harmesa, 2020)

Biostimulasi yaitu penambahan faktor lingkungan misalnya nutrisi baik organik maupun nonorganik pada lokasi pencemaran untuk mempercepat kerja mikroba alami dalam mendegradasi bahan pencemar. Perlakuan sumber karbon seperti N dan P. Sumber karbon ditambahkan sebagai nutrisi di tanah yang terkontaminasi untuk meningkatkan laju degradasi polutan dengan merangsang pertumbuhan mikroorganismenya yang bertanggung jawab untuk biodegradasi polutan. Penambahan karbon dalam bentuk piruvat tidak hanya merangsang

pertumbuhan mikroorganisme tetapi juga meningkatkan laju degradasi PAH (Fidiastuti HR, *et al.* 2019; Meenambigai, P., *et al.*, 2016).

C. Biodegradasi

Biodegradasi didefinisikan sebagai pengurangan kompleksitas senyawa kimia yang dikatalisasi secara biologis. Biodegradasi adalah proses pemecahan zat organik menjadi senyawa yang lebih kecil oleh mikroorganisme, seperti jamur, bakteri, dan ragi melalui proses metabolisme atau enzimatik. Hal ini didasarkan pada dua proses, yaitu pertumbuhan dan kometabolisme. Dalam pertumbuhannya, polutan organik digunakan sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi. Proses ini menghasilkan degradasi lengkap (mineralisasi) polutan organik. Kometabolisme didefinisikan sebagai metabolisme senyawa organik yang memiliki substrat pertumbuhan yang digunakan sebagai sumber karbon dan energi primer. Bahan yang dapat didegradasi oleh bakteri antara lain, komponen hidrokarbon (misalnya minyak), polychlorinated biphenyls (PCBs), polyaromatic hidrokarbon (PAHs), bahan farmasi, radionuclides dan logam (Chamy, R., & Rosenkranz, F., 2013).

Biodegradasi senyawa kimia dan logam berat oleh mikroba merupakan proses yang sangat penting untuk mengurangi kadar bahan berbahaya di lingkungan yang berlangsung melalui suatu

seri reaksi kimia yang cukup kompleks (Ahmad, RZ., 2018). Beberapa cara mikroorganismenya melakukan biodegradasi antara lain (Meenambigai, P., *et al*, 2016; Adhani, R., 2017; Ahmad, RZ., 2018):

1. Biosorpsi

Biosorpsi logam toksik didasarkan pada proses adsorpsi. Dinding sel bakteri dan lapisannya, dinding fungi, ragi, dan alga efisien sebagai biosorbent logam. Faktor utama yang mempengaruhi proses biosorpsi adalah konsentrasi ion logam awal, pH, suhu, dan konsentrasi biomassa dalam larutan. Suhu yang tidak mempengaruhi proses biosorpsi pada kisaran 200-300°C. Derajat keasaman atau pH mempengaruhi kimia larutan gugus fungsi dalam biomassa dan kompetisi ion logam. Konsentrasi biomassa dalam larutan mempengaruhi serapan spesifik, seperti konsentrasi biomassa yang rendah dapat menyebabkan gangguan pengikatan.

2. Biopresipitasi

Biopresipitasi adalah proses reaksi kimiawi terhadap logam berat dilakukan sehingga terbentuk presipitat tidak larut yang dipisahkan melalui proses sedimentasi atau filtrasi.

3. Biodetoksifikasi atau Bioreduksi

Bioreduksi atau detoksifikasi adalah mengubah ion logam yang bersifat toksik menjadi suatu senyawa yang tidak toksik. Proses ini biasanya terjadi pada kondisi anaerob dengan

memanfaatkan senyawa kimia sebagai akseptor elektron, melibatkan aktivitas enzimatik (secara langsung) atau produk metabolisme, seperti reduktan atau oksidan melalui reaksi reduksi oksidasi kimiawi (tidak langsung). Salah satu contoh kemampuan detoksifikasi logam bakteri ialah terhadap logam merkuri yang dapat dilakukan dengan menggunakan mikroorganisme resisten merkuri seperti bakteri resisten merkuri.

Detoksifikasi merkuri oleh bakteri resisten merkuri terjadi karena bakteri resisten merkuri memiliki gen resisten merkuri, operon *mer*. Struktur operon *mer* berbeda untuk setiap jenis bakteri. Umumnya struktur operon *mer* terdiri dari gen metaloregulator (*merR*), gen transfer merkuri (*merT*, *merP*, *merC*), gen merkuri reduktase (*merA*) dan organo merkuri liase (*merB*). Bakteri yang hanya memiliki gen merkuri reduktase (*merA*) disebut bakteri resisten merkuri spectrum sempit. Ada beberapa bakteri yang memiliki selain gen *merA*, juga gen *merB* maka bakteri tersebut disebut bakteri resisten merkuri spectrum luas.

Protein MerA mempunyai fungsi mereduksikan ion merkuri yang toksik menjadi logam merkuri Hg(O) yang kurang toksik dan mudah menguap pada suhu kamar, sedangkan protein MerB mempunyai fungsi mengkatalisis pemutusan ikatan merkuri karbon sehingga dihasilkan senyawa organik dan ion Hg(II) (Fatimawali dkk, 2011).

4. Biohidrometalurgi

Biohidrometalurgi merupakan salah satu bagian dari biodegradasi yang bekerja dengan cara mengubah ion logam yang terikat pada suatu senyawa yang tidak larut dalam air menjadi senyawa yang dapat larut dalam air. Prinsip dasar hidrometalurgi yaitu dilakukan dengan mengambil logam yang diinginkan dari bijih, dengan melarutkannya ke dalam suatu pelarut/cairan. Setelah itu, larutan yang terbentuk kemudian dimurnikan untuk mendapatkan logam yang kita inginkan. Pelarut/cairan yang digunakan pada proses ini bergantung kepada jenis logam yang ingin diperoleh. Berikut merupakan contoh beberapa bakteri yang mengalami biohidrometalurgi.

a. *Pseudomonas fluorescens*

P. fluorescens resisten terhadap logam berat seperti Pb, Cd dan Cr, mampu menurunkan toksisitas Cr⁶⁺ menjadi Cr³ yang kurang toksik. Bakteri ini menghasilkan produk metabolit seperti asam organik dan metabolit lain seperti H₂S dan ligan yang dapat menghilangkan (remove) ion-ion logam berat dari larutan dan atau merubah menjadi spesies yang kurang toksik, bakteri tersebut juga telah berhasil digunakan dalam meremediasi ion kadmium dalam larutan.

b. *Thiobacillus ferrooxidans*

Bakteri *T. ferrooxidans* dalam metabolismenya menghasilkan asam organik, anorganik dan ligan, berhasil digunakan untuk meremediasi logam Cu, Ni dan mengekstrak emas (Au) dan krom (Cr) yang tercemar logam.

Sebagai contoh, dapat dilihat dari proses pencairan emas. Untuk mengekstrak emas dari bijih, dapat digunakan beberapa reagen atau pelarut pada prosesnya, seperti Sianida, Tiosianat, dll. Pada kasus ini, emas ingin diekstrak dari *refractory stibnite* dengan menggunakan media pelarut Sianida namun dengan bantuan bakteri berupa *Thiobacillus* untuk mempercepat reaksi oksidasi sulfide, *T. ferrooxidans* mengoksidasi stibnite menjadi antimony (III) sulfat, yang kemudian akan berhidrolisis membentuk antimony (III) Oxosulfat, dengan reaksi kimia sebagai berikut.

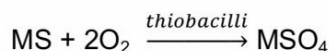
Sekarang ini ini telah dikembangkan metode praolahan bijih emas refraktori dengan menggunakan bakteri *Acidithiobacillus ferrooxidans* (dulu dikenal dengan *Thiobacillus ferrooxidans*), dan beberapa bakteri indigenos, yang disebut sebagai biooksidasi atau pelindian bakteri untuk melarutkan mineral-mineral sulfida pembungkus emas. Reaksi biooksidasi tersebut dapat berlangsung pada suhu 2- 40°C, pH 1,0-6,0.

Bakteri yang mampu mengkatalisis reaksi oksidasi mineral termasuk ke dalam kelompok bakteri kemolitotrof. Bakteri ini mempunyai kapasitas untuk memperoleh energi dari oksidasi material anorganik seperti mineral. Bakteri autotrof adalah bakteri yang bisa menggunakan karbondioksida sebagai satu-satunya sumber karbon. Saat ini setidaknya telah diketahui 5 jenis mesofil yang cocok untuk oksidasi mineral sulfid, yaitu *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *A. Thiooxidans* dan *A. caldus*, serta *Leptospirillum ferrooxidans* dan *L. ferriphilum*

5. *Bioleaching*

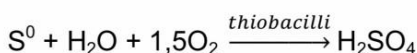
Bioleaching merupakan proses pelarutan logam dari substrat padatan secara langsung melalui metabolisme mikroorganisme, seperti cendawan dan bakteri, serta secara tidak langsung oleh produk metabolisme. *Bioleaching* merubah bentuk logam dari bentuk matrik solid ke cairan yang kemudian diikuti oleh proses dekontaminasi matrik solid, berkurangnya jumlah kontaminan, serta berkurangnya paparan dan bioavailabilitas. *Bioleaching* juga didefinisikan sebagai proses pelarutan atau solubilisasi logam dari substrat padatan yang secara langsung dapat dilakukan melalui metabolisme mikroorganisme leaching seperti bakteri maupun secara tidak langsung yang dilakukan oleh produk metabolisme (Kurniawan,2016).

Mekanisme *bioleaching* langsung:



114

Mekanisme *bioleaching* tidak langsung:



(Kurniawan, 2016)

Berikut beberapa contoh bakteri yang Berperan dalam Proses Bioremediation.

a. *Pseudomonas fluorescens*

P. fluorescens resisten tertiadap logam berat seperti Pb, Cd dan Cr, mampu menurunkan toksisitas Cr⁶⁺ menjadi Cr³⁺ yang kurang toksik. Bakteri ini menghasilkan produk metabolit seperti asam organik dan metabolit lain seperti H₂S dan ligan yang dapat menghilangkan (remove) ion-ion logam berat dari larutan dan atau merubah menjadi spesies yang kurang toksik, bakteri tersebut juga telah terbukti digunakan dalam meremediasi ion kadmium dalam larutan.

b. *Escherichia coli*

E. Coli dalam aktivitas metabolitnya menghasilkan produk asam organik, pigmen, ligan dan H₂S yang dapat menghilangkan (remove) ion-ion logam berat dari larutan dan merubah menjadi spesies yang kurang toksik. Bakteri ini telah terbukti mampu

menghilangkan Hg^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} dari limbah, tanah dan sedimen atau larutan yang tercemar logam berat tersebut.

c. *Thiobacillus ferrooxidans*

Bakteri *T. ferrooxidans* dalam metabolismenya menghasilkan asam organik, anorganik dan ligan, berhasil digunakan untuk meremediasi logam Cu, Ni dan mengekstrak emas (Au) dan krom (Cr) yang tercemar logam.

d. *Bacillus sp*

Bakteri *Bacillus sp* sangat toleran terhadap toksisitas logam berat serta mampu menghilangkan logam berat dari lingkungan yang tercemar dan kemampuan menyerap logam berat tinggi (Isa I, 2013).

6. Bioakumulasi

Bioakumulasi adalah peningkatan konsentrasi unsur kimia di dalam tubuh makhluk hidup sesuai piramida makanan. Contoh bioakumulasi adalah terdapat logam berat seperti merkuri (Hg), timbal (Pb) dan kadmium (Cd) pada makhluk hidup yaitu salah satu contohnya adalah kerang hijau (*Perna viridis*). Logam berat ini akan menjadi berbahaya dan beracun jika jumlahnya melebihi ambang batas. Selain itu juga bersifat

toksik walaupun dalam jumlah sedikit. Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi akumulasi logam berat pada biota perairan yaitu ukuran, stadium perkembangan, dan kadar garam pada toksisitas logam berat terhadap organisme laut dan muara (Nuryati et al., 2019).

Logam berat yang berada di perairan akan terlebih dahulu masuk ke dalam tubuh kerang melalui mulut (oral), insang, dan kulit, setelah itu logam tadi akan berada dalam sistem peredaran darah dengan terjadi pengikatan hingga mencapai organ target. Dalam kurun waktu yang lama telah terdapat akumulasi dalam jaringan daging, sehingga akan berpengaruh terhadap aktivitas fisiologi dan biokimia tubuh kerang. Logam berat dapat terakumulasi melalui rantai makanan, semakin tinggi tingkatan rantai makanan yang ditempati oleh suatu organisme, akumulasi logam berat di dalam tubuhnya juga semakin bertambah (Nuryati et al., 2019).

Logam berat merupakan senyawa toksik bila berada dalam tubuh manusia di atas ambang konsentrasi tertentu dan hanya dapat ditoleransi pada tingkat mikrogram. Dalam Crueger and Crueger (1984) dikatakan bahwa logam berat dapat terakumulasi di dalam beberapa jenis bakteri antara lain adalah *Thiobacillus thermophilica*, *Thermothix thioparus*, *Sulfolabus acidocaldarius*, *Pseudomonas flurescens*,

Pseudomonas putida. Kemampuan mengakumulasi logam oleh mikroorganisme ini dipengaruhi oleh faktor-faktor pertumbuhan seperti jumlah oksigen, pH, dan nutrisi khusus. Mekanismenya juga dipengaruhi oleh sifat mikroorganisme dan logamnya, sedangkan prosesnya dapat terjadi pada ekstraseluler, pada permukaan sel, dan intraseluler (Primaharinastiti et al., 2004).

Pada ekstraseluler, akumulasi logam dapat disebabkan oleh adanya pembentukan polimer ekstraseluler membentuk kompleks dengan logam. Mekanisme ini terjadi bila logam mengendap dan secara fisik terjebak oleh matriks polimer yang diinduksi oleh kondisi lingkungan atau terjadinya kompleks yang larut. Akumulasi pada permukaan sel merupakan hasil reaksi kompleks antara ion logam dan konstituen dinding sel. Komposisi dinding sel bakteri gram positif, bakteri gram negatif, ragi, jamur, dan alga berbeda. Proses akumulasinya sangat bergantung pada jenis spesies dan kondisi lingkungan. Sedangkan proses akumulasi intrasel memerlukan sistem transport aktif yang sangat spesifik untuk masuknya logam ion pada suatu sel (Primaharinastiti et al., 2004).

Adanya logam berat di perairan, berbahaya baik secara langsung terhadap kehidupan kerang darah dan kerang bakau (*Polymesoda bengalensis*). kandungan logam berat Pb dan Zn

pada air, sedimen, dan jaringan kerang dan mengkaji faktor bioakumulasi logam berat Pb dan Zn pada dua jenis kerang. Hasil Penelitian menunjukkan bahwa logam Pb dan Zn di air pada tiap lokasi telah melampau baku mutu, kadar tertinggi masing-masing 0,018 mg/L dan 0,793 mg/L, sedangkan pada sedimen tertinggi masing-masing 0,823 mg/Kg dan 6,919 mg/Kg, dan pada jaringan kerang menunjukkan hasil bahwa kerang ukuran besar mengandung logam Pb dan Zn lebih tinggi, masing-masing 1,750 dan 9,863 mg/Kg. (sedimen dan kerang belum melampau bakumutu). Nilai BC_{Fo-w} logam Pb tertinggi 119,20 pada kerang bakau dan Zn tertinggi 35,99 pada kerang darah. Berdasarkan kategori nilai IFK (BCF) untuk logam Pb dan Zn termasuk dalam kategori rendah hingga sedang (Amriarni dkk., 2012).

DAFTAR PUSTAKA

- A. Amriarni, B. Hendarto, and A. Hadiyanto, "BIOAKUMULASI LOGAM BERAT TIMBAL (Pb) DAN SENGG (Zn) PADA KERANG DARAH (*Anadara granosa* L.) dan KERANG BAKAU (*Polymesoda bengalensis* L.) DI PERAIRAN TELUK KENDARI," *Jurnal Ilmu Lingkungan*, vol. 9, no. 2, pp. 45-50, Oct. 2012. <https://doi.org/10.14710/jkli.%v.%i.76-107>
- Adhani, R., dan Husaini. 2017. *Logam Berat Sekitar Manusia*. Banjarmasin: Lambung Mangkurat University Press.

Ahmad, RZ. 2018. Mikroremediasi Menghilangkan Polusi Logam Berat pada Lahan Bekas Tambang untuk Lahan Perternakan. WARTAZOA; 28(1):41-50.

Chamy, R., & Rosenkranz, F. 2013. Biodegradation Life of Science. Rijeka, Kroasia: InTech. p289-304.

David L. Nelson, Michael Cox. 2017. Lehninger Principles of Biochemistry. Macmillan Learning.

Denning EJ, MacKerell AD. Intrinsic contribution of the 2'-hydroxyl to RNA conformational heterogeneity. J Am Chem Soc. 2012 Feb 08;134(5):2800-6.

Fatimawali, F., Badaruddin, F., & Yusuf, I. (2011). ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI RESISTEN MERKURI DARI MUARA SUNGAI SARIO YANG DAPAT DIGUNAKAN UNTUK DETOKSIFIKASI LIMBAH MERKURI. Jurnal Ilmiah Sains, 11(2), 282–288. <https://doi.org/10.35799/jis.11.2.2011.220>

Farisna, Septa Tri., Enny Zulaika. 2015. Resistensi Bacillus Endogenik Kalimas Surabaya Terhadap Logam Besi (Fe). JURNAL SAINS DAN SENI ITS. 4(2): 84

Fidiastuti, HR., Prabowo, CA., Lathifah, AS., Amin, M., Utomo, Y. 2019. Bioremediasi Limbah Industri: Pemanfaatan Mikroba Dalam Pengolahan Limbah Industri. Malang: Forind.

Fillol-Salom A, Alsaadi A, Sousa JAMd, Zhong L, Foster KR, Rocha EPC, et al. (2019). Bacteriophages benefit from generalized transduction. PLoS Pathog 15(7): e1007888. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007888>

Harmesa. 2020. Teknik-Teknik Remediasi Sedimen Terkontaminasi Logam Berat. Oseana. 45(1): 1-16.

Hidayati., et al. 2013. Biosorpsi Logam Zn pada Limbah Sintetik Menggunakan Biomassa Campuran *Pseudomonas aeruginosa* dan *Pseudomonas sp.* Jurnal Litbang Industri. 3(2): 85-90.

Holmes RK, Jobling MG. Genetics. In: Baron S, editor. Medical Microbiology. 4th edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996. Chapter 5.

Irastortza-Olaziregi M and Amster-Choder O (2021) Coupled Transcription-Translation in Prokaryotes: An Old Couple With New Surprises. Front. Microbiol. 11:624830. doi: 10.3389/fmicb.2020.624830

Isa I, Retnowati Y. 2013. Laporan Tahunan Penelitian Fundamental: Pemanfaatan Berbagai Jenis Bakteri Dalam Proses Biobleaching Limbah Logam Berat. Gorontalo: Universitas Negeri Gorontalo. 15-17.

Kurniawan A, Ekowati N. 2016. Mikoremediasi Logam Berat. Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia; 3(1): 41.

Lodish, Harvey F. 2005. Molecular Biology of Cell. W. H. Freeman and Company

Lubis, SS. 2019. Bioremediasi Logam Berat Oleh Fungi Laut. AMINA. 1(2): 91-102.

Meenambigai, P., et al. 2016. Biodegradation of Heavy Metals-A Review. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences; 5(4):375-383.

Nurhayati, Dewi, and Didha A. Putri. "Bioakumulasi Logam Berat pada Kerang Hijau (*Perna viridis*) di Perairan Cirebon Berdasarkan Musim yang Berbeda." Jurnal Akuatika Indonesia, vol. 4, no. 1, 2019, pp. 6-10, doi:10.24198/jaki.v4i1.23484.

Primaharinastiti, R., A. T. Poernomo dan N. S. Noor. 2004. Bioakumulasi Logam Berat Cu oleh *Bacillus sp.*. Berkas Penelitian Hayati, 10: 19-23.

Raina M, Ibba M. tRNAs as regulators of biological processes. *Front Genet.* 2014;5:171.

Suryani, Y. 2011. Bioremediasi Limbah Merkuri dengan Menggunakan Mikroba pada Lingkungan yang Tercemar. *Jurnal ISTEK.* 5(1-2): 139-148.

Van Lint S, Heirman C, Thielemans K, Breckpot K. mRNA: From a chemical blueprint for protein production to an off-the-shelf therapeutic. *Hum Vaccin Immunother.* 2013 Feb;9(2):265-74.

Watford S, Warrington SJ. Bacterial DNA Mutations. [Updated 2023 Apr 10]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459274/>

GLOSARIUM

Alel	: Gen-gen yang terletak pada lokus yang bersesuaian pada kromosom homolog.
Asam nukleat	: komponen genetic penting yang berisi kode-kode penentu sifat makhluk hidup.
Bakteriophage	: adalah agen infeksi yang bereplikasi sebagai parasit intraseluler obligat pada bakteri.
Denaturasi DNA	: suatu proses pemanasan DNA dengan penambahan senyawa alkali kuat yang menyebabkan ikatan hidrogen pada DNA labil dan terputus.
Denaturasi	: pemutusan ikatan hidrogen yang menyebabkan pemisahan dua untai.
DNA	: ini singkatan dari asam deoksiribonukleat yang merupakan materi genetik yang berperan dalam membawa sifat yang diturunkan kepada generasi selanjutnya.
DNA	: suatu asam nukleat yang berisi informasi biologis unik dari setiap makhluk hidup dan beberapa virus
Faktor F	: merupakan sebuah plasmid konjugatif yang dipindahkan dari sel satu ke sel yang lain secara konjugasi.

- Fenotip : suatu karakteristik (baik struktural, biokimiawi, fisiologis, dan perilaku) yang dapat diamati dari suatu organisme yang diatur oleh genotipe
- Gen : unit- unit pewarisan sifat yang menentukan sifat suatu organisme yang di turunkan dari induk pada keturunannya.
- Genetika : Cabang ilmu biologi yang mempelajari pewarisan sifat dari induk pada keturunannya.
- Genotip : istilah yang dipakai untuk menyatakan keadaan genetik dari suatu individu atau sekumpulan individu populasi.
- Gonosom : Kromosom yang menentukan jenis kelamin individu hewan.
- Hereditas : Pewarisan sifat dari induk pada keturunannya.
- Heterozigot : merupakan individu yang kromosom-kromosomnya memiliki gen-gen berlainan dari sepasang atau suatu seri alel tertentu.
- High frequency of recombination (Hfr): Sel dengan plasmid F yang terintegrasi ke dalam kromosom bakteri.

Homozigot	:merupakan individu yang kromosom-kromosomnya memiliki gen-gen identik dari sepasang atau suatu seri alel.
Integron	: akusisi sistem gen multifungsi yang umumnya ditemukan pada bakteri dan berperan dalam sifat resisten bakteri
Karotipe individu disebut	: Tampilan visual kromosom setiap
Kinetokor	: bagian kromosom yang yang merupakan tempat perlekatan benang spindel selama pembelahan inti dan merupakan tempat melekatnya kromosom.
Kodon	:Suatu kelompok nukleotida yang memperinci suatu asam amino.
Konjugasi	: proses tranfer materi genetik yang melibatkan plasmid yang berpindah dari sebuah sel bakteri F+ ke dalam sel bakteri F-
Konjugasi	: peristiwa transfer bahan genetik (yaitu plasmid F+ pada bakteri dan mikronukleus pada Protozoa) dari satu individu kepada individu lainnya
Kromatid	: salah satu dari dua lengan hasil replikasi kromosom. Kromatid masih melekat satu sama lain pada bagian sentromer.
Kromomer	: penebalan-penebalan pada kromonema.

Kromosom	: merupakan benda- benda yang halus berbentuk lurus seperti batang atau bengkok yang berada di dalam nukleus.
Kromosom homolog	: Kromosom yang berpasangan tersebut mempunyai panjang yang sama , bentuknya sama dan sentromer yang berlekatan
Lagging strand	: untaian DNA yang terletak pada sisi yang berseberangan dengan leading strand pada garpu replikasi.
leading strand	: untaian DNA yang disintesis dengan arah 5'→3' secara berkesinambungan.
Locus	: Tempat kedudukan gen.
m-RNA	: mRNA ditranskripsi dari DNA dan berisi cetak biru genetik untuk membuat protein
Mutasi	: perubahan materi genetik suatu sel yang diwariskan kepada keturunannya
Nukleosida	: Ikatan antara gula pentosa dan basa nitrogen.
Nukleotida	: senyawa organik yang terdiri dari sebuah nukleosida dan sebuah gugus fosfat
Nukleotida	: ikatan yang terdiri dari pospat, gula pentosa dan basa nitrogen.

Operon	: Gen bakteri dengan fungsi yang sama sering kali berbagi satu promotor (tempat pengikatan RNA polimerase) dan ditranskripsi secara bersamaan
Pirimidin	: suatu <u>senyawa organik heterosiklik aromatik</u> yang berbetuk cincin aromatik sederhana.
Plasmid	: materi genetik di luar kromosom (ekstra kromosomal).
Proofreading	: pengoreksian untuk memastikan ketepatan dalam replikasi DNA
Protein	: polimer yang mengandung rantai asam amino yang terikat secara kimiawi oleh ikatan amida (peptida).
Purin	: senyawa organik larut air yang merupakan heterosiklik dinamik yang terdiri dari gabungan 2 cincin ikatan.
Renaturasi	: Konversi protein atau asam nukleat yang terdenaturasi ke konfigurasi aslinya
Replikasi	: Proses biologi dalam menghasilkan 2 kopi identik DNA yang berasal dari 1 molekul DNA.
RNA Polimerase	: suatu enzim yang membantu mempercepat proses pembentukan RNA.
r-RNA	: rRNA membentuk ribosom, yang sangat penting dalam sintesis protein

Satelit	: bagian kromosom yang berbentuk bulatan dan terletak di ujung lengan kromatid.
Sel	: unit fungsional terkecil yang menyusun tubuh organisme.
Seleksi	: Pemilihan
Sentromer	: daerah konstiksi (lekukan primer) di sekitar pertengahan kromosom.
Telomer	: istilah yang menunjukkan daerah terujung pada kromosom.
Transduksi	: pemindahan sebagian materi genetik dari sel bakteri satu ke bakteri lain dengan perantaraan virus.
Transformasi	: reproduksi seksual dengan cara pemindahan DNA dari satu bakteri ke bakteri lainnya secara langsung tanpa penghubung.
Transposon	: segmen DNA yang dapat berpindah dari satu situs dalam molekul DNA ke situs target lain dalam molekul DNA yang sama atau berbeda.
t-RNA	: molekul RNA yang menerjemahkan mRNA menjadi protein.
Variasi	: sifat bawaan yang berbeda yang diturunkan dari orang tua kita antara keturunannya yang lain.

INDEKS

A

Asam nukleat · 12

B

Bakteriofag · 6, 40

D

Denaturasi · 5, 21, 23

Denaturasi DNA · 21

DNA · 5, 6, 7, 14, 15, 16, 17, 18, 19,
20, 21, 22, 23, 24, 26, 27, 28, 31,
32, 34, 35, 37, 40, 41, 42, 44, 45,
48, 49, 50, 51, 54, 58, 59, 60, 61,
62, 63, 64, 65, 66, 67, 69, 70, 72,
73, 74, 76, 77, 79, 80, 81, 82, 83,
86, 87, 88, 89, 96, 99, 121

F

Faktor F · 39, 40

Fenotip · 6, 62

G

Gen · 32, 44, 50, 67, 82, 90, 97

Genetika · 3, 8, 9, 11

H

High frequency of recombination
(Hfr) · 39

K

Kodon · 83

Konjugasi · 6, 7, 60, 62, 64, 69

Kromosom · 31, 33

L

Lagging strand · 63

leading strand · 27, 49, 63

M

Mutasi · 6, 45, 47, 48, 49, 51, 52, 54,
55, 95

O

Operon · 7, 44, 85, 90, 94, 98

P

Plasmid · 6, 34, 35, 36, 38, 63, 65, 68

Proofreading · 5, 28

Protein · 5, 6, 13, 40, 89, 96, 97, 110

R

Renaturasi · 5, 21, 22

Replikasi · 5, 26, 27, 33, 44, 61

r-RNA · 5

S

Sel · 12, 39, 62, 63, 67, 74, 102

T

Transduksi · 6, 7, 61, 72, 73, 74, 75,
97

Transformasi · 6, 7, 58, 59, 60, 61, 69,
70, 72

Transposon · 6, 77, 79, 80

t-RNA · 5

PROFIL PENULIS

Juliyatin Putri Utami., S.Si., M. Biomed merupakan anak pertama dari tiga bersaudara yang lahir di Pamekasan pada 27 Juli 1990. Penulis menyelesaikan pendidikan sarjana di jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Malang dan melanjutkan studi magister pada Program Studi Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Sejak kuliah penulis aktif mengikuti lomba karya tulis dan konferensi tingkat internasional. Pada tahun 2019, penulis memulai karir sebagai dosen PNS di Program Studi Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Lambung Mangkurat. Penulis aktif mengajar beberapa mata kuliah seperti genetika bakteri, genetika II, resistensi bakteri terhadap logam, embriologi, dan mata kuliah lainnya. Selain aktif mengajar, melakukan penelitian merupakan aktivitas rutin yang penulis lakukan. Pada tahun 2021, penulis mendapatkan hibah nasional Riset Keilmuan dari LPDP RI. Penulis telah menghasilkan 8 artikel yang dipublikasikan pada internasional bereputasi.

SINOPSIS

Materi genetik harus bereplikasi secara akurat sehingga keturunan dapat mewarisi semua determinan genetik spesifik (genotipe) dari organisme induk. Ekspresi materi genetik spesifik di bawah serangkaian kondisi pertumbuhan tertentu menentukan karakteristik yang dapat diamati (fenotipe) organisme. Hal ini tidak hanya berlaku pada organisme tingkat tinggi, akan tetapi juga pada mikroorganisme seperti bakteri. Bakteri memiliki beberapa fitur struktural atau perkembangan yang dapat diamati dengan mudah, bakteri juga memiliki beragam kemampuan biokimia dan pola kerentanan terhadap kondisi lingkungan yang menarik untuk dipelajari. Segala jenis komponen materi genetik, macam transportasi genetik, mekanisme regulasi genetik dan bentuk adaptasi bakteri terhadap kondisi lingkungannya akan dibahas lebih dalam dalam tiap bab bahasan dalam buku ini.

GENETIKA BAKTERI

Materi genetik harus bereplikasi secara akurat sehingga keturunan dapat mewarisi semua determinan genetik spesifik (genotipe) dari organisme induk. Ekspresi materi genetik spesifik di bawah serangkaian kondisi pertumbuhan tertentu menentukan karakteristik yang dapat diamati (fenotipe) organisme. Hal ini tidak hanya berlaku pada organisme tingkat tinggi, akan tetapi juga pada mikroorganisme seperti bakteri. Bakteri memiliki beberapa fitur struktural atau perkembangan yang dapat diamati dengan mudah, bakteri juga memiliki beragam kemampuan biokimia dan pola kerentanan terhadap kondisi lingkungan yang menarik untuk dipelajari. Segala jenis komponen materi genetik, macam transportasi genetik, mekanisme regulasi genetik dan bentuk adaptasi bakteri terhadap kondisinya akan dibahas lebih dalam dalam tiap bab bahasan dalam buku ini.



Jl. Hasan Basri, Kayutangi, Banjarmasin 70123

Telp/Fax. 0511-3305195

ANGGOTA APPTI (004.035.1.03.2018)