**BAB IV**

**REPRODUKSI MATERI GENETIK:**

**REPLIKASI MATERI GENETIK**

**Pengantar**

Materi genetik merupakan komponen yang sangat penting pada saat terjadinya reproduksi sel baik reproduksi sel somatik maupun reproduksi sel kelamin. Dengan adanya materi genetik yang diturunkan pada saat terjadinya reproduksi sel maka kelestarian suatu jenis dapat dipertahankan. Karenanya dalam reproduksi sel, yang pertama dilakukan adalah memperbanyak informasi genetik atau reproduksi materi genetic melalui replikasi.

Bab 4 membahas reproduksi materi genetik replikasi secara runut dan komprehensif meliputi: reproduksi sel pada kelompok seluler prokariotik, eukariotik dan kelompok aseluler. Replikasi materi genetik DNA pada kelompok eukariotik dan prokariotik secara semikonservatif. Replikasi materi genetik DNA untai tunggal pada virus ΦX174 yang menginfeksi *E. coli* yakni *rolling circle replication.* Replikasi materi genetik berupa RNA ada dua macam yakni pada virus dan retrovirus. Replikasi materi genetik RNA virus adalah replikasi RNA menjadi RNA. Replikasi materi genetik pada retrovirus yakni *reverse transcription.*

Hasil penelitian Nusantari (2012) mengemukakan terkait kesalahan konsep replikasi materi genetik, maka perlu memperhatikan tiga konsep penting terkait replikasi yakni replikasi adalah penggandaan DNA baik unting ganda maupun tunggal, replikasi tidak hanya menggandakan DNA tetapi juga menggandakan RNA dan waktu replikasi pada eukariotik yang berbiak secara seksual bukan saat menjelang pembelahan sel tetapi terjadi saat fase interfase.

Replikasi tiap bahan genetik memiliki kekhasan sesuai jenis materi gene-tik. Pada kelompok makhluk hidup eukariotik dan prokariotik materi genetik berupa DNA. Sedangkan materi genetik pada kelompok aseluler virus berupa DNA dan RNA, kelompok aseluler retrovirus berupa RNA. Sehubungan dengan perbedaan materi genetik yang dimiliki maka mekanisme reproduksi materi genetik yang terjadi juga berbeda.

1. **Tiga Konsep Penting tentang Replikasi**

Corebima (2012) menegaskan tiga konsep penting terkait replikasi yang perlu direvisi adalah **konsep penting pertama**, selama ini definisi replikasi dinyatakan sebagai penggandaan unting ganda DNA. Saat ini telah diketahui bahwa bahan genetika makhluk hidup diketahui berupa DNA unting ganda dan DNA unting tunggal. Sebagaimana dinyatakan oleh Gardner dkk., 1991 bahwa contoh replikasi pada virus ΦX174 adalah DNA unting tunggal pada proses yang disebut *Rolling Circle Replication*. Proses *rolling circle* bukan hanya pada virus ΦX174 tetapi terjadi pada semua virus yang memiliki materi genetik berupa DNA tunggal. Sehingga konsep replikasi yang perlu diperbaiki adalah replikasi merupakan penggandaan DNA unting tunggal dan DNA unting ganda.

**Konsep penting kedua** terkait replikasi (Corebima,2012) bahwa selama ini dinyatakan replikasi adalah penggandaan DNA menjadi DNA. Ternyata saat ini telah diketahui bahwa replikasi terjadi pada makhluk hidup yang memiliki materi genetik DNA dan makhluk hidup yang memiliki materi genetik RNA. Makhluk hidup yang memiliki DNA mereplikasi DNA (genom induk) menjadi DNA (genom turunan). Makhluk hidup yang memiliki materi genetik RNA adalah beberapa virus dan retrovirus. Replikasi virus RNA dilakukan melalui replikasi RNA langsung menjadi RNA. Replikasi materi genetik RNA menjadi RNA contohnya adalah virus daun tembakau (TMV). Replikasi pada retrovirus dilakukan melalui *reverse transcription.* Pada *reverse transcription,* RNA genom induk diubah terlebih dahulu menjadi DNA tanpa intron disebut cDNA atau *compelementer* DNA, kemudian melalui proses lanjutan cDNA menjadi RNA genom turunan.

Fenomena replikasi RNA menunjukkan bahwa model *central dogma* aliran informasi genetis perlu disesuaikan atau dimodifikasi yang lebih jelasnya akan dibicarakan pada bahasan tersendiri tentang ekspresi kerja gen.

**Konsep penting ketiga** berkenaan dengan waktu reproduksi materi genetik adalah replikasi DNA pada kelompok eukariotik yang berbiak secara seksual terjadi pada fase S dalam siklus sel baik mitosis maupun meiosis. Reproduksi materi genetik pada kelompok prokariotik dilakukan sebelum pembelahan sel. Reproduksi materi genetik pada kelompok aseluler virus dan retrovirus terjadi setiap kali menginfeksi sel inangnya.

1. **Replikasi DNA Double Heliks pada Prokariotik dan Eukariotik**
2. **Replikasi Terjadi Secara Semikonservatif**

Reproduksi materi genetik seperti DNA dilakukan melalui suatu proses yang disebut replikasi. Melalui replikasi suatu DNA dapat membentuk dirinya, menghasilkan untai DNA baru yang sama dengan dirinya. Replikasi hanya terjadi pada asam nukleat, DNA atau RNA penyusun genom (set kromosom). Fungsi DNA sebagai materi genetik mampu menyimpan informasi genetik dan dengan tepat dapat meneruskan informasi tersebut kepada keturunannya, dari generasi ke generasi. Fungsi ini merupakan fungsi genotipik yang dilaksanakan melalui replikasi.

Proses reproduksi materi genetik pada sel eukariotik adalah proses repli-kasi DNA. Secara teoritis terdapat tiga hipothesis tentang replikasi DNA, yaitu konservatif, semikonservatif, dan dispersif. Bagan 2 memperlihatkan 3 hipotesis proses replikasi.



Bagan 4.1 Hipotesis Replikasi DNA

(Sumber: Replication.pdf.Adobe Reader, 2011)

Pada replikasi konservatif seluruh tangga berpilin DNA awal tetap diperta-hankan dan akan mengarahkan pembentukan tangga berpilin baru. Pada replikasi semikonservatif tangga berpilin mengalami pembukaan terlebih dahulu sehingga kedua untai polinukleotida akan saling terpisah. Masing-masing untai tetap diper-tahankan dan akan bertindak sebagai cetakan (template) bagi pembentukan untai polinukleotida baru. Sedangkan, pada replikasi dispersif kedua untai polinukleo-tida mengalami fragmentasi di sejumlah tempat. Kemudian, fragmen-fragmen polinukleotida yang terbentuk akan menjadi cetakan bagi fragmen nukleotida baru sehingga fragmen lama dan baru akan dijumpai berselang-seling di dalam tangga berpilin yang baru. Dari ketiga hipotesis tersebut berdasarkan percobaan yang dilakukan pada tahun 1958 oleh M.S. Meselson dan F.W. Stahl dapat dibuktikan bahwa replikasi semi konservatif yang dapat diterima kebenarannya (Campbell, 2002).



Gambar 4.2 Replikasi Terbukti Berlangsung Secara Semikonservatif (Sumber: Replication.pdf.Adobe Reader, 2011)

Pada tahun 1958 oleh M.S. Meselson dan F.W. Stahl berhasil menunjuk-kan secara empirik bahwa replikasi DNA berlangsung dengan mekanisme secara semikonservatif mengunakan percobaan yang disebut *density transfer experi-ments*. Pertama *E.coli* ditumbuhkan dalam medium yang mengandung nitrogen “berat”, yakni isotop 15N selama beberapa generasi. Efeknya, basa-basa nitrogen pada molekul DNA akan terlabel isotop berat. Setelah itu, bakteri ditumbuhkan kembali pada medium yang mengandung 14N (nitrogen ringan). Pada waktu ter-tentu setelah sel dipanen dan DNAnya diisolasi. Isolat DNA kemudian disentri-fugasi dengan ultrasentrifugasi gradien CsCl (prosedur *equilibrium density-gradient centrifugation*) untuk menentukan densitas molekul DNAnya. Hasil pengukuran memperlihatkan pada generasi pertama semua DNA memiliki densitas molekul hibrid, yaitu densitas yang dihasilkan gabungan molekul DNA yang mengandung 14N dan 15N, sedangkan pada generasi selanjutnya, densitas molekul DNA terdiri dari kelompok DNA dengan densitas molekul hibrid dan kelompok DNA dengan densitas yang lebih rendah dari molekul hibrid. Kelompok kedua ini terdiri dari molekul DNA yang mengandung 14N. Hal ini membuktikan terjadinya replikasi DNA secara semikonservatif.

Berdasarkan atas eksperimen seperti yang telah dijelaskan di atas, dapat diambil kesimpulkan bahwa replikasi DNA berlangsung dengan model semikonservatif (Khusus untuk mahluk hidup eukariotik dan prokariotik). Meskipun demikian, tidak semua mahluk hidup melakukan replikasi dengan model semikonservatif seperti yang dilakukan oleh mahluk hidup eukariotik, karena ada beberapa mahluk hidup seperti virus ΦX174 yang melakukan replikasi dengan model konservatif, karena virus ini memiliki genom DNA dengan untai tunggal, meskipun hanya pada tahapan tertentu dari proses replikasinya (Yuwono, 2005 hlm. 96)

1. **Waktu dan Tempat Replikasi**

Waktu replikasi pada makhluk hidup prokariotik berlangsung selama teng-gang waktu antara satu pembelahan sel dengan pembelahan sel berikutnya. Gardner (1991) mengemukakan bahwa” … *DNA synthesis occurs from time to time a new cell is formed by cell fission until the time that cell divides again*”.

Replikasi pada makhluk hidup eukariotik berlangsung selama interfase dari siklus sel, yaitu pada periode S (selang waktu antara G1 dan G2). Sedangkan waktu replikasi pada makhluk hidup aseluler, berdasarkan buku-buku acuan yang ada belum ada informasi tentang waktu replikasi, Demikian pula tidak ada informasi waktu replikasi pada organel-organel makhluk hidup eukariotik, yang saat ini sudah diketahui memiliki DNA.

Tempat replikasi. Makhluk hidup prokariotik, replikasi DNA berlangsung di dalam sitoplasma. Pada makhluk hidup eukariotik, replikasi DNA berlangsung di dalam inti sel serta didalam organel-organel yang telah diketahui memiliki DNA. Pada mitokondria, replikasi berlangsung di dalam matriks mitokondria. Pada makhluk hidup aseluler, replikasi DNA berlangsung di dalam sitoplasma makhluk hidup seluler yang diinfektir.

1. **Komponen-komponen Penting dalam Replikasi DNA dan RNA**

Komponen utama yang diperlukan pada saat proses replikasi materi genetik baik DNA dan RNA antara lain:

1. Cetakan (template), yaitu molekul DNA atau RNA yang akan direplikasi.
2. Molekul deoksiribonukleotida yaitu dATP, dTTP, dCTP, dan dGTP. Deoksi-ribonukleotida terdiri tiga komponen yaitu: basa purin atau pirimidin, gula deoksiribosa, dan gugus phosfat.
3. Enzim DNA polymerase, yaitu enzim yang mengkatalisis proses polimerisasi nuleotida menjadi untaian DNA. Pada *E. coli* ada 3 macam enzim polymerase yaitu DNA polimerae I, DNA polymerase II, dan DNA polymerase III. Pada organisme eukariotik terdapat lima macam DNA polymerase yaitu DNA poly-merase α, DNA polymerase δ, DNA polymerase ε, DNA polymerase β, dan DNA polymerase γ.
4. Enzim primase, yaitu enzim pengkatalisis primer untuk memulai replikasi DNA. Pada *E.coli* enzim ini disebut primosom yang terdiri atas beberapa ma-cam protein.
5. Enzim pembuka ikatan DNA induk yaitu enzim helikase dan enzim lain yang membantu proses tersebut yaitu enzim girase.
6. Molekul protein yang menstabilkan untaian DNA yang sudah terbuka, yaitu protein SSB (single strand binding protein)
7. Enzim DNA ligase, yaitu suatu enzim yang berfungsi untuk menyambung fragmen-fragmen DNA.

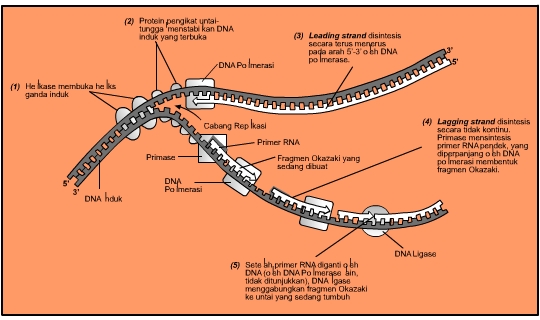
Enzim-enzim yang berperan dalam Replikasi RNA (Yuwono, 2005) antara lain:

1. Enzim RNA-direct RNA Polymerase atau sering disebut enzim replikase adalah enzim yang bekerja dalam proses replikasi dari kategori virus yang memiliki RNA sebagai genomnya, contohnya virus *Tobacco Mosaik Virus* TMV. Enzim ini berfungsi untuk mensintesis RNA tipe negative dari RNA virus induk, fungsi dari RNA negative berfungsi untuk menjadi template atau cetakan bagi untai RNA postif baru yang identik dengan RNA virus induk yang pertama kali diinfeksikan ke sel inang.
2. Enzim RNA-direct DNA polymerase atau disebut juga reserve transcriptase (transcriptase balik) adalah enzim yang bekerja pada proses replikasi retrovirus, misalnya HIV. Fungsi dari enzim ini adalah untuk mensintesis cDNA dengan menggunakan genom retrovirus yang berupa RNA sebagai cetakannya.
3. Enzim integrase adalah enzim yang bekerja dalam proses penyatuan atau mengintegrasikan cDNA dari retrovirus ke dalam DNA sel inang.
4. **Proses Replikasi DNA Terjadi Secara Bidireksional dan Selalu dalam Arah 5’—3’.**

Secara umum rumus reaksi replikasi DNA (Ayala, 1984) adalah:

(dNp)ndN OH + dNTP ---- (dNp)n+1dN OH + P-P

Replikasi pada prokariot dan eukariot terjadi secara bidirectional yakni 2 arah, dan selalu dengan arah 5’--3’. Replikasi bidireksional artinya replikasi berlangsung dalam dua arah yang berlawanan (***bidirectional replication***). Dengan cara ini akan terbentuk garpu replikasi yang bergerak ke arah berlawanan. (Gambar 4.3).



Bagan 4. 3 Garpu Replikasi (Sumber: Campbell, 1999)

Bagian DNA yang membuka dari ORI semakin lama semakin besar membentuk struktur serupa gelembung yang disebut gelembung replikasi (***replication bubble***) hingga tercapai suatu ujung (terminal). Lihat Bagan 4.4.



Bagan 4.4 The Origin of Bidirectional Replication

(Sumber: Replication.pdf.Adobe Reader, 2011)

Pada sel eukariot terdapat ratusan bahkan ribuan ORI sepanjang molekul DNA raksasa pada setiap kromosomnya. ORI terentang secara lateral sementara replikasi DNA bergerak ke dua arah. Pada akhirnya gelembung replikasi (ORI) akan menyatu (tengah) dan sintesis untai DNA anakpun selesai (bawah).

Polymerisasi nukleotida pada replikasi DNA (untuk seluruh makhluk hidup, berlangsung selalu dalam arah 5’---3’ artinya penambahan gugus nukleotida baru, berlangsung pada gugus –OH dari karbon 3 gula deoksiribosa. Penambahan selalu pada ujung 5’ ke ujung 3’ gula deoksiribosa dan tidak bisa sebaliknya sehingga arah selalu 5’—3’ Dengan arah 5’—3’ maka terbentuklah untai DNA yang terus menerus (*leading strand*). Satu unting pasangannya akan mengalami replikasi dengan arah yang sama 5’—3’, akibatnya untai DNA yang dihasilkan terputus putus atau *lagging strand* (Gardner dkk., 1991).

Deskripsi replikasi DNA pada prokariot dijelaskan yang terjadi pada *E. coli*. Deskripsi replikasi *E. coli* ini dipandang mewakili proses replikasi yang terjadi pada makhluk hidup prokariotik. *E. coli* maupun makhluk hidup proka-riotik lainnya mempunyai DNA sirkuler yaitu DNA berbentuk cincin. Proses replikasi pada prokariot sama dengan yang terjadi pada eukariot dengan perbedaan terkait enzim yang berperan selama polimerisasi DNA dan enzim yang mengakhiri replikasi.

1. **Tahapan Replikasi**
2. **Pemisahan Untai DNA**

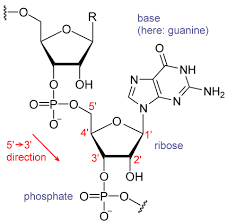
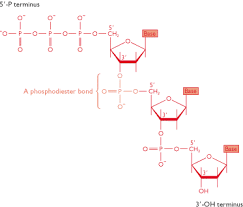
Pemisahan kedua untaian DNA induk yang akan direplikasi dilakukan oleh **DNA helikase**. Diketahui bahwa ada empat macam DNA helicase yang bekerja yaitu helicase *rep,* DNA helicase I, DNA helicase II dan Protein DnaB. Study penelitian menunjukkan bahwa enzim helicase yang bekerja dalam pemisahan untai DNA adalah protein DnaB. Proses ini ditandai oleh memisahnya kedua untai DNA, yang masing-masing akan berperan sebagai cetakan bagi pembentukan untai DNA baru. Enzim untuk membuka untaian dobel heliks adalah enzim yang disebut helikase dengan dibantu enzim lain gyrase. DNA girase tergolong enim topoisomerase, yakni enzim yang dapat mengubah topologi molekul DNA dengan cara memutuskan ikatan hidrogen pada salah satu atau kedua untai DNA sementara (transient). Untai DNA tunggal hasil pemisahan oleh helikase selanjutnya diselubungi oleh protein pengikat untai tunggal atau single-strand binding protein (SSB) untuk melindungi DNA untai tunggal dari kerusakan fisik dan mencegah renaturasi.

1. **Inisiasi Replikasi DNA**

Replikasi DNA bermula dari satu titik awal. Sebelum terjadinya polymeri-sasi yang bermula dari suatu tempat tertentu di dalam molekul DNA yang dinamakan titik awal replikasi atau *origin of replication* (ORI). Pada sel eukariot terdapat ratusan bahkan ribuan ORI sepanjang molekul DNA raksasa pada setiap kromosomnya. ORI terentang secara lateral sementara replikasi DNA bergerak ke dua arah. Pada akhirnya gelembung replikasi (ORI) akan menyatu (tengah) dan sintesis untai DNA anakpun selesai (bawah). **Perhatikan!** Replikasi berlangsung bukan setelah 2 untai DNA terpisah atau saling lepas. Replikasi berlangsung pada banyak tempat membentuk gelembung replikasi.

1. **Proses Pemanjangan (Polimerisasi) Molekul DNA**

Polymerisasi nukleotida pada replikasi DNA (untuk seluruh makhluk hidup, selalu berlangsung dalam arah 5’---3’ atau artinya penambahan gugus nukleotida baru, berlangsung pada gugus –OH dari karbon 3 gula deoksiribosa.

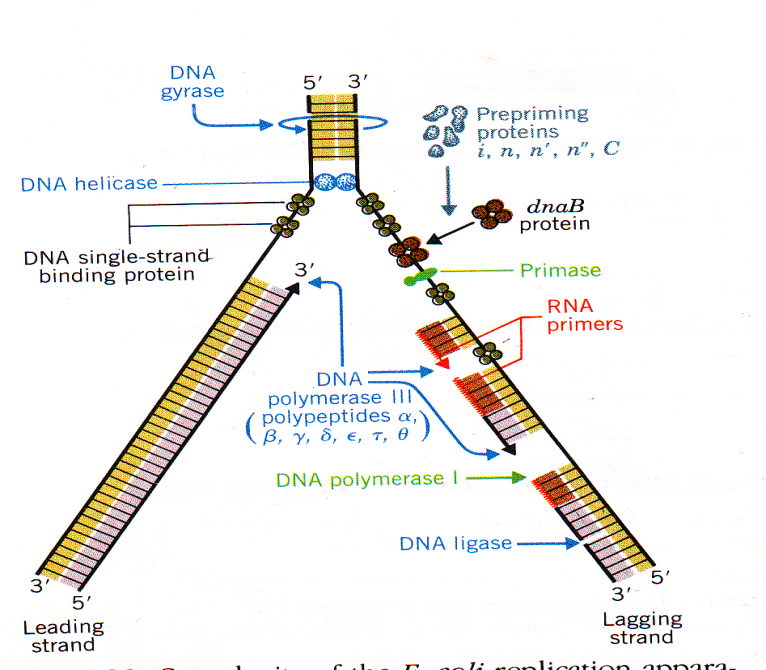
 

Gambar 4.5 Penambahan Nukleotida baru berlangsung pada gugus OH dari karbon 3 gula deoksiribosa (Sumber: Marwanard.blogspot.co.id/2011/11.html, 2011)

Pemanjangan untai DNA dimulai jika tersedia molekul primer. Dalam proses replikasi DNA *in vivo*, primer berupa molekul RNA yang berukuran 10-12 nukleotida. Fungsi primer adalah menyediakan ujung 3’-OH yang akan digunakan untuk menempelkan molekul DNA pertama dalam proses polimerisasi.

Pemanjangan untai DNA dilakukan dari ujung primer. Pada prokariota, proses polimerisasi untai DNA baru dikatalisis oleh enzim **DNA polimerase III**. Sedangkan pada eukariota dilakukan oleh **DNA polimerase α** (untaian DNA lambat/fragmen Okazaki) dan **DNA polimerase δ** (untaian DNA awal). Bahan baku sintesis DNA ini adalah deoksiribonukleotida. RNA primer selanjutnya akan didegradasi oleh aktivitas eksonuklease 5’🡪3’ yang ada pada **DNA polimerase I**. Bagian RNA yang terdegradasi selanjutnya digantikan dengan molekul DNA oleh aktivitas polimerase 5’🡪3’ yang dimiliki DNA polimerase I.

Adanya 2 untai DNA yang orientasinya berlawanan, maka terdapat 2 macam sintesis DNA. Pertama sintesis kontinyu (sintesis DNA baru yang searah dengan pembukaan garpu replikasi) atau disebut ***leading strand***, dan sintesis diskontinu (sintesis DNA baru yang berlawanan arah dengan arah pembukaan garpu replikasi) atau disebut ***lagging strand***.



Gambar 4.6 Sintesis DNA Berjalan Secara Kontinyu (*leading strand*) dan

Tidak Kontinyu (*lagging strand)* (Sumber: Gardner, dkk., 1991)

Sintesis DNA pada untai yang tidak berjalan kontinyu menghasilkan fragmen terputus-putus, yang masing-masing mempunyai arah 5’→ 3’. Terjadinya sintesis DNA yang tidak kontinyu sebenarnya disebabkan oleh sifat enzim DNA polimerase yang hanya dapat mensintesis DNA dari arah 5’ ke 3’. Fragmen-fragmen DNA yang dihasilkan dari sintesis yang tidak kontinyu dinamakan fragmen Okazaki, sesuai dengan nama penemunya. Fragmen-fragmen Okazaki akan disatukan menjadi sebuah untai DNA yang utuh dengan bantuan enzim DNA ligase.

1. **Ligasi Fragmen-fragmen DNA**

Pada untaian DNA yang telah mengalami penggantian primer RNA dengan DNA, masih terdapat celah, yakni celah antara 1 primer pada suatu fragmen pendek, dengan fragmen pendek berikutnya. Celah-celah antara fragmen DNA yang terbentuk dari proses penggantian RNA menjadi DNA, disambungkan oleh **DNA ligase**.

1. **Terminasi Sintesis DNA**

Proses replikasi DNA diakhiri dengan terminasi replikasi. Titik tempat pengakhiran replikasi disebut titik terminasi. Pada *E.coli* sisi terminal adalah suatu urutan basa DNA yang berikatan dengan suatu protein spesifik yang disebut protein Tus (Termininus Utilization Substance). Pada molekul DNA prokariot yang berbentuk lingkar, terminasi replikasi akan terjadi jika kedua garpu replikasi yang bergerak ke arah berbeda bertemu pada sisi terminasi. Ketika replikasi selesai, kedua lingkaran hasil replikasi masih menyatu. Pemisahan dilakukan oleh enzim topoisomerase IV. Masing-masing lingkaran hasil replikasi kemudian disegregasikan ke dalam kedua sel hasil pembelahan.

Terminasi pada eukariot, keadaannya berbeda karena molekul DNAnya linear. Masalahnya muncul pada ujung kromosom (telomer). Jika primer yang terletak di ujung kromosom didegradasi, maka tidak dapat dilakukan pengisian bagian kosong bekas tempat penempelan primer (RNA) karena sintesis DNA tidak dapat berlangsung dengan arah 3’🡪 5’. Molekul-molekul DNA kromosomal eukariot memiliki urutan nukleotida khusus yang disebut telomer pada ujung-ujungnya. Telomer tidak mengandung gen, sebaliknya DNA nya terdiri dari banyak pengulangan (100-1000) urutan nukleotida pendek. Blackburn dkk, menunjukkan replikasi telomer eukariot dilakukan dengan menggunakan aktivitas enzim telomerase. Telomerase adalah enzim khusus yang mengkatalisis pemanjangan telomer. RNA bertindak sebagai cetakan bagi telomerase untuk memperpanjang ujung telomer pada ujung 3’.

Diketahui bahwa telomere jasad eukariotik tersusun atas urutan nukleotida spesifik yang berbeda antara organisme yang satu dengan organisme yang lain. Contohnya pada manusia sekuensnya adalah TTAGGG/AATCCC. Spesifitas telomere tersbut ditentukan oleh telomerase dan suatu molekul RNA kecil yang ada pada kompleks telomerase. Molekul RNA tersebut digunakan untuk sintesis telomere baru. Telomerase akan menambahkan banyak sekuens spesifik seperti di atas pada ujung kromosom sehingga sekuens tersebut dapat digunakan sebagai primer dalam sintesis telomere. Dengan cara ini kromosom tidak akan memendek (Yuwono, 2005).

1. **Replikasi DNA Untai Tunggal (*Rolling Circle Replication*) pada Aseluler Virus DNA Untai Tunggal**

Mekanisme replikasi yang telah dijelaskan sebelumnya adalah mekanisme pada molekul DNA beruntai ganda. Pada kenyataannya di alam terdapat organisme yang mempunyai DNA untai tunggal yaitu kelompok virus tertentu, misalnya ΦX174. Virus ini adalah virus yang menginfeksi bakteri (Bakteriofage). Genom virus ini berupa DNA untai tunggal berbentuk lingkaran yang tersusun atas 5.386 nukleotida. Didalamnya terdapat gen yang saling tumpang tindih, misalnya Gen A\* terdapat dalam gen A, dan Gen E terdapat dalam gen D.

Pada saat virus ini menginfeksi *E. coli* DNA nya akan diinfeksikan dalam sel inang. Molekul yang diinjeksikan tersebut disimbulkan sebagai untai positif (+). Setelah sekitar 20-30 menit setelah DNA virus diinjeksikan ke dalam sel inang protein A\* yang di kode dalam genom virus disintesis dalam sel *E.coli.* Protein A\* tersebut akan menghambat sintesis DNA di dalam sel inang. Untaian (+) ini akan menjadi cetakan dalam proses replikasi DNA virus sehingga akan dihasilkan untaian komplemennya, yaitu untaian (-). Untaian negative tersebut selanjutnya akan menjadi cetakan untuk menghasilkan untaian (+). Secara umum, replikasi DNA ΦX174 melalui tiga tahapan seperti dapat dilihat pada gambar berikut.



Gambar 4.7 Mekanisme replikasi untaian DNA tunggal virus ΦX174 (Sumber: Yuwono, 2005)

**Langkah Replikasi secara Lengkap sesuai Yuwono (2005) adalah sebagai berikut.**

1. **Pembentukan Molekul Induk RF (D*uplex Replicative Form*)**

Virus menginfeksi *E. coli* dalam bentuk untaian (+) diinjeksikan ke dalam sel inang. Sintesis komplemen untai (-) diinisiasi dengan sintesis RNA primer pendek. Enzim primase kemudian melekat sehingga terbentuk primosom. Primosom kemudian bergerak ke arah 5’ →3’ membentuk RNA primer. Inisiasi pembentukan primer berlangsung secara acak. Dengan adanya primer maka DNA polymerase III yang ada pada sel inang akan melakukan pemanjangan dengan membentuk fragmen okazaki. Sintesis komplemen (-) ini berlangsung secara dis-kontinu. Eksisi (pengeluaran) primer RNA dan adanya gap yang terbentuk dikatalisis oleh DNA polimerase I yang sekaligus menghilangkan primer. DNA ligase kemudian mengkatalisis pembentukan jembatan kovalen antara ujung 3’-OH dan 5’-gugus PO4. Untai (+) dan (-) selanjutnya akan dililitkan satu sama lain oleh DNA girase sehingga terbentuk molekul RF dupleks.

1. **Pembentukan Turunan RF (Mekanisme Replikasi Lingkaran Berputar/ *Rolling Circle Replication*)**

Untai (+) induk RF dipotong pada tempat tertentu oleh aktivitas endo-nuklease spesifik pada DNA ΦX174, berupa gene A protein (gpA). gpA memotong induk RF hanya pada satu tempat tertentu (tidak dapat memotong bagian-bagian DNA lainnya). Aktivitas ini menghasilkan ujung 3’-OH dan 5’-PO4 pada untai (+) sedangkan untai negatif masih dalam bentuk lingkaran. Selama proses pemotongan tersebut, gpA melekat secara kovalen pada 5’-gugus PO4 di untai (+). Protein ini masih berikatan dengan ujung 5’ hingga untai (+) progeni selesai disintesis. Lingkaran untai (+) mengelilingi untai (-). Rotasi untai (+) terhadap untai (-) inilah yang disebut sebagai *rolling circle*.

Selanjutnya ujung 5’ untai (+) dilepaskan dari untai negatif. DNA polymerrase III kemudian menambahkan nukleotida-nukleotida pada ujung 3’–OH yang bebas ketika lingkaran untai (+) mengelilingi untai (-). Penambahan nukleotida baru menggunakan untaian (-) sebagai cetakan. gpA tetap berikatan dengan garpu replikasi saat mengelilingi untai (-).

Ketika satu untai positif baru telah selesai disintesis, gpA memotong origin (asal) untai (+) baru dan secara simultan meligasi ujung 3’ dan 5’ menyam-bung untaian DNA (+) yang terlepas dengan membentuk ikatan fosfodiester menghasilkan untai (+) induk yang melingkar. Selanjutnya ujung untaian DNA (+) induk akan terdesak, akhirnya lepas dan menggulung atau melingkar tertutup.

Selanjutnya pada untai (+) yang baru ini terjadi lagi pembentukan untai (-) atau pembentukan RF baru secara diskontinu. Fragmen Okazaki juga disintesis oleh RNA primer. Induk RF yang terlepas itu akan digunakan lagi sebagai cetakan untuk membentuk untaian DNA (-) seperti yang dilakukan pada tahap 1.

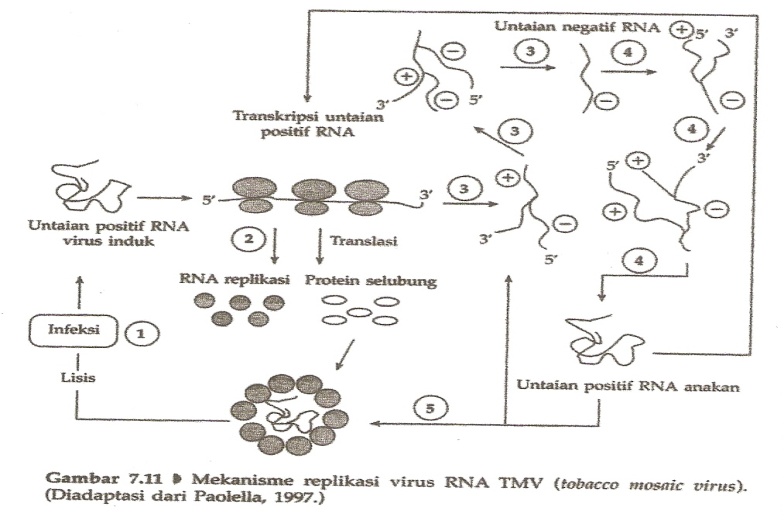
1. **Sintesis Untaian (+) (Untai Tunggal DNA) Kromosom Progeny: *RF Progeny* Menjadi Untai *Progeny***

Replikasi *rolling circle* progeny RF terjadi pada saat bersamaan dengan replikasi induk RF pada tahap 2, hanya bedanya adalah tidak dibentuk untai (-). Tahapan ini dilakukan untuk membentuk untaian (+) saja dengan menggunakan untaian (-) sebagai cetakan dengan mekanisme replikasi lingkaran berputar. Protein gpA yang masih melekat pada dupleks kembali memotong pada untaian DNA (+). Enzim DNA helikase selanjutnya terikat pada untaian DNA (-) pada daerah potongan tersebut. Bersama-sama dengan primosom dan protein SSB, helikase membuka DNA pada waktu primosom melakukan sintesis primer yang dimulai pada ujung 3’ untaian DNA (-). DNA polymerase III kemudian melakukan polimerisasi molekul primer. Untaian DNA (+) yang lama pada dupleks kemudian didesak keluar dengan mekanisme lingkaran berputar.

Secara simultan, protein selubung virus, yang dihasilkan dengan menggunakan system sintesis protein sel inang, dilekatkan pada molekul DNA yang terlepas tersebut sehingga untaian DNA (+) yang terlepas tersebut tidak dapat digunakan lagi sebagai cetakan untuk sintesis untaian DNA (1). Akhirnya protein gpA memotong untaian DNA yang terlepas tersebut pada titik awal replikasi. Kemu-dian dilakukan penutupan lingkaran DNA dengan membuat ikatan fosfodiester. Pada tahapan akhir ini ditambahkan lebih banyak lagi protein selubung pada untaian DNA (+) sehingga terbentuk partikel virus baru.

1. **Replikasi RNA ( RNA Membentuk RNA) pada Aseluler Virus RNA**

Beberapa virus hanya mempunyai materi genetik berupa genom RNA, misalnya virus yang menyerang tembakau (TMV). Genomnya berupa untai tunggal yang terdiri atas 6.390 nukleotida dalam struktur 4 gen. Replikasi RNA nya memerlukan suatu cetakan dan enzim RNA polymerase yang biasa disebut enzim replikase. Replikasi RNA virus selalu berorientasi dari 5’ ke 3’ sama seper-ti pada DNA dan dimulai pada ujung 3-OH molekul cetakan. Perbedaannya ada-lah pada system replikasi RNA tidak ada mekanisme perbaikan sehingga mempu-nyai laju mutasi yang tinggi .



Gambar 4.8 Mekanisme Replikasi Virus RNA TMV

(Sumber: Yuwono, 2005)

Tahap-tahapnya adalah sebagai berikut (Yuwono, 2005):

1. Terjadi infeksi sel inang (daun tembakau) oleh virus TMV
2. RNA virus masuk ke dalam sel inang selanjutnya ditranslasi yang meng-hasilkan enzim replikase dan protein selubung.RNA untai tunggal ini disebut untai (+).
3. Replikase mensintesis untaian komplemen (untaian (-)) dengan mengguna-kan untaian induk (untaian (+)) sebagai cetakan. Sintesis untaian baru dilaku-kan pada ujung 3’ (arah 5’→3’), tetapi tidak terbentuk molekul duplek (ganda)
4. Untai (-) baru digunakan oleh replikase sebagai cetakan untuk mensintesis untai (+) . Sintesis dimulai pada ujung 3’ untai (-) sehingga arah sintesis untai (+) adalah dar 5’→3’
5. Untai (+) yang baru terbentuk memiliki urutan nukleotida yang identik dengan induknya (RNA virus yang pertama kali menginfeksi inang).
6. Protein selubung mengenali bagian untai RNA (+) tertentu dan membentuk struktur yang disebut sebagai piringan protein. Pada waktu ujung 3’ RNA diperpanjang, piringan protein ditambahkan pada bagian RNA yang melipat. Semakin banyak piringan protein yang ditambahkan akan menarik ujung 5’ masuk dalam selubung, sehingga terbentuk partikel virus yang berupa susunan helix protein yang mengelilingi genom RNA.
7. **Replikasi pada Retrovirus (Transkripsi Balik)**

Virus lain yang genomnya berupa RNA adalah virus HIV penyebab AIDS. RNA berupa linear untai tunggal. Berbeda dengan virus TMV, RNA direplikasi menjadi RNA. Replikasi RNA pada virus HIV dilakukan dengan mengubah terlebih dahulu molekul RNA menjadi DNA oleh enzim polymerase yang dikendalikan oleh RNA yang dikenal dengan enzim transkriptase balik (reverse transcription). Kerja dari transcriptase balik ini berlawanan dengan dogma central yaitu DNA melakukan transkripsi membentuk RNA, tetapi pada replikasi trans-kripsi balik yang terjadi sebaliknya yaitu RNA dapat mentranskripsi DNA, deng-an menggunakan genom RNA sebagai cetakan.

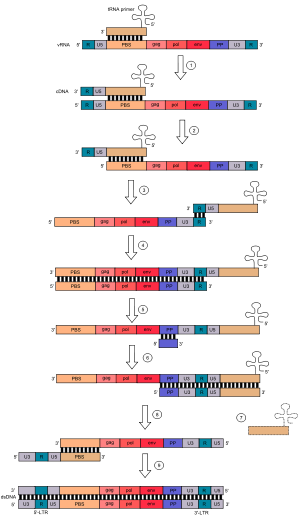
Proses transkripsi balik ini diteliti oleh Howard Temin tahun 1962 dan David Baltimore tahun 1970. Virus RNA yang dapat melakukan transkripsi balik ini disebut juga sebagai retrovirus. Virus ini dapat mentransformasi sel-sel normal pada manusia menjadi sel-sel ganas (sel kanker). Transkriptase kebalikan virus mengandung Zn2+ seperti pada polymerase DNA dan RNA. Enzim ini dapat membuat DNA yang komplementer dengan RNA virus tersebut. Mekanisme kerja dari proses transkripsi balik dapat dijelaskan pada langkah-langkah di bawah ini:

1. Suatu virus RNA menempel pada sel inang.
2. Enzim transcriptase balik virus mengkatalisis sintesis molekul DNA dengan menggunakan RNA sebagai cetakan. Molekul DNA yang terbentuk adalah DNA untai tunggal disebut komplementer DNA (cDNA). Rinciannya sebagai berikut.Rincian prosesnya sebagai berikut.
3. tRNA spesifik RNA retrovirus berperan sebagai primer dan berikatan dengan bagian yang komplemen pada genom retrovirus yang dinamakan *primer binding site* (PBS).
4. Terjadi pengkopian daerah U5 (daerah *non-coding*) dan daerah R (sekuens berulang yang terdapat pada kedua ujung RNA. RNA retrovirus membentuk DNA untai tunggal.
5. Enzim reverse transcriptase yang disebut dengan RNAse H mendegradasi ujung 5’ RNA dengan cara menghidrolisis ikatan fosfodiester RNA sehingga menghilangkan daerah U5 dan R.
6. Primer kemudian melompat menuju ujung 3’ genom retrovirus dan DNA yang telah disintesis berikatan dengan daerah R yang komplemen pada RNA.



Bagan 4.9. Aktivitas Transkripsi Balik (Sumber: Lehninger, 1982)

1. *cDNA* tunggal diubah membentuk untaian rangkap linear oleh enzim yang sama.
2. Terjadi pengkopian sepanjang untai RNA menuju ujung 5’ menghasilkan DNA untai tunggal. RNAse H mendegradasi hampir sebagian besar genom RNA dengan hanya menyisakan satu daerah yang disebut polipurin.
3. Pengkopian berlanjut dari polipurin menuju ujung 5’ untai DNA tunggal dengan menggunakan DNA untai tunggal tersebut sebagai template. RNAse H kemudian mendegradasi seluruh RNA retrovirus yang tersisa.
4. Terjadi lompatan kedua, PBS yang terbentuk pada untai kedua berikatan dengan PBS pada untai pertama.
5. Terjadi pemanjangan untai DNA membentuk DNA untai ganda.

[](http://en.wikipedia.org/wiki/File:Reverse_transcription.svg)

Gambar 4.10 Proses replikasi transkripsi balik

(Sumber: <http://en.wikipedia.org/Reverse-transcription.svg>; 2011)

1. Setelah dibentuk DNA untai ganda selanjutnya DNA menyisip pada genom sel inang eukariotik oleh aktifitas enzim integrase. Dalam keadaan ini virus tersebut disebut sebagai provirus (genom virus HIV adalah RNA bukan DNA).Setelah genom DNA untai ganda diinsersikan selanjutnya dilakukan sintesis RNA virus dengan menggunakan cetakan DNA provirus oleh aktifitas RNA polymerase yang dimiliki sel inang. RNA virus yang disintesis berfungsi sebagai sumber informasi untuk sintesis protein structural virus dan enzim sekaligus sebagai genom virus.
2. Genom virus selanjutnya dibungkus oleh protein selubung berupa lapisan protein utama dan protein cangkang. Partikel virus selanjutnya menembus membrane plasma sel inang sehingga memperoleh selubung lemak.

Enzim reverse transcriptase sebenarnya bukanlah merupakan katalisator yang efektif. Selama satu periode transkripsi setidaknya terdapat rata-rata 10 kesalahan seperti salah baca kodon, melompati pembacaan beberapa kodon dan sebagainya. Kesalahan-kesalahan tersebut relative lebih parah dibandingkan dengan kesalahan yang umum terjadi pada replikasi normal, hal tersebut karena proses transkripsi normal mempunyai mekanisme koreksi yang mengurangi frekuensi kesalahan transkripsi. Frekuesi kesalahan transkripsi yang tinggi ternyata justru menguntungkan virus yang bersangkutan. Fenomena tersebut merupakan salah satu faktor yang menyebabkan partikel prokaryotic seperti virus sulit untuk diberantas, pola genetik virus cenderung cepat berubah sehingga tidak terkoreksi oleh system imun manusia (Stowell,2009).

1. **Hasil Penelitian Miskonsepsi yang Terjadi pada Konsep Reproduksi Materi Genetika**

Nusantari (2012) mengemukakan temuan miskonsepsi yang terjadi pada konsep reproduksi materi genetik. Berikut dikemukakan kesalahan-kesalahan yang terjadi. Namun Jawaban tidak dijelaskan lagi. Para mahasiswa dapat menemukan jawabannya pada uraian di atas secara jelas yang disusun oleh penulis berdasarkan kesalahan konsep yang ditemukan. Berikut lima miskonsepsi yang ditemukan adalah:

1. Waktu replikasi sesaat sebelum pembelahan meiosis yakni awal profase
2. Replikasi adalah proses penggandaan DNA menjadi DNA
3. Replikasi adalah penggandaan DNA unting ganda
4. Replikasi berlangsung secara konservatif, dispersive dan semikonservatif
5. Replikasi berlangsung 2 arah yakni dalam arah 5’—3’ dan 3’—5’

Selanjutnya untuk menguji pemahaman saudara, maka jawablah lima miskonsepsi di atas dan pastikan bahwa jawaban saudara tidak miskonsepsi lagi.

**Kesimpulan**

Definisi replikasi adalah penggandaan unting ganda pada DNA eukariot, penggandaan unting tunggal DNA pada virus, atau penggandaan materi genetik berupa RNA pada retrovirus.

Waktu reproduksi materi genetik pada kelompok eukariotik yang berbiak secara seksual adalah replikasi DNA terjadi pada fase S dalam siklus sel baik mitosis maupun meiosis. Reproduksi materi genetik pada kelompok prokariotik dilakukan sebelum pembelahan sel. Reproduksi materi genetik pada kelompok aseluler virus dan retrovirus terjadi setiap kali menginfeksi sel inangnya.

Replikasi tiap bahan genetik memiliki keunikan proses sesuai jenis materi genetik. Pada kelompok makhluk hidup eukariotik dan prokariotik materi genetik berupa DNA. Sedangkan materi genetik pada kelompok aseluler virus berupa DNA atau RNA, kelompok aseluler retrovirus berupa RNA. Sehubungan dengan perbedaan materi genetik yang dimiliki maka mekanisme reproduksi yang terjadi juga berbeda.

Replikasi dapat berlangsung beberapa cara. Replikasi pada virus yang memiliki materi genetik DNA unting ganda mengalami proses replikasi semikonservatif, Replikasi pada DNA unting tunggal disebut sebagai proses yang disebut *Rolling Circle Replication*. Makhluk hidup yang memiliki RNA (misalnya beberapa virus RNA maka replikasi RNA langsung menjadi RNA atau pada retrovirus maka RNA replikasi RNA dilakukan melalui *reverse transcription*.

**Daftar Rujukan**

Anonim. 2010. ***Reverse Transcriptase****.*Online. ([www.wikipedia.com](http://www.wikipedia.com), diakses tanggal 9 Maret 2011).

Stowell, Dan. 2009. ***The Molecule of HIV***. [www.mcld.co.uk/hiv](http://www.mcld.co.uk/hiv). diakses tanggal 9 Maret 2011)

Campbell, Reece, Mitchel. 2002*.* ***Biologi***. Jakarta: Erlangga

Gardner, *et all.*1991. ***Principles of Genetiks Eighth Edition***. New York. Chichester Brisbane Toronto Singapore .

Nusantari, E. 2012. *Kajian Miskonsepsi Genetika dan Perbaikannya Melalui Perubahan Struktur Didaktik Bahan Ajar Genetika Berpendekatan Konsep di Perguruan Tinggi.* Disertasi. PPS Universitas Negeri Malang

Yuwono, Triwibowo. 2005. ***Biologi Molekular***. Jakarta: Erlangga.