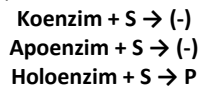


BAB 5 Kofaktor, Koenzim, Apoenzim, dan Proenzim

- Bertrand → sejumlah enzim tertentu memerlukan senyawa-senyawa dengan berat molekul kecil yang dapat melewati pori-pori membrane dialysis untuk aktivitasnya.
- Harden dan Young (1906) → zimase/zymase(enzim yang melakukan proses peragian alcohol) jika didialisis akan menghasilkan dua fraksi senyawa yang berbeda yaitu dialisat(mampu menembus membrane dialysis sebab memiliki berat molekul yang kecil) dan presipitat (tidak mampu menembus membrane dialysis sebab berat molekul besar)
- Dialisat maupun presipitat tidak lagi mampu melakukan proses peragian secara sendiri, namun apabila dicampur kembali, kemampuannya akan pulih.
- Harden dan young lalu mengatakan bahwa presipitat adalah enzim, sedangkan dialisat adalah koenzim. Namun karena presipitat tidak dapat berfungsi tanpa koenzim, maka enzim tersebut dianggap belum sempurna dan dinamai apoenzim. Sedangkan gabungan antara apoenzim dan koenzim disebut holoenzim.



- Sebenarnya peranan koenzim (sebelumnya disebut kofaktor) sudah disadari oleh Pfeiffer (perintis perkembangan imunologi dan bekerja dalam bidang bakteriologi).
- Tahun 1893 ia menemukan bahwa selain memerlukan hemin, *Hemophilus Influenzae* (turunan hemoglobin) juga memerlukan faktor lain dalam BM kecil (yang nantinya disebut koenzim nikotinamida) untuk pertumbuhan dalam medium biakan.

ASAL KOENZIM

- Koenzim tidak seragam, namun terdiri atas berbagai molekul senyawa organik.
- Sebagian besar dari koenzim adalah turunan dari keluarga atau kompleks vitamin B. Asam lipoat dan biotin merupakan anggota keluarga vitamin B yang langsung dapat bekerja sebagai enzim.
- Sebagian dari keluarga vitamin ini baru bisa berfungsi jika mengalami sedikit perubahan, seperti asam folat, vitamin B12, vitamin B1 dan vitamin B6.
- Sisanya baru berfungsi jika mengalami perubahan cukup besar, dalam bentuk turunan suatu nukleotida seperti niasin atau nikotinamida, riboflavin, dan asam pantonenat.

Tabel Kelompok Vitamin B dan koenzim turunannya

Vitamin	Koenzim	Contoh Apoenzim	Reaksi dikatalisis
B1 (aneurin, tiamin)	Tiamin pirofosfat(TPP)	Dekarboksilase asam α-keto	R-CO-COOHS R-COH + CO2
B2 (riboflavin)	FAD(flavindinukleotida) dan FMN (Flavinmononukleotida)	Dehidrogenase aerob	RH2+O2SR +H2O2
Asam lipoat	Asam lipoat	Dehidrogenase piruvat	Dekarboksilase asam α oksidatif-keto
Asam pantonenat	Koenzim A(Ko-A)	Transasilase	Pemindahan gugus asil (RCOO-)
Biotin	Biotin	Karboksilase	Pengikatan CO2 ke suatu asam α-keto atau asil
Vitamin B6(piridoksin)	Piridoksalfosfat	Transaminase	Pemindahan NH2- a dari suatu asam amino ke asam α-keto
Niasin (nikotinamida)	NAD (nikotinamida adenine) NADP(nikotinamida adenine dinukleotida fosfat)	Dehidrogenase anaerob	Asam α –amino amina +NH2
Asam Folat	Asam tetra-hidro folat	Dehidrogenase anaerob	Oksidasi anaerob
Vitamin B12(kobalamin)	Koenzim B12 (metilkobalamin)	Transformilase Transmetilase	Oksidasi anaerob
		Transmetilase Isomerase	Pemindahan (CHO,CH2OH, dan CH3)
			Pemindahan CH3

Kelompok koenzim lain yang tidak berasal dari vitamin B :

a. Vitamin C/asam askorbat →

1. proses hidroksilasi yang melibatkan enzim hidroksilase.
2. Dibutuhkan dalam jumlah cukup besar dalam kelenjar adrenal untuk pembentukan hormone steroid.
3. Untuk mengukur aktivitas hormone gonadotropin (teknik biologis–bioassay)

Kekurangan enzim ini → proses hidroksilasi asam amino prolin dan lisin di dalam molekul kolagen akan terganggu, sehingga fungsi prolin yang terbentuk tidak sempurna.

b. Vitamin K →

1. Proses karboksilasi atom C-γ rantai samping dari residu asam-glutamat yang terdapat pada beberapa faktor penggumpalan darah (protrombin) → akan terbentuk asam γ karboksilglutamat yang memiliki dua gugus COOH pada atom Cγ rantai samping
2. Proses modifikasi asam amino pasca penerjemahan (perubahan asam amino setelah digabungkan ke protein) → diperoleh asam amino tanpa kodon di dalam sandi genetic.

c. Enzim yang berasal bukan dari vitamin dan dapat disintesis tubuh sendiri :

1. Koenzim Q/ ko-q atau q : turunan dari hidrokinon atau ubikinon (proses pemindahan electron dan sintesis ATP)
2. Tripeptida glutation: senyawa tetrapinol yang mengandung logam Fe di tengahnya (hem) → enzim katalase dan peroksidase
3. ATP, nukleotida trifosfat lain serta gula fosfat

GUGUS PROSTETIK

- Gugus prostetik : koenzim yang berikatan kuat(bahkan ikatan kovalen) dengan apoprotein sehingga tidak bisa dipisahkan tanpa merusak struktur holoenzimnya
- Contoh : FAD, FMN, pirodoksal fosfat,dan gugus hem. Enzim yang mempunyai FAD dan FMN sebagai gugus prostetik disebut flavoprotein, sedangkan yang memiliki hem disebut hemoprotein.
- Senyawa bukan asam amino yang terikat pada protein bukan enzim dan membantu protein tersebut menjalankan aktivitasnya juga disebut gugus prostetik
- Contoh : hemoglobin dan mioglobin (terdapat di otot)

KOENZIM SEBAGAI KOSUBSTRAT

- Ada dua alasan memandang koenzim sebagai segi substrat:
 1. Apa yang terjadi pada koenzim tepat kebalikan dari apa yang terjadi pada substrat. Jika substrat reduksi, maka koenzim oksidasi.
 2. Yang terjadi pada koenzim lebih merupakan tujuan reaksi daripada apa yang terjadi pada substrat.
Contoh : dalam suatu reaksi pengikatan energi, proses penerimaan gugus fosfat oleh ADP menjadi ATP menjadi demikian penting, sehingga tanpa disadari hampir selalu reaksi tersebut dipandang sebagai reaksi utama dan bukan sampingan, padahal ADP maupun ATP berperan sebagai koenzim.
- Selain itu, peran koenzim tertentu sangat penting dalam suatu jenis reaksi dan tidak dapat digantikan oleh koenzim lain yang mirip.

- Contohnya NAD dan NADP, keduanya berasal dari nikotinamida dan sangat mirip satu sama lain, namun keduanya mempunyai tempat dan peran sendiri-sendiri dan tidak dapat dipertukarkan begitu saja di dalam sel.
- NAD → proses oksidasi dan reduksi substrat untuk membebaskan energi dan berhubungan dengan pembentukan ATP serta rangka karbon yang bersangkutan akan berakhir dalam bentuk CO2
- NADP →Proses oksidasi melalui dehidrogenasi substrat yang akan diolah menjadi senyawa lain dan energi yang dilepaskan dan ditangkap dalam bentuk NADPH tidak pernah diubah menjadi ATP, tapi hampir selalu digunakan untuk proses sintesis senyawa secara reduktif.

PERAN LOGAM

- Logam mempunyai peran yang menentukan dalam aktivitas enzimatik. Dapat dikatakan bahwa fungsi katalis terpusat di logam, sedangkan apoenzim member suasana yang mendukung bagi berjalannya proses katalisis.
- Hubungan logam dengan apoenzim dapat dibagi berdasarkan erat atau longgarnya ikatan kimia yang ada :
 1. **Ikatan erat (disebut Metaloenzim)** : tidak bisa dipisahkan dengan cara fisikokimia biasa berupa dialysis, pengendapan maupun ultrafisasi tanpa merusak apoenzim.
 - a. **Terikat langsung ke apoenzim**
contoh : Enzim yang berikatan dengan besi (Fe) tanpa perantara gugus prostetik hem (enzim besi bukan hem), enzim yang berikatan langsung dengan kobalt (Co) (enzim dipeptidase)
 - b. **Terikat tidak langsung ke apoenzim (yaitu terikat pada gugus prostetik)**
contoh : Fe dan Co (melalui koenzim kobamida/koenzim B12)
 2. **Ikatan longgar** (disebut enzim yang diaktifkan oleh logam): bisa dipisahkan dengan cara fisikokimia tanpa merusak apoenzim
- Fungsi logam dapat sebagai salah satu bagian dari molekul holoenzim yang menjadi pusat proses katalisis itu sendiri, ataupun untuk memberikan serta memantapkan struktur 3 dimensi tertentu yang seharusnya bagi enzim, sehingga molekul enzim tersebut dapat bekerja.

HUBUNGAN ANTARA JENIS ENZIM, KOENZIM, DAN LOGAM

Tabel Logam dan Contoh Enzim yang membutuhkan logam

Logam	Enzim	Ikatan
Ca	Faktor penggumpalan, komplemen	Longgar
Co	Dipeptidase	Metaloenzim (erat)
Cu	Berbagai oksidase	Metaloenzim
Fe	Berbagai oksidoreduktase	Metaloenzim
K	Piruvat kinase(selain Mg)	Longgar
Mg	Fosfatase, kinase	Longgar
Mn	Arginase, aminopeptidase	Metaloenzim
Mo	Xantin oksidase, nitrogenase(bakteri)	Metaloenzim
Na	Sukrase(usus)	Longgar
Se	Glutation Peroksidase	Erat
Zn	Alkohol dehidrogenase, Anhidrase karbonat	Metaloenzim

Perbedaan sifat antara tabel 1 dan tabel 2

• **Tabel 1**

Enzim pada tabel 1 dan enzim yang memerlukan koenzim pada umumnya, hanya mengkatalisis reaksi pemindahan gugus.

- a. Gugus yang dipindahkan berupa H atau electron dan enzim yang terlibat adalah enzim yang mengkatalisis oksidasi-reduksi.
Contoh koenzim: asam lipoat, FAD, FMN, glutation, hem, koQ, NAD, NADP, dan mungkin Vit C
- b. Gugus yang dipindahkan bukan berupa H, seperti metal, karboksilat, amina contoh koenzim : asam lipoat, ATP dan nukleotida trifosfat lain, biotin, gula fosfat, koA, kobamida, koenzim folat, piridoksal fosfat, dan koenzim folat.
Asam Folat masuk ke dalam dua kategori tersebut karena koenzim ini mengkatalis reaksi dehidrogenase gugus hidroksietil menjadi asetil dan selanjutnya memindahkan gugus asetil ke koenzim A.

• **Tabel 2**

Tidak terbatas pada pemindahan atom H atau gugus lain dan dapat dikatakan bahwa peran logam dalam mengkatalisis reaksi enzimatik lebih luas daripada peranan koenzim. Sebagai contoh terdapat enzim yang mengkatalisis pemutusan ikatan peptide seperti dipeptidase.

BEBERAPA KOENZIM

1. Tiamin Pirofosfat (turunan vit B1)

- Berperan dalam metabolisme asam fosfat dan reaksi pemindahan gugus ketol dalam HMP(hexose mono phosphate) shunt
- (Awal abad 20) Ditemukan oleh dokter militer Belanda di Batavia, Eijkman. Menemukan suatu faktor yang terkandung dalam kulit ari beras yang dengan cepat mengobati sembab, kesemutan, lemah otot (tanda penyakit beri-beri) → aneurin (faktor anti neuritis)
- (1937)Lohmann mengenali senyawa ini sebagai tiamin dan menetapkan struktur molekulnya. (ada cincin pirimidin (lingkar 6) dan cincin tiazol (lingkar 5, untuk mengikat gugus piruvat) yang dihubungkan dengan jembatan metilen.

2. Koenzim turunan riboflavin

FMN

- (1925) Bleyer dan Kallman → bahan yang berwarna kuning dalam susu, dinamai laktokrom (kaya akan riboflavin)
- (1932) Szent-Gyorgyi dkk → zat warna kuning dari ekstrak otot jantung, dinamakan sitoflav. Selain itu dilaporkan juga bahwa warna kuning tersebut hilang jika direduksi dan muncul lagi jika dioksidasi, diperkirakan penting dalam pernapasan sel.
- (1932) Warburg dan Christian →
 1. Menerbitkan risalah tentang “ferment kuning” dari ragi. Zat warna kuning tersebut terikat pada molekul pembawa berukuran besar yang belum jelas cirinya, selain itu juga memiliki kemampuan katalis besar. Ferment kuning itu juga tereduksi bila dicampur ester Robison (heksosa monofosfat), ditambah protein tidak berwarna dari ragi (zwischenferment) dan koferment(koenzim) dari darah merah (TPN atau NADP).
 2. Memisahkan senyawa kuning dari ferment tersebut dengan bantuan methanol dan iradiasi dalam suasana alkali.
- (1933) Kuhn dan Gyorgyi, Ellinger dan Koschara → substansi warna kuning dalam putih telur dan whey (fraksi susu yang dibebaskan dari lemak dan kasein). Senyawa ini identik dengan riboflavin dan punya spectrum absorbs yang tepat sama dengan lumiflavin yang dilaporkan Warburg dan Christian.
- (1934) Theorell → memisahkan gugus prostetik dari enzim kuning dengan cara mendialisasi enzim kuning dalam asam.
- Gugus prostetik bermuatan negatif dan pada elektroforesis pergi ke anoda (berbeda dengan riboflavin). Karena tiap molekul koenzim ini ternyata mengandung satu gugus fosfat. Ketika dididapkan dengan kalsium, gugus prostetik ini ternyata suatu asam flavin monofosfat. Gugus fosfat ini terikat ke atom C5 dari suatu residu ribitol. Dengan demikian Flavin mononukleotida(FMN) berhasil dikenali.

FAD

- (1938) Warburg dan Christian → memisahkan suatu gugus prostetik lain dari enzim oksidase asam amino dari ginjal domba.
- Enzim ini ditemukan pertama kali oleh Krebs. Sebelumnya, Karrer menemukan adenine dalam fraksi flavin hati.
- Tahun 1939, Abraham → membebaskan asam adenosine monofosfat dari FMN dari koenzim tersebut.
- Kesimpulan → Gugus prostetik atau koenzim yang baru itu haruslah tersusun dari isoaloksazin-asam-D-ribofosfat-asam-D-ribosaadenin → lahirilah FAD(flavin adenine dinukleotida).

3. Koenzim turunan Niasin(nikotinamida)

- Enzim pertama yang diketahui
- Diutarakan oleh Bertrand dan diperlihatkan oleh Harden dan Young
- (1931) → ketika mempelajari oksidasi senyawa glukosa 6-fosfat, Warburg-Christian menemukan dalam dialisat yang bekerja mirip dengan koenzim Harden dan Young (koenzim 1/kodehidrogenase 1) → koenzim 2
- (1936) → von Euler dkk menemukan dalam nikotinamida dalam dialisat Harden-Yueng yang telah dimurnikan
- (1936) → Warburg-Christian menemukan nikotinamida baik di koenzim1 maupun koenzim2 dan keduanya memiliki peran dalam oksidasi-reduksi.
- (1950) → Kornberg dan Pricer mengetahui Koenzim 2 lokasi gugus fosfat tambahan pada koenzim2, yaitu pada atom C kedua dari residu ribose yang terikat ke adenine. Oleh karena itu koenzim 1 dinamakan → DPN (diphosphopyridine nucleotide), koenzim2 → TPN(triphosphopyridine nucleotide).
- Namun karena pada dasarnya bagian aktif dari enzim tersebut merupakan nikotinamida, bukan pirimidin, dan sebenarnya keadaan TPN bukan triphospo, melainkan monophosphodinucleotide. → namanya diganti DPN → NAD(nicotinamide adenine dinucleotide) TPN → NADP (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate)
- Niasin dinamai sebagai PP (pellagra-preventive) faktor oleh Goldberger karena apabila kekurangan akan menyebabkan penyakit pellagra.

4. Koenzim A

- (1947) → Ditemukan oleh Lipmann, Ochoa, dkk dalam bentuk suatu kofaktor dalam proses asetilasi yang berlangsung di dalam hati dan ginjal.
- Diungkap juga struktur kimia koenzim A → molekul kompleks yang tersusun dari 3'-fosfo-ADP-pantotenil-alanil-β-sisteamin. Turunan adenine dinukleotida, dengan nukleotida kedua digantikan oleh panteanin, juga terkandung asam pantonenat dan alanin-β.
- Adanya gugus sulfhidril → koenzim A mampu memindahkan gugus asetil maupun asil sehingga terbentuk asetat aktif /asetil koA maupun asil aktif/asil koA.

- KoASH → koenzim A yang belum mengikat gugus asil apapun
- Koenzim A harus ada dalam reaksi yang melibatkan gugus asetil → oksidasi asam piruvat, katabolisme asam lemak dalam jalur oksidasi-β, biosintesis kolesterol, nerumediator asetil kolin dan feromon pada hewan.

5. Pirodoksal Fosfat

- Bentuk aktif dari vitamin B6(piridoksin)
- (1943)dilacak oleh Gale dan Epps ketika mendialisis enzim lisin dekarboksilase → enzim yang terdapat di kantong selofan hanya akan bekerja jika dicampur dengan senyawa yang terdapat dalam dialisat → dinamai sebagai kodekarboksilase, yang kemudian ditemukan sangat banyak di ragi.
- (1943) Braunstein dan Kritzman → enzim yang mengkatalis pemindahan gugus amino dari asam aspartat ke asam piruvat membutuhkan koenzim yang ada dalam dialisat → koenzim dinamai kodeaminoferase
- (1944) Gunsalus dan Bellamy → bakteri yang dibiakkan dalam medium yang tidak mengandung piridoksin tidak dapat melakukan dekarboksilasi asam amino tirosin.
- (1944)Umbreit → dalam keadaan sel dikeringkna, kegiatan enzim itu tidak akan pulih jika ditambahi hanya piridoksal, harus ditambah ATP. Jadi kodekarboksilase memerlukan piridoksal fosfat sebagai koenzim aktif. (didukung oleh percobaan Baddiley dan Gale tahun 1945).
- (1946) Umbreit, O'kane, dan Gunsalus → piridoksal fosfat adalah koenzim bagi enzim transaminase, juga aktif untuk enzim dekarboksilase asam amino tapi laju reaksi lebih lambat.
- (1952) Baddiley dan Mathias → struktur kimianya

6. Asam Lipoa

- (1941) Dewey → disadari peranannya dalam reaksi pemindahan H dan sebagai faktor pertumbuhan (dalam pengamatan terhadap Tetrahymena)
- Semula dinamakan "faktor II". Faktor II dipekatkan oleh Stokstad pada tahun 1949 dan dinamakan protogen A.
- Sebelum itu, pada tahun (1946) Guirard dkk → ada suatu faktor yang dapat menggantikan asetat dalam mendukung pertumbuhan bakteri, dinamakan "faktor pengganti asetat".
- (1948) O'kane dan Gunsalus → menemukan "faktor oksidasi piruvat" yang diperlukan oleh bakteri Streptococcus faecalis.
- (1948) Snell dan Broquist membuktikan → faktor pengganti asetat identik dengan protogen A atau faktor II.

- (1951) Reek, DeBusk, Gunsalus, dan Hornberger → menamakannya sebagai asam lipoat setelah berhasil mengkristalkannya. Nama ini dipakai karena faktor ini juga larut dalam pelarut lemak
- Asam lipoat dapat berada dalam keadaan teroksidasi maupun tereduksi. Asam lipoat tereduksi biasanya disingkat sebagai LSH, sedangkan teroksidasi sebagai LSS. Adanya gugus -SH menyebabkan LSH mampu mengikat gugus asetil yang terikat pada C6
- Peranan → reaksi dekarboksilasi oksidatif dua asam α -keto, yaitu asam piruvat menjadi asetil koA dan asam α -ketoglutarat menjadi suksinil koA.
- Terikat secara kovalen pada apoenzim melalui ikatan peptide pada gugus-NH₂- ϵ di residu lisin

7. Biotin (vitamin H)

- (1936-1946) dilaksanakan tentang peran gizi dan protein putih telur menunjukkan bahwa protein ini dapat menyebabkan defisiensi zat gizi
- Terdapat suatu faktor pertumbuhan yang memperbaiki defisiensi itu → vitamin H(dari hati)
- (1942) rumus bangunnya diketahui
- Diketahui penyebab defisiensi adalah avidin, yang mampu mengikat biotin dengan afinitas tinggi.
- Terikat secara kovalen pada apoenzim melalui ikatan peptide pada gugus-NH₂- ϵ di residu lisin.
- Biotin berperan dalam pengikatan CO₂ dan HCO₃⁻

8. Asam Folat

- (1954) Blakley → asam folat yang ada dalam bentuk vitamin belum aktif. Untuk itu, inti pteridin harus direduksi dulu menjadi tetrahidrofolat(THF) dengan enzim folat reduktase.
- Wright → Untuk dapat menjadi koenzim pada reaksi pemindahan penggal satu karbon, THF harus dikonjugasikan pula dengan sejumlah asam glutamate. Turunan poliglutamat dari THF dinamakan "Koenzim C"
- THF mudah dioksidasi menjadi DHF dan mudah dioksidasi oleh NAD⁺.
- THF ditambah gugus hidroksimetil dari asam amino serin terbentuk asam amino glisin dengan enzim serin transhidroksimetilase
- THF dapat menjadi koenzim untuk enzim transformiminase dengan menerima gugus formimino dari formomonoglisin atau formiminoglutamat

9. Koenzim kobalamin

- Turunan vitamin B12, rumus bangun mirip dengan cincin hem dari hemoglobin (vitamin B12 mempunyai cincin korin).

- 1956 Hodgkin → bagian tengah dari cincin korin vitamin B12 terdapat logam kobalt yang membentuk koordinasi dengan keempat atom N dari cincin pirol → disebut kobalamin
- Peran vitamin B12 penting dalam proses isomerisasi. Contoh : isomerisasi metilmalonat menjadi asam suksinat

10. Glutation (GSH)

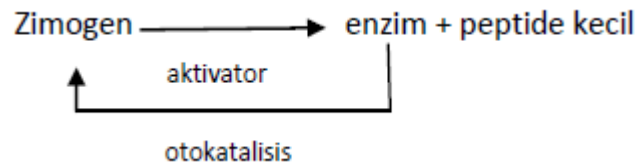
- Koenzim yang bukan turunan vitamin sehingga dapat disintesis tubuh
- (1921) ditemukan oleh Hopkins → awalnya dianggap suatu dipeptida asam amino tapi setelah dikristalkan, Hopkins membuktikan bahwa ini sesungguhnya adalah suatu tripeptida
- (1921) Kendall dkk → susunan asam amino dari peptide ini antara lain asam glutamate, sistein, dan glisin.
- (1935) Harrington dan Mead → dengan cara sintesis berhasil menetapkan urutan asam amino di dalam molekul glutation.
- Nama kimia dari glutation ialah γ -glutamilsistein-glisin
- Berperan dalam memperthankan keadaan tereduksi dari berbagai enzim dan protein yang memerlukan adanya gugus SH

11. Sitokrom

- Nama umum yang diberikan kepada semua hemoprotein yang bukan hemoglobin, mioglobin, katalase, atau peroksidase → nama diberikan oleh Keilin tahun 1925
- 1886 MacMunn → sifat sitokrom sangat kuat menyerap cahaya kasat mata dalam keadaan tereduksi. Protein yang berasal dari jaringan ini menyerap cahaya dalam 4 spektrum, a, b, c, dan d.
- Sifat umum sitokrom yang terlibat dalam rekais oksidasi reduksi disebabkan oleh adanya gugus hem yang terikat ke apoprotein masing-masing.
- Sitokrom a dan c → pemindahan elektorn di membrane bagian dalam mitokondria
- Sitokrom b → terdapat di mikrosom sel hati dan berperan dalam proses hidroksilasi

12. PROENZIM(ZIMOGEN)

- Merupakan enzim yang disekresi dalam bentuk belum aktif. Enzim ini diaktifkan di tempat ia bekerja dan dalam keadaan tertentu
Contoh: thrombin yang dikeluarkan dahulu dalam bentuk protrombin
- Dalam pengaktifan zimogen, selalu terjadi hidrolisis terbatas yang menghasilkan suatu protein yang lebih kecil dari proenzim yang bersangkutan, tetapi mempunyai kemampuan enzimatik, serta suatu peptide kecil, yang pada sistem komplemen ternyata mempunyai aktivitas biologis yang menguntungkan.



- Otokatalisis → aktivasi suatu zimogen oleh bentuk aktifnya sendiri
- Produksi suatu enzim dalam bentuk zimogen biasanya tampak pada enzim yang mempunyai kemungkinan menyebabkan kerusakan sel atau jaringan yang mensekresinya
- Contoh: protease, faktor penggumpalan darah

BAB 6 Penggolongan dan Tata Nama Enzim

- Sebelumnya enzim dinamai berdasarkan nama penemu dan tidak ada aturan dalam penamaan enzim. Bahkan istilah umum untuk biokatalis ada dua macam :
 Pasteur → ferment
 Kuhne → Enzim (bahasa Yunani)
- Akibat ketiadaan pegangan tersebut :
 Emulsin dihubungkan dengan enzim yang memecah lemak dalam emulsi, padahal yang dimaksud dengan nama ini adalah enzim yang mampu memecahkan ikatan glikosida yang pahit pada senyawa amigdalin (dalam biji amandel) menjadi karbohidrat dan HCN.
- Akhirnya karena kasus diatas → tata nama mulai dirasa perlu.
- Pernah dicoba untuk menggunakan nama organ atau organisme yang menghasilkan enzim, namun bermasalah karena dalam satu organ, banyak enzim yang dihasilkan. (1898) Duclaux menggunakan akhiran -ase untuk menjadi akhiran nama enzim menggantikan akhiran -in (berdasarkan istilah diastase oleh Payen dan Persoz). Akhiran -in akhirnya hanya dipakai untuk peptin dan tripsin serta enzim pemecah protein yang berasal dari tumbuh-tumbuhan.

Tata Nama Berdasarkan Substrat

Substrat + ase

Contoh: amylase (enzim yang menggunakan amilum atau pati sebagai nama substrat)

Masalah: Glukase (enzim yang berhubungan dengan penggunaan glukosa)

1. Ada dua enzim dari sumber berlainan yang mengoksidase glukosa dalam dua reaksi yang sama sekali berbeda. Enzim yang pertama mengoksidasi glukosa dengan cara oksidasi aerob, sedangkan yang kedua dengan cara oksidasi anaerob.
 2. Ada dua enzim yang sama-sama dapat mengkatalisis fosforilasi pada atom C6 dari glukosa, yang sama-sama menggunakan ATP sebagai koenzim, sumber energi dan sekaligus sumber fosfat. Produk kedua enzim ini juga sama. Enzim pertama berperan pada katabolisme glukosa, sedangkan enzim kedua pada anabolisme glukosa.
- Oleh karena itu, tata nama yang hanya semata-mata didasarkan pada nama substrat juga tidak dapat dipertahankan.

Tata Nama Berdasarkan Jenis Ikatan Kimia Substrat

- Contoh: Jika ikatan kimia yang diolah adalah ikatan kimia peptide → enzim peptidase.
- Esterase, fosfatase, sulfatase, glikosidase, glukosidase, galaktosidase, manosidase, nukleotidase.
- Kecuali: Lipase (enzim pengolah triasilgliserol), harusnya namanya esterase juga, namun karena terlalu umum, akhirnya yang bertahan adalah lipase.
- Meskipun praktis, namun penamaan ini tidak komunikatif dan tidak punya kemampuan pembedaan yang tajam. Tata nama ini tidak menjelaskan apakah ikatan kimia tersebut dipecah atau dibentuk oleh enzim yang bersangkutan. Oleh karena itu tata nama ini tidak dapat dipakai untuk enzim yang mengkatalisis reaksi oksidasi-reduksi.

Tata nama berdasarkan jenis reaksi

- Contoh :
 1. Enzim yang mengoksidasi glukosa dinamakan glukosa oksidase, sedangkan yang mereduksi dinamakan glukosa dehidrogenase.
 2. Enzim yang mengkatalis reaksi pemindahan gugus dinamakan transferase, jika yang dipindahkan adalah gugus -NH₂, maka dinamakan amino transferase/transaminase.
 3. Laktat dehidrogenase (LDH), Glutamatoksaloasetat transaminase (GOT), glutamate piruvat-transaminase(GPT)
- Penamaan seperti ini lebih komunikatif dan deskriptif. Enzim yang melakukan hidrolisis seperti esterase, glukosidase atau peptidase seharusnya dinamakan hidrolase, namun karena nama tersebut tidak dipakai secara luas sehingga tetap pada nama semula.

Hubungan Tata Nama dengan Penggolongan

- (1953) Baldwin → melakukan penggolongan berdasarkan jenis reaksi kimia yang dikatalisis enzim. Digolongkan dalam empat kelas :

Tabel 3

Hidrolase dan Enzim Hidrasi dan Dehidrasi	Enzim transfer dan isomerisasi	Enzim untuk oksidasi	Enzim dehidrogenase
peptidase	transforforilasi,	Oksidase	Dehidrogenase dan kodehidrogenase
karbohidrase	transglikosidasi	Enzim pernapasan Warburg dan sitokrom	Dehidrogenase koenzim tereduksi (flavoprotein)
lipase dan esterase	transpeptidasi,	Sistem pembawa tambahan	Sistem dehidrogenase reversibile dan terangkai koenzim lain
hidrolase lain	transaminasi,		Enzim pernapasan jaringan dan penangkap energi bebas
enzim hidrasi dan dehidrasi	transiminasi, transamidasi, transkarbamasi, transmetilasi, transtiolasi, transasetilasi, enzim untuk isomerisasi.		

- Namun tata nama ini belum menghasilkan tata nama yang deskriptif dan komprehensif.
- (1958) Dixon dan Webb → melakukan penggolongan menurut jenis reaksi yang dikatalisis. Sejumlah 650 enzim dibagi menjadi 3 kelompok.

Tabel 4

Enzim hidrolisis	Enzim pemindah gugus	Enzim lain-lain
Ikatan peptida	Hidrogen	Katalisis reaksi sintesis menggunakan ATP atau GMP
Amina	Nitrogen	Adisi ikatan rangkap

Ikatan ester	Fosfat	Katalisis perubahan konfigurasi ruang
Ikatan glikosida	Asil	Lain-lain
Ikatan anhidrida asam	Glikosil	
Reaksi dekarboksilasi non-oksidatif	Koenzim A	
Ikatan lain-lain	Metil	
	Lain-lain	

- Namun ternyata klasifikasi ini tidak lebih memuaskan dari klasifikasi yang pertama.
 1. Tidak menghasilkan tata nama yang taat asas, deskriptif, dan informative.
 2. Masih belum tegas karena dalam tiap kelas selalu ada kelompok "lain-lain" yang tidak tercakup dalam pengelompokan dalam kelas. Bahkan kelas ketiga tidak terdefiniskan dengan baik.

Klasifikasi dan Tata Nama IUB

- (1955) Internasional Union of Biochemistry (IUB) dengan International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) membentuk suatu komisi pakar yang ditugasi untuk menangani masalah klasifikasi dan tata nama enzim ini.
- (1964) → disampaikan hasil kerja komisi tersebut yang mengandung dasar-dasar klasifikasi enzim dan sistem tata nama yang dikembangkan dari klasifikasi tersebut.
- Laporan itu selalu diperbaharui dan disampaikan secara berkala pada tahun 1972, 1978, 1984, dan 1992.
- Dasar klasifikasi → jenis reaksi. Dikelompokkan menjadi 6 kelas
 1. **Kelas oksidoreduktase**
Mengkatalisis reaksi oksidasi reduksi antara substrat dengan suatu senyawa lain.
 2. **Kelas transferase**
Mengkatalisis pemindahan suatu gugus yang bukan H antara substrat dengan senyawa penerima gugus. Jika gugusnya adalah H, maka termasuk kelas yang pertama.
 3. **Kelas Hidrolase**
Mengkatalisis reaksi hidrolisis
 4. **Kelas liase**
Mengkatalisis reaksi yang mengeluarkan gugus dari suatu substrat dengan cara bukan hidrolisis dan meninggalkan ikatan rangkap pada produk
 5. **kelas isomerase**
Mengkatalisis reaksi pembentukan isomer
 6. **kelas ligase atau sintetase**
- Menghasilkan molekul yang lebih besar dari pada molekul substrat awal

- Klasifikasi ini merupakan gabungan dengan sistem penomoran yang disebut nomor sandi sistematik(Enzim Code E.C).Nomor tiap enzim ditulis dalam 3 atau 4 digit. Digit pertama menunjukkan kelas, digit kedua menunjukkan subkelas, digit ketiga menunjukkan subsubkelas dan digit keempat untuk nama khusus enzim. Nama enzim sendiri ditulis dalam dua kata. Kata pertama adalah nama substrat sedangkan kata kedua adalah salah satu dari 6 jenis reaksi yang dikatalisis oleh enzim tersebut dan berakhiran -ase.
- Contoh : E.C.1.1.1.1 alkohol : NAD+ oksireduktase [alcohol dehidrogenase]
- Tata nama ini member petunjuk praktis tentang cara penamaan bagi suatu enzim yang baru ditemukan. Tata nama yang dimulai dengan penomoran 4 digit ini akan menyebabkan tidak mungkinnya

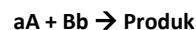
Penggolongan Khusus Enzim Tertentu

- Enzim yang dimaksud adalah enzim hidrolase. Mulanya, pembagian dilakukan pada enzim pemecah protein saja (protease).
- Pembagian didasarkan atas tempat kerja enzim tersebut pada molekul protein yang panjang. Karena enzim ini bekerja untuk memecah ikatan peptide, seharusnya dinamakan peptide hidrolase.
- Namun timbul masalah, ikatan peptide mana yang diputus oleh suatu enzim, misalnya tripsin, karena rantai polipeptida sangat panjang.
- Ternyata kemudian diketahui bahwa enzim seperti pepsin, tripsin, kimotripsin, elastase, thrombin, plasmin, enzim protease di dalam sel yang dikelompokkan dengan nama katepsin, dan enzim dari tumbuhan bekerja memutus ikatan peptide yang berada di bagian tengah atau dalam molekul protein substrat → enzim endopeptidase.
- Eksopeptidase → enzim peptidase yang bekerja pada ikatan peptide di bagian terluar dari molekul protein substrat.

BAB 7 Faktor yang Mempengaruhi Reaksi Enzimatik

Aktivitas Untuk Menggambarkan Jumlah Enzim

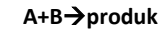
Hukum kegiatan massa (Gulberg, 1867) : laju suatu reaksi berbanding lurus dengan hasil perkalian aktivitas tiap reaktan. (nilai aktivitas reaktan akan naik sesuai dengan pangkat dari jumlah molekul reaktan tersebut.)



laju reaksi berbanding lurus dengan $[A]^a \times [B]^b$

Orde reaksi: jika laju reaksi berbanding lurus hanya dengan satu reaktan dalam reaksi $A \rightarrow \text{produk}$, laju reaksi berbanding lurus dengan berkurangnya jumlah A perdetik, atau dengan bertambahnya produk per detik.

Reaksi orde 1 : laju reaksi=hasil kali konsentrasi dengan k (tetapan laju)
Reaksi orde 2 : jika ada 2 reaktan bereaksi membentuk produk, $v=k[A][B]$



Namun reaksi ini bisa dilihat sebagai orde 1 kalo dilihat hanya dari salah satu reaktannya aja, A atau B. Jika konsentrasi salah satu reaktan tetap, sedangkan yang lain berubah2 maka laju reaksi akan bertambah dengan pertambahan konsentrasi reaktan yang terakhir.

Kalo di reaksi enzimatik, jika [S] tetap, tapi [E] diubah2, dapat dipandang sebagai reaksi orde pertama, jadi $v=k[E]$

Mengukur Aktivitas Enzim

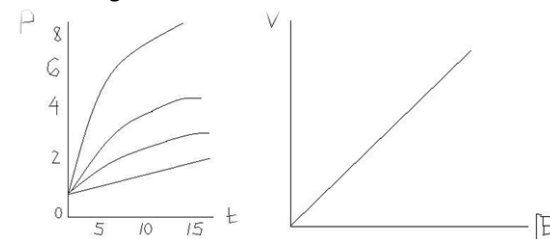
Untuk mengukur laju reaksi $S \xrightarrow{E} P$, dapat dilakukan pengukuran [S] dalam dua waktu yang berbeda.

$$v = \frac{[S2] - [S1]}{t2 - t1} = \frac{\Delta[S]}{\Delta t} \approx \frac{\Delta[P]}{\Delta t}$$

1 unit internasional enzim adalah sebagai jumlah enzim yang diperlukan untuk mengubah 1 mmol substrat atau menghasilkan 1 mmol produk dalam waktu 1 menit, dalam suhu dan Ph lingkungan yang tertentu.

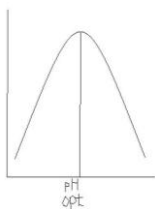
Menurut sistem SI, yang menyebut satuannya dengan nama katal, menyebutkan bahwa 1 katal adalah jumlah enzim yang diperlukan untuk mengubah 1 mol produk dalam waktu 1 detik, dalam suhu dan ph lingkungan tertentu

Hubungan laju reaksi dengan konsentrasi enzim



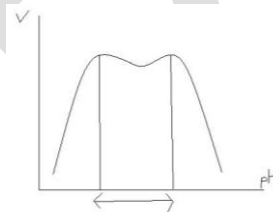
- a. *Antara selang waktu (Δt) dengan konsentrasi produk [P]*
- Semakin besar konsentrasi enzim, semakin banyak produk yang terbentuk dalam tiap waktu pengamatan.
 - Pada kurva, Awal pengamatan : berbanding lurus namun, semakin bertambahnya waktu, terjadi penyimpangan yang menyebabkan hubungannya tidak berbanding lurus. Sebabnya : substrat berkurang \rightarrow produk berkurang
 - Semakin tinggi konsentrasi enzim, semakin besar penyimpangannya (pada kurva terlihat semakin besar kelengkungannya)
- b. *Antara konsentrasi enzim [E] dengan kecepatan reaksi enzimatik (v)*
- Semakin besar konsentrasi enzim, makin cepat laju reaksi
 - Konsentrasi enzim yang besar, peluang substrat dikatalis oleh enzim semakin besar
 $V = k[E]$
 - Pada kurva, hubungannya linear namun kadang terdapat penyimpangan yang membuat kelengkungan pada kurva
Sebabnya : Enzim tidak murni \rightarrow adanya senyawa penghambat reaksi
Enzim terlalu murni \rightarrow adanya senyawa aktivator (ex: ga ada ion padahal pHnya sesuai)

Hubungan aktivitas enzim dengan Ph



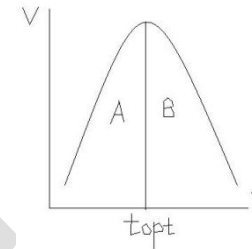
Pada kurva terlihat seperti lonceng, dimana terdapat titik puncak/pH optimum untuk aktivitas enzim dapat bekerja paling baik. Namun semakin menurun jika pH tidak sesuai (terlalu asam atau basa, tergantung enzim masing2) karena struktur 3 dimensi enzim yang berubah. Hal ini menyebabkan enzim tak dapat berikatan dengan substrat (enzim mengalami kehilangan fitrah/segala keadaan dan sifat ilmiah) \rightarrow lama2 mengalami denaturasi.

Jika ph dikembalikan ke nilai optimum, ada peluang enzim dapat kembali bekerja (reversibel/renaturasi). Namun, adakalanya hubungan ini tak menunjukkan suatu titik puncak, tapi garis merata (plateau) yang memiliki rentang pH optimum. Dikaitkan dengan contoh amilase, Sebabnya : molekul amilase bisa memiliki berbagai bentuk protein yang berbeda (isozim), yang bekerja pada pH yang sedikit berbeda



Hubungan Suhu dengan reaksi enzimatik

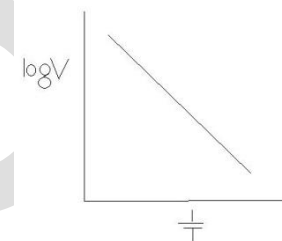
Pada kurva : mirip dengan hub Ph diatas, bentuk lonceng, terdapat suhu optimum dimana enzim dapat bekerja maksimum. Diluar suhu optimum, laju reaksi selalu lebih rendah.



Makin besar perbedaan antara suhu reaksi dengan suhu optimum, makin rendah laju reaksi. Namun terdapat perbedaan pada keadaan penyebabnya :

- Pada suhu yang lebih rendah, laju reaksi bisa menurun karena kurangnya gerak termodinamik \rightarrow kurangnya tumbukan antara molekul enzim dan substrat (komplek ES yang diperlukan untuk mengubah $S \rightarrow P$ tak terbentuk)
- Pada suhu yang lebih tinggi, selain peningkatan gerak termodinamik, laju reaksi bisa menurun karena adanya denaturasi

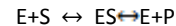
Hubungan kecepatan maksimum V dengan suhu T



V pada suatu suhu tertentu dengan $[E]_T$ tetap adalah $v = k[E]_T$
Kurva disamping menunjukkan bahwa makin kecil $\frac{1}{T}$, makin besar nilai log V. Artinya log V berbanding lurus dengan T. Makin tinggi suhu mutlak, makin besar kec.maksimumnya.

Namun jika membicarakan enzim konsep berbanding lurus ini hanya berlaku selama enzim tidak mengalami denaturasi. Artinya hubungan ini hanya berlaku sampai suhu optimum.

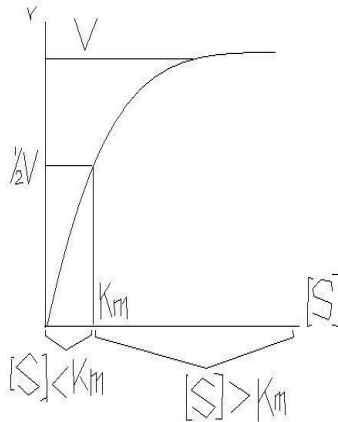
Hubungan konsentrasi substrat [S] dengan laju reaksi (v)



$$v = \frac{V[S]}{K_m + [S]}$$

Pada kurva terlihat suatu hiperbola,
Awal pengamatan : kompleks akan terurai \rightarrow enzim bebas dan produk (orde 1) \rightarrow laju reaksi sebanding dengan konsentrasi substrat

Namun pada konsentrasi substrat yang sangat tinggi, penambahan jumlah substrat tak lagi menaikkan laju reaksi sedikitpun, karena seluruh bagian aktif enzim telah jenuh ditempati substrat → laju reaksi dalam keadaan maksimum (V)
 Pada kurva terdapat 2 daerah (menten curve):



Daerah 1 : daerah dengan harga $[S] < K_m$, harga $[S]$ diabaikan → $K + [S] \approx K_m$

$v = \frac{V}{K_m} [S]$ → pada konsentrasi substrat yang sangat rendah, laju reaksi berbanding lurus dengan konsentrasi substrat (reaksi jenis orde 1)

Daerah 2: daerah dengan harga $[S] > K_m$, harga K diabaikan → $K + [S] \approx [S]$

$v = \frac{V[S]}{[S]} = V$ → pada konsentrasi substrat yang tinggi, melampaui nilai K, penambahan konsentrasi substrat tak lagi menyebabkan naiknya laju reaksi (reaksi jenis orde 0)

Km

Jika $v = \frac{1}{2}V$ → Km adalah konsentrasi substrat yang menyebabkan laju reaksi (v) sama dengan separuh laju reaksi maksimum ($\frac{1}{2}V$)

Km adalah jumlah bilangan tetap $\frac{k_2+k_3}{k_1}$



Km adalah tetapan keseimbangan paruh reaksi pertama yang berjalan ke arah kiri Km adalah Kd dari reaksi $E+S \leftrightarrow ES$, nilai Km digunakan untuk melihat afinitas antara substrat dengan enzim. $Kd = \frac{[E][S]}{[ES]}$, makin kecil harga Kd/Km, makin banyak substrat yang diikat E.

Jika ada 2 substrat yang bisa diolah oleh suatu enzim, Substrat dengan nilai Km yang lebih kecil mempunyai afinitas yang lebih besar terhadap enzim tersebut. Sebaliknya jika ada 2 enzim yang mengkatalisis reaksi reaksi yang sama terhadap substrat yang sam, enzim menunjukkan Km yang lebih kecil mempunyai afinitas yang lebih besar terhadap substrat.

k_3 (k_{kat} atau bilangan pergantian, turn over number)

Adalah tetapan laju reaksi penguraian $ES \rightarrow E + P$ (reaksi orde1), karena hanya dipengaruhi $[ES]$

$$v = k_3[ES] = k_3[E]_T$$

$$V = k_3[E]_T$$

Dari persamaan itu, k_3 juga disebut sebagai bilangan yang menyatakan berapa jumlah molekul substrat yang diolah oleh 1 molekul enzim, → disebut juga tetapan laju katalisis

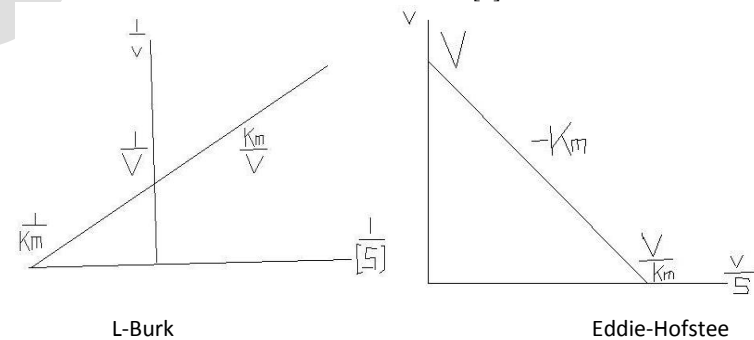
Persamaan Michaelis-Menten: persamaan yang menunjukkan hiperbola yang umumnya punya nilai batas yang tak dapat dilmpai. Kurva dapat dilihat pada hub antara penambahan $[S]$ mencapai nilai V yang tak dapat dilmpai

Persamaan Lineaweaver-Burk: kebalikan dari menten, membentuk persamaan garis lurus biasa, persamaan ini digunakan untuk mengetahui identitas spesifik suatu enzim, Km dan V serta menghitung k_3

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V}$$

Persamaan Eadie-Hofstee : cara lain buat menghasilkan garis lurus tapi nggak ada nilai negatifnya. Cara ini tidak lngsung diturunkan dari menten, tapi berasal dari persamaan L-Burk

$$v = -K_m \frac{v}{[S]} + V$$



BAB 8 Penghambatan Kerja Enzim

Penghambatan ini secara garis besar dibagi 2 : reversibel dan irreversibel

Penghambatan reversibel : Penghambatan dimana Interaksi antara inhibitor dengan enzim tidak membentuk ikatan kimia yang menetap. Penghambatan ini bisa dihilangkan jika inhibitor disingkirkan. Ada inhibitor yang bekerja bersaing/competitive, nirsaing/non-competitive, dan tak bersaing/uncompetitive

a) Inhibitor kompetitif : meliputi persaingan yang terjadi pada penempatan situs aktif enzim, waktu dan tempat penempatan oleh inhibitor sama, kemiripan molekul (sehingga inhibitor jenis ini disebut juga analog substrat), perbedaan struktur substrat-kompetitor, asas kekerapan (dapat berupa frekuensi perjumpaan antara S/Ko dengan E, konsentrasi antara S dan Ko, perbedaan afinitas terhadap E)

Agar peluang substrat-kompetitor sama besar dalam memperebutkan enzim, awalnya S-Ko harus dicampur secara homogen, baru ditambahkan enzim ke dalamnya.

Enzim bekerja 3 langkah, **mengenali-mengikat-mengolah**

Jika yang berikatan substrat maka setelah melewati 3 langkah itu akan dihasilkan produk, namun jika inhibitor yang berikatan maka hanya melewati langkah pertama dan kedua saja, pengenalan dan pengikatan, tidak diolah sehingga tidak akan ada produk. Hal dikarenakan inhibitor memiliki bagian yang sama dengan substrat (yang menempel di situs aktif) dan bagian yang berbeda dari substrat sehingga tak bisa diolah.

• **Pengaruh inhibitor kompetitif terhadap kinetik reaksi enzimatik**

Jika telah terbentuk kompleks ES, maka EI tak akan terbentuk, karena proses ini sifatnya saling meniadakan, begitu pula sebaliknya. Keberadaan inhibitor akan mempengaruhi laju reaksi, dan tetapan keseimbangannya dinamakan Ki

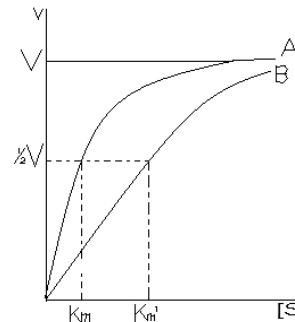
$$K_i = \frac{[E][I]}{[EI]} = \frac{[ES][I]}{[ESI]}$$

$$\text{Enzim total } [E]_T = [E] + [ES] + [EI]$$

Karena Km dan Ki adalah bilangan tetap, sedangkan [I] berubah2 maka kesimpulannya :

1. Pada kehadiran inhibitor, harga Km berubah sebanding perubahan konsentrasi inhibitor,
2. Seakan-akan afinitas S terhadap E berkurang,

3. Bagaimanapun perubahan Km, harga V (kec.max) tak berubah, pada harga [I] yang nisbi kecil, v ditentukan oleh substrat.
4. Sebaliknya pada harga [S] yang nisbi kecil, v ditentukan oleh [I]



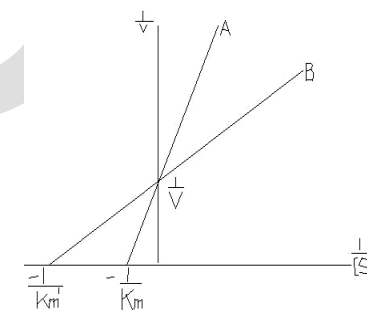
Kurva menten : A: tanpa inhibitor, B: dengan inhibitor

pada kurva, terlihat nilai V tak berubah. Secara grafis dapat dikatakan bahwa diperlukan jumlah substrat yang lebih besar agar laju reaksi (v) sama harganya dengan 1/2 V

Pembalikan persamaan Menten pada keberadaan kompetitor ini juga tetap menghasilkan persamaan linier Lineweaver-Burk yang sama, dengan Km ditempati oleh Km'

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V}$$

Jika persamaan ini digambarkan ke grafik maka akan tampak garis lurus juga :



Garis L-Burk: A: tanpa inhibitor, B: dengan inhibitor

tampak 1/V tetap tidak berubah. Harga Km' menjadi lebih kecil daripada harga 1/Km

• **Mekanisme penghambatan secara kompetitif**

Yang berperan adalah adanya kemiripan struktur antara S dengan Ko. reaksi antara E dengan I setelah membentuk kompleks EI, maka akan kembali bentuk E dan I. Senyawa I hanya membuat kompleks yang terbuat bersifat steril karena tidak menghasilkan produk.

Analog substrat, inhibitor kompetitif, memiliki bag struktur 3 dimensi yang identik dengan substrat dalam keadaan teregang/ bentuk peralihan, namun bentuk peralihan disini maksudnya bukan bentuk peralihan I sendiri tapi serupa dengan bentuk peralihan Substrat

• **Asas persaingan dalam sistem interaksi protein-ligan yang lain**

Tak hanya berlaku di enzim saja, namun pada interaksi protein-protein lain seperti hemoglobin-O₂, antibodi-antigen dsb yang secara umum memilki reaksi $Pp + L \rightleftharpoons PpL$

Perbedaan reaksi antara protein pengikat-ligan dengan reaksi enzim-substrat terletak pada akhirnya, kompleks ES akan menghasilkan produk sedangkan pada sistem lain tergantung pada fungsi biologis masing2 proteinnya. Jika ada inhibitor pada sistem lain, maka reaksi keduanya yang akan terhambat tergantung ekspresi fungsi masing2.

Ex: suksinat dehidrogenase dihambat oleh asam malonat, yang mirip dengan suksinat yang sama2 merupakan asam dikarboksilat. Karenanya asam malonat menduduki situs aktif pada suksinat dehidrogenase. Namun setelah terbentuk kompleks, reaksi dehidrogenasi tak dapat terjadi. Selain itu, ternyata pirofosfat juga menjadi inhibitor kompetitif bagi enzim ini, pirofosfat memiliki gugus asam-fosfat yang panjang molekulnya sama dengan asam malonat. Artinya sifat sterik dari molekul lebih menentukan daripada susunan atomnya.

Ex: kolinesterase yang mengatur impuls saraf di sinaps dapat dihambat secara kompetitif oleh eserin/fisostigmin dari kacang calabar, muskarin dari jamur amanita, nikotin dari tembakau, morfin, kokain, kinin, strikxinin dan metilen biru

Ex : Puromisin, senyawa antibiotik dari sejenis jamur yang sangat berbahaya, strukturnya mirip dengan kompleks asil-amino-tRNA yang akhirnya menghambat sintesis protein karena puromisin akan menyaingi asam amino aktif dalam berikatan dengan enzim asil-amino transferase

Inhibitor kompetitif berdasarkan sumbernya dibagi 3:

- ✚ dari sel sendiri : contohnya seperti asam malonat
- ✚ dari luar sel : contohnya asetilkolin
- ✚ dari sintesis : senyawa sulfonamida

b) Inhibitor non-kompetitif/nirsaing

Sekelompok senyawa yang dapat mengikatkan diri pada enzim untuk menghasilkan suatu kompleks buntu (dead end complex). Penghambatan jenis ini lebih sering dijumpai pada

reaksi enzimatik yang mengolah lebih dari 1 substrat. Senyawa2 ini tidak hanya berikatan pada enzim bebas saja namun juga pada kompleks ES.

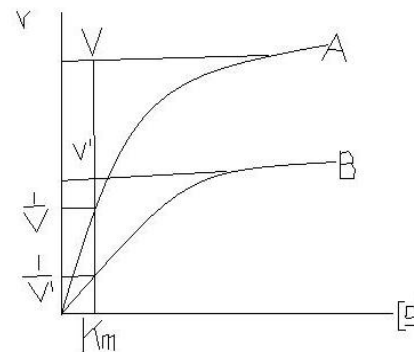
Sebaliknya, senyawa2 yang berikatan dengan enzim juga masih bisa berikatan dengan substrat → menghasilkan kompleks besar tapi mandul [EIS], ini berarti I dan S menduduki tempat yang berbeda pada enzim dan tentu saja berarti tidak ada kemiripan molekul antar S dan I

Ex: Contohnya reaksi awal glikolisis dihambat oleh hasil akhir glikolisis, piruvat. Enzim yang dihambat adalah heksokinase dan fosfofruktokinase (merupakan enzim yang tak berbalik arah karena bersifat eksergonik-membebasakan energi dari ATP). Karena enzim ini memiliki substrat yang sama, 6 karbon, maka jelas tak ada kemiripan struktur dengan penghambat (piruvat) yang hanya terdiri dari 3 karbon.

Ki untuk reaksi $E+I \leftrightarrow EI$ dan $ES+I \leftrightarrow ESI$ sama besarnya, karena kompleks ES dapat dicapai melalui 2 cara yang bebas satu sama lain, yaitu secara langsung (seperti biasa) dan dengan melalui pembentukan EI yang diikuti ESI terlebih dahulu

Karena inhibitor nirsaing ini sama baiknya terikat ke E ataupun ke ES, sehingga tetapan Ki-nya sama, maka dapat ditulis :

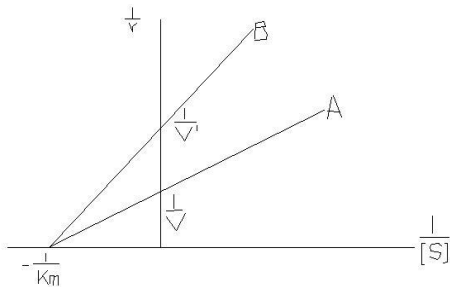
$$K_i = \frac{[E][I]}{[EI]} = \frac{[ES][I]}{[ESI]}$$



Kurva menten : A tanpa inhibitor, B dengan inhibitor
Tampak harga V' lebih kecil dari pada V. Sebaliknya tidak terjadi perubahan apapun pada harga Km. Dapat dikatakan bahwa pada penghambatan ini, afinitas enzim terhadap substrat tak berubah (liat dari Km-nya). Namun harga V menjadi lebih kecil. Perubahan struktur 3 dimensi enzim yang telah diganggu Inhibitor membuat V berkurang.

Secara L-Burk didapatkan persamaan (kebalikan dari menten pknya):

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V'} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V'}$$



Garis L-Burk: A tanpa inhibitor, B dengan inhibitor

Terlihat titik potong dengan sumbu mendatar, yaitu $-1/K_m$ tidak berubah, sama keadaan tanpa inhibitor maupun dengan inhibitor. Sebaliknya pada sumbu tegak, yaitu $1/V$, tergeser. K_m besar $[I]$, makin besar harga $1/V'$ atau makin kecil harga V'

c) Inhibitor uncompetitive/tak bersaing

Penghambatan ini disebabkan oleh senyawa yang hanya berikatan dengan kompleks ES dan tidak mampu mengikat enzim bebas. Kemungkinan penyebab penghambatan ini dibagi 2 :

1. Senyawa yang memang mengikatkan diri begitu saja ke kompleks ES yang terbentuk
2. Ikatan enzim dengan substrat menghasilkan kompleks ES yang dapat merubah struktur 3 dimensi pada enzim, sehingga memunculkan situs baru yang dapat dikenali dan diikat oleh inhibitor itu

Ex : enzim aril sulfatase (untuk menghidrolisis ester sulfat dari senyawa hidro aromatik) yang dihambat oleh senyawa hidrazin dan sianida, enzim fosfatase alkali juga dihambat oleh asam amino L-fenilalanin, enzim metionin adenosiltransferase yang mengolah ATP dihambat oleh senyawa S-adenosilmetionin

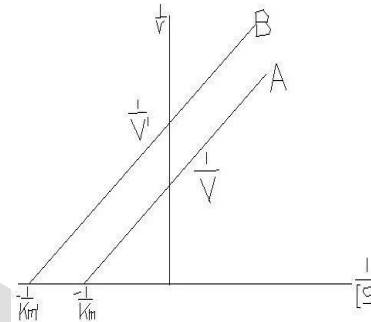
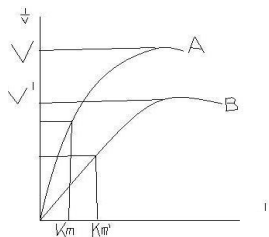
Ki pada kompleks mandul dapat ditulis sebagai berikut :

$$K_i = \frac{[ES][I]}{[ESI]}$$

Sekedar ngingetin aja, bedanya sama yg biasa (K_m) $\rightarrow K_m = \frac{[E][S]}{[ES]}$

$$[E]_T = [E] + [ES] + [ESI]$$

Kurva menten : terlihat K_m bertambah, sedangkan harga V berkurang



Jika dibalikkan maka akan didapatkan persamaan L-Burk

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m'}{V'} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V'}$$

Kurva L-Burk : garis L-burk dalam keadaan terhambat oleh inhibitor ini berjalan tepat sejajar dengan garis tanpa inhibitor. Ini berarti K_m dan V mengalami perubahan.

Penghambatan Irreversibel: Terjadi ikatan menetap antara enzim dengan inhibitor yang membuat enzim tak dapat mengikat dan mengolah substrat (situs katalitik enzimnya). Hal ini disebabkan karena terbentuknya ikatan kovalen antara E-I yang membuat reaksi tak berbalik arah. Senyawa yang menyebabkan denaturasi protein enzim tidak dimasukkan ke golongan penghambatan irreversibel.

Penghambatan ini mengurangi konsentrasi enzim bebas, dapat ditulis sebagai berikut :



Jika ditambah substrat setelah penambahan I, reaksinya tetap tunduk pada persamaan Michaelis-Menten. Harga K_m tidak berubah, tapi V akan mengalami penurunan. Sehingga dapat dituliskan :

$$V' = k_3 ([E] - [I])$$

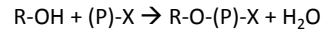
Perbandingan dengan V pada reaksi yang biasanya, $\frac{V'}{V} = \frac{[E] - [I]}{[E]}$

Reaksi ini berbeda dengan yang terjadi pada penghambatan nirsaing, karena terdapat perbedaan pada ada tidaknya faktor K_i (penghambatan nirsaing punya K_i , yang ini nggak) tapi jangan lupa sama2 V nya menurun dan K_m nya nggak berubah.

Situs katalitik enzim itu mengandung 2 gugus asam amino, gugus hidroksil (-OH) dan sulfhidril (SH). Jika situs ini diduduki oleh senyawa pengganggu secara menetap maka keadaan tersebut dinamakan keadaan terhalang (steric hidrance). *sepertinya meskipun enzim memiliki kedua gugus tersebut, ada juga enzim yang salah satu gugusnya akan lebih berperan daripada yang lain -_-"

✚ Gugus OH

Gugus -OH terdapat pada rantai samping serin, tirosin dan treonin. Yang paling luas perannya adalah serin (biasa terdapat pada enzim protease). Gugus -OH tersebut pada umumnya mudah mengalami esterifikasi dengan fosfat yang dirumuskan sebagai berikut :



Pada proses fisiologi, banyak enzim diaktifasi/diinaktifasi dengan cara fosforilasi diatas, kec pada protease serin (tripsin, kimotripsin, elastase, plasmin dan trombin), fosforilasi ini justru menghambat kerja enzim tersebut. Senyawa yang dikenal melakukan fosforilasi tersebut adalah diisopropil fluorofosfat yang kuat menghambat aktivitas enzim protease serin.

Contoh lainnya adalah enzim asetilkolin esterase yang terhambat akibat senyawa fosfat organik. Enzim ini fungsinya buat menghntarkan impuls saraf, jika enzim ini terhambat secara menetap, subjek yang terkena akan mengalami kelumpuhan otot termasuk otot pernafasan. Inilah prinsip penggunaan senyawa terkutuk berupa gas perang seperti serin dan tabun :D

Tapi bisa juga digunakan untuk mengembangkan insektisida yang tergolong dalam organofosfor seperti paration dan malation.

✚ Gugus SH

Gugus SH hanya terdapat dalam satu asam amino saja yaitu sistein yang merupakan analog SH dari serin. Protease juga memerlukan gugus ini untuk menjalankan fungsinya (enzim protease sistein) seperti papain dan bromelain. Gugus SH dapat diikat dengan senyawa iodoasetamid ICH_2-CONH_2 dengan reaksi sebagai berikut :



Karena reaksi ini substrat tak bisa terikat. Inhibitor jenis ini dinamai pengalkil (H pada SH digantikan gugus alkil yang lebih besar dan stabil)

Enzim lain yang memerlukan gugus SH adalah Gliseraldehid-3-fosfat dehidrogenase (termasuk gol oksidoreduktase).

Antienzim

Adalah protein yang dibuat organisme untuk memodulasi kerja enzim (pada umumnya yang dimodulasi adalah enzim yang berpotensi merusak organisme itu sendiri).

Seperti pada reaksi radang, leukosit PMN mengeluarkan enzim elastase (untuk melisiskan jaringan dan menghancurkan benda asing) yang harus bekerja hanya pada tempat terjadinya radang tersebut (jgn sampe kemana2). Nah, yang ngatur adalah protein anti-enzim. Contoh protein anti enzim yang ada serum : α_1 -antitripsin, α_2 -makroglobulin dan antitrombin III

Karena antiprotease menghambat kerja enzim protease serin, berbagai antienzim ini dikelompokkan dengan nama serpin (serin protease inhibitor).

✚ α_1 -antitripsin (AAT)

Merupakan anti protease terbanyak dalam serum yang dihasilkan dari hati. AAT juga mampu menahan aktivitas kimotripsin, trombin, plasmin, dan elastase serta protease lain yang dikeluarkan oleh leukosit PMN dan makrofag, juga enzim hialuronidase dan kolagenase.

Prinsip kerjanya seperti jebakan tikus. Molekul serpin (AAT) punya simpai polipeptida yang menonjol buat umpan si protease. Protease akan memecah polipeptida itu. Tepat pada saat polipeptida itu terurai, simpai tersebut bekerja pegas, sehingga protease yang masih mengikatnya terlempar ke sisi yang berlawanan dan membenturkannya ke permukaan sehingga protease itu rusak.

✚ α_2 -makroglobulin (AMG)

merupakan molekul raksasa yang mampu menghambat aktifitas tripsin, trombin dan plasmin. Seperti AAT, AMG menginaktifkan protease dengan mengikatnya secara kovalen.

✚ Antitrombin III (ATIII)

Fungsi utamanya adalah memodulasi kerja trombin (protease penggumpal darah yang sangat kuat). AT III ini mencegah kecenderungan penggumpalan darah dalam pembuluh darah (koagulasi intravaskuler) seperti pada aterosklerosis. AT III + trombin secara invitro akan menghasilkan kompleks trombin-AT III yang tidak punya aktivitas protease dalam beberapa menit. Jika ditambahkan heparin, kompleks itu akan terjadi seketika. Makanya heparin dipakai sebagai antikoagulan (penghambat penggumpalan darah-pemakaiannya dalam bentuk obat).

✚ Inhibitor esterase

Sebagian besar sistem komplemen merupakan gol protease dan esterase. Kerjanya saling mengaktifkan untuk menyempurnakan kerja antibodi. Inhibitor atau antienzim sistem komplemen contohnya adalah inhibitor esterase C1

Peran Fisiologi penghambatan enzim

Dalam penghambatan secara kompetitif: antara substrat dan inhibitor, jumlah yang lebih banyak, yang akan menang (penghambatan bersifat sementara). Suatu saat, jumlah substrat akan melebihi kompetitornya sehingga reaksi enzimatis berjalan lagi. Mekanisme kompetitif ini menimbulkan terjadinya pengaturan seperti tombol on/off, sehingga metabolisme akan berjalan sesuai keperluan.

Dalam penghambatan secara nirsaing : tidak mengganggu interaksi antara enzim dengan substrat, hanya saja kemampuannya menurun (reaksi enzimatis tidak terhenti hanya melambat). Kecepatan akan dinaikkan lagi jika keadaan diperlukan. Pengaturan nirsaing ditemukan dalam jalur metabolisme yang tak boleh terhenti sedikit pun juga seperti glikolisis :D

Penghambatan secara tak bersaing : karena sangat jarang dijumpai, belum dapat ditafsirkan peran fisiologisnya :O

Penghambatan enzim hidrolase : contohnya, jika kekurangan AAT karena merokok orang yang bersangkutan akan mudah mengalami kerusakan paru2 karena protease yang dilepaskan makrofag paru2 ketika terjadi inhalasi benda asing tak dapat dibatasi kerjanya (ingat! Kan AAT nggak berfungsi). Kalo penyebabnya adalah kelainan genetik, yang bersangkutan mudah mengalami kerusakan struktur hati yang akhirnya menyebabkan sirosis hati.

Anti plasmin penting untuk mengendalikan resorpsi gumpalan darah. Kekeurangan anti enzim ini akan menyebabkan penghancuran protein yang tidak terbatas pada gumpalan darah saja.

Inhibitor esterase C1 : yang menghambat kerja komplemen. Jika kekurangan menyebabkan gejala klinis yang dikenal dengan nama edema angioneurotik.

Daftar singkatan :3

E : enzim

I : inhibitor

S : Substrat

L : ligan

[X] : konsentrasi X

v : kec/laju reaksi

Ko : kompetitor

Km : kesetimbangan reaksi enzimatis

Ki : kesetimbangan reaksi enzimatis yang dihambat inhibitor (Km')

P : produk

Pp: protein pengikat

[E]_T: konsentrasitotal enzim (bebas+terikat substrat+terikat inhibitor)

V : kec/laju reaksi maksimum

V': kec/laju reaksi maks dalam keadaan terdapat inhibitor

Sekian dulu tentir kali ini. Semoga berguna dan Selamat Belajar! Sampai jumpa di tentir yang selanjutnya :D. Oh kalo ada yang berminat untuk ikut "berjuang" bersama buat tentir ini, langsung kasih tau ke SiePend cabang terdekat yah! 2009 BISA! (dapet A semua hahahahaha)!

**- SELAMAT BELAJAR –
2009 BISA!**