

BIOKIMIA METABOLISME:

Metabolisme Karbohidrat dan Fotosintesis

BIOKIMIA METABOLISME:

Metabolisme Karbohidrat dan Fotosintesis

UNDANG-UNDANG REPUBLIK INDONESIA
NO 19 TAHUN 2002
TENTANG HAK CIPTA
PASAL 72
KETENTUAN PIDANA SANGSI PELANGGARAN

1. Barang siapa dengan sengaja dan tanpa hak mengumumkan atau memperbanyak suatu Ciptaan atau memberi izin untuk itu, dipidana dengan pidana penjara paling singkat 1 (satu) bulan dan denda paling sedikit Rp 1.000.000, 00 (satu juta rupiah), atau pidana penjara paling lama 7 (tujuh) tahun dan denda paling banyak Rp 5.000.000.000, 00 (lima milyar rupiah)
2. Barang siapa dengan sengaja menyerahkan, menyiarkan, memamerkan, mengedarkan, atau menjual kepada umum suatu Ciptaan atau barang hasil pelanggaran Hak Cipta atau Hak Terkait sebagaimana dimaksud dalam ayat (1), dipidana dengan pidana penjara paling lama 5 (lima) tahun dan denda paling banyak Rp 500.000.000, 00 (lima ratus juta rupiah).

Minda Azhar

**Penerbit
SUKABINA Press**

BIOKIMIA METABOLISME: Metabolisme Karbohidrat dan Fotosintesis

Penulis :

Prof. Dr. Minda Azhar, M.Si

ISBN : 978-623-7018-85-8

Tata Letak :

Nurul Zikra

Desain Sampul :

Liansyahmora Nasution, S.Pd

Penerbit :

SUKABINA Press

Jl. Parupuk 1, Tabing – Padang

HP/WA : 081261617907

Email : penerbit.sukabina@gmail.com

Anggota IKAPI Pusat

No. Anggota : 007/SBA/09

Cetakan Pertama, Mei 2023

Hak Cipta dilindungi oleh undang-undang pada penulis
Hak penerbitan pada SUKABINA Press

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbil'alamin, atas hidayah dan rahmat-Nya, penulisan buku teks perguruan tinggi dengan judul "**Biokimia Metabolisme: Metabolisme Karbohidrat dan Fotosintesis** telah dapat diselesaikan dengan baik. Ide penulisan buku ini berawal dari kenyataan bahwa jumlah buku-buku biokimia berbahasa Inggris yang berkualitas baik jauh lebih banyak dibandingkan berbahasa Indonesia. Hal ini menjadi kesulitan pertama untuk memahami biokimia dengan baik, terutama bagi mahasiswa S1. Buku ini ditulis untuk mengatasi salah satu kesulitan mahasiswa tersebut. Setiap bab penulisan pada buku ini dimulai dari hal yang sederhana sampai informasi tentang biokimia yang lebih mutakhir. Oleh sebab itu, buku ini sangat cocok dibaca oleh mahasiswa yang mempelajari biokimia metabolisme pada tingkat S1, S2 maupun sebagai pemula untuk mahasiswa S3. Buku ini juga bermanfaat bagi dosen yang mengajarkan biokimia.

Biokimia secara sederhana dapat didefinisikan sebagai '**kimia dari kehidupan**' (*Biochemistry is chemistry of life*) yaitu ilmu yang mempelajari reaksi pada makhluk hidup. Pengetahuan biokimia membantu kita memahami makhluk hidup sampai pada tingkat molekuler. Pengetahuan ini dapat digunakan pada berbagai bidang keilmuan yang objeknya adalah makhluk hidup. Oleh sebab itu, biokimia dipelajari pada berbagai bidang yang berhubungan dengan makhluk hidup, seperti kedokteran, pertanian, peternakan, perikanan, pangan, kesehatan, dan farmasi. Dengan demikian, buku ini juga bermanfaat bagi mahasiswa kedokteran, mahasiswa pertanian, mahasiswa peternakan, mahasiswa yang mempelajari pangan, mahasiswa keperawatan, dan mahasiswa farmasi.

Pembahasan biokimia dapat dikelompokkan menjadi tiga topik utama, yaitu (1) **struktur molekul penyusun makhluk hidup** yang dikaitkan pada hubungan antara struktur dan fungsi biologi molekul penyusun makhluk hidup; (2) **metabolisme** yang terjadi pada makhluk hidup dan regulasinya; (3) dan **pewarisan sifat sel**. Buku yang berada di hadapan Anda ini merupakan Buku Biokimia untuk

Perguruan Tinggi bagian "metabolisme" yang diberi judul "Biokimia Metabolisme". Buku ini merupakan bagian ke-1 dari buku 'Biokimia Metabolisme' yang menjelaskan metabolisme karbohidrat dan fotosintesis yang diberi judul "Biokimia Metabolisme: Metabolisme Karbohidrat dan Fotosintesis". Buku ini terdiri dari lima bab. Bab I merupakan pendahuluan yang menjelaskan pengertian biokimia dan ruang lingkupnya, pengelompokan makhluk hidup, peranan biokimia pada kehidupan. Bab II. Gambaran Umum Metabolisme menjelaskan anabolisme dan katabolisme, reaksi ampibolik, tahap utama metabolisme, prebiotik dan probiotik, model jalur metabolisme, dan regulasinya. Bab III. Siklus Energi di Dalam Sel menjelaskan ATP, NADH, FADH₂ dan NADPH. Bab IV. Metabolisme Karbohidrat menjelaskan jalur utama oksidasi glukosa, jalur glikolisis, siklus TCA, jalur glukoneogenesis, regulasi, fosforilasi oksidatif, metabolisme glikogen, jalur lain metabolisme karbohidrat, dan penyakit genetik. Bab V. Fotosintesis menjelaskan reaksi terang dan reaksi gelap fotosintesis dan deretan reaksinya, kloroplas, siklus Calvin, lintas Hatch-Slack dan jalur *Crassulacean Acid Metabolism* (CAM).

Terealisasinya buku ini tak lepas dari budi baik dari berbagai pihak. Terimakasih kepada kelompok peneliti biokimia ITB yang telah berbagi ilmu, dan berdiskusi tentang perkembangan biokimia pada tingkat molekuler. Terimakasih kepada teman, sahabat, mahasiswa-mahasiswaku, dan semua pihak yang namanya tidak disebutkan yang telah memberikan inspirasi untuk penulisan buku ini. Terimakasih kepada Selvi Apriliana Putri, S.Si yang telah menerjemahkan beberapa kasus dari buku teks biokimia. Pada buku ini kasus tersebut terdapat pada akhir setiap BAB. Terimakasih kepada Ananda Nurul Zikra untuk *layout* dan desain sampul. Semoga Allah membalas semua kebaikan. Aamiin.

Semoga hidayah Allah, lindungan dan rahmat-Nya selalu bersama kita, Aamiin. Semoga buku ini bermanfaat bagi mahasiswa, guru, dosen, dan masyarakat yang mempelajari biokimia untuk pemahaman yang lebih baik. Semoga buku ini menjadi sumber pahala yang tiada habisnya. Aamiin.

Padang, Mei 2023
Minda Azhar

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI.....	iii
DAFTAR GAMBAR.....	v
DAFTAR TABEL	ix
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Ruang Lingkup Biokimia	1
B. Keistimewaan Makhluk Hidup	3
C. Karakteristik Makhluk Hidup	4
D. Pengelompokan Makhluk Hidup	6
E. Kesimpulan	13
F. Latihan dan Kasus.....	15
BAB II GAMBARAN UMUM METABOLISME	17
A. Metabolisme : Anabolisme dan Katabolisme	18
B. Reaksi Anabolik, Katabolik dan Reaksi Ampibolik	21
C. Tahap Utama Metabolisme	23
D. Prebiotik dan Probiotik	29
E. Model Jalur Metabolisme	34
F. Regulasi Jalur Metabolik	36
G. Kesimpulan	46
H. Latihan dan Kasus.....	47
BAB III SIKLUS ENERGI DI DALAM SEL	50
A. ATP (<i>Adenosine Triphosphate</i>)	50
B. NADH, FADH ₂ dan NADPH	56
C. Kesimpulan	62
D. Latihan dan Kasus.....	62
BAB IV METABOLISME KARBOHIDRAT.....	65
A. Jalur Glukosa	65
B. Tahap Utama Oksidasi Glukosa	66
C. Jalur Glikolisis	67
D. Tiga Jalur Penting Setelah Glikolisis.....	79
E. Jalur Glukoneogenesis	85

F. Pengendalian pada Jalur Glikolisis dan Glukoneogenesis	92
G. Metabolisme Heksosa Selain Glukosa	95
H. Perubahan <i>Pyruvate</i> ke <i>Acetyl-CoA</i>	97
I. Pengendalian Konversi <i>Pyruvate</i> ke <i>Acetyl-CoA</i>	103
J. Siklus Krebs	105
K. Pengendalian pada Siklus TCA	111
L. Fosforilasi Oksidatif	112
M. NADH <i>Shuttle</i>	130
N. Metabolisme Glikogen	139
O. Regulasi Metabolik Glikogen pada Mamalia	146
P. Jalur Lain Metabolisme Karbohidrat	150
Q. Penyakit Genetik Metabolisme Karbohidrat	159
R. Kesimpulan	163
S. Latihan dan Kasus	167
BAB V FOTOSINTESIS	173
A. Hakekat Fotosintesis	175
B. Reaksi Terang dan Reaksi Gelap pada Fotosintesis	177
C. Kloroplas	179
D. Pigment Penyerap Cahaya pada Fotosintesis	182
E. Kompleks Protein-Membran dan Transport Elektron 'Mobile'	188
F. Deretan Reaksi pada Reaksi Terang	201
G. Sintesis ATP pada Fotofosforilasi	204
H. Fiksasi CO ₂ : Siklus Calvin	207
I. Lintas Hatch-Slack	216
J. Jalur <i>Crassulacean Acid Metabolism (CAM)</i>	221
K. Biosintesis Sukrosa dan Pati pada Tumbuhan	223
L. Biosintesis Selulosa Tumbuhan	227
M. Kesimpulan	231
N. Latihan dan Kasus	237
DAFTAR REFERENSI	243
GLOSARIUM	244
INDEKS	251

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Pohon Filogenetika Tiga Domain Kehidupan	10
2. Pengelompokan Organisme Berdasarkan Sumber Energi	11
3. Kelompok Mikroorganisme Berdasarkan Perbedaan Suhu Optimal Tumbuh	13
4. Anabolisme dan Katabolisme	19
5. Tiga Tahap Utama Metabolisme	24
6. Pencernaan Karbohidrat, Protein dan Trigliserida	26
7. Reaksi Hidrolisis Disakarida, Dipeptida dan Trigliserida	27
8. Struktur Inulin	30
9. Mikrobiota Kolon Manusia	32
10. Model Jalur Metabolik	35
11. Diagram Operon Laktosa <i>E. coli</i>	37
12. Enzim Allosterik	38
13. Pola Modulasi Enzim Allosterik pada Jalur Sintesis Isoleusin	39
14. Tipe Enzim Modifikasi Kovalen	41
15. Perubahan <i>Phosphorylase b (inactive)</i> Menjadi <i>Phosphorylase a (active)</i>	42
16. Konformasi <i>T state (a)</i> dan <i>R state (b)</i> Satu Subunit <i>Phosphorilase</i>	42
17. Amplifikasi Kaskade oleh <i>Epinephrine</i>	45
18. Hubungan Energi antara Jalur Katabolisme dan Anabolisme	51
19. Struktur ATP, ADP dan AMP	52
20. Aliran Gugus Fosforil dari Senyawa Berenergi Tinggi ke Rendah	55
21. Struktur NAD ⁺ dan NADP ⁺	57
22. Struktur FAD dan FADH ₂ Bagian Aktif Ditandai	58
23. Jalur Utama Pemanfaatan Glukosa	66
24. Tahap Utama Respirasi Sel	68
25. Dua Fase pada Jalur Glikolisis	71
26. Tiga Jalur Penting Setelah Glikolisis	80
27. Energi yang Terlibat pada Tiga Jalur Setelah Glikolisis	81

28. Siklus Cori.....	82
29. Reaksi Akhir Fermentasi Laktat.....	84
30. Dua Reaksi Akhir Fermentasi Alkohol	85
31. Prekursor Jalur Glukoneogenesis pada Binatang, dan Tumbuhan	86
32. Glikolisis, Glukoneogenesis dengan Prekursor <i>Pyruvate</i>	89
33. Tempat Reaksi Konversi <i>Pyruvate</i> Menjadi <i>Oxaloacetate</i>	91
34. Pengendalian pada Jalur Glikolisis dan Glukoneogenes	94
35. Metabolisme Fruktosa.....	96
36. Metabolisme Mannosa	96
37. Metabolisme Galaktosa.....	97
38. Perubahan <i>Pyruvate</i> Menjadi <i>Acetyl-CoA</i>	98
39. Deretan Reaksi Konversi <i>Pyruvate</i> Menjadi <i>Acetyl-CoA</i>	99
40. <i>Thiamine Diphosphate</i> (TDP)	100
41. <i>Lipoamide</i>	100
42. <i>Coenzyme-A</i> (CoA).....	101
43. Regulasi E2 dan E3 dari <i>Pyruvate Dehydrogenase Complex</i>	104
44. Regulasi E1 dari <i>Pyruvate Dehydrogenase Complex</i>	104
45. Siklus TCA.....	107
46. Regulasi Siklus TCA	112
47. Struktur Mitokondria	114
48. Rantai Transport Elektron	115
49. Hipotesis <i>Chemiosmotic</i>	116
50. Fosforilasi Oksidatif	117
51. Struktur NADH: <i>Ubiquinone Oxidoreductase</i> dan Aliran Elektron.....	119
52. Struktur <i>Succinate Dehydrogenase (Complex II)</i> dan Aliran Elektron.....	120
53. Aliran Transfer Elektron dan Proton pada <i>Complex III</i>	122
54. Struktur <i>Complex III</i>	122
55. Struktur <i>Complex IV</i> , Aliran Elektron dan Proton.....	123
56. Aliran Elektron dan Proton pada Empat <i>Complex Rantai</i> <i>Respirasi</i>	124
57. Struktur <i>ATP Synthase</i>	127
58. Pembentukan dan Pelepasan ATP pada Sisi Aktif <i>ATP</i> <i>Synthase</i>	129
59. <i>Malate-aspartate Shuttle</i>	133

60. <i>Glycerol 3-phosphate Shuttle</i>	134
61. Regulasi Jalur Produksi ATP.....	137
62. Inhibitor Rantai Transfer Elektron.....	139
63. Aksi <i>Glycogen Phosphorylase</i> pada Glikogenolisis.....	141
64. Aksi Enzim $\alpha(1\rightarrow6)$ <i>Glycosidase (Debranching Enzyme)</i>	142
65. Aksi <i>Phosphoglucomutase</i> pada Degradasi Glikogen	142
66. Sintesis Glikogen pada Eukariot.....	143
67. Konversi <i>Glucose-1-phosphate</i> ke <i>UDP-glucose</i>	144
68. Penambahan <i>UDP-glucose</i> pada Glikogen Utama	145
69. Aksi <i>Branching Enzyme</i> pada Sintesis Glikogen	145
70. Nasib <i>Glucose 6-phosphate</i>	147
71. Regulasi <i>Glycogen Phosphorylase</i>	148
72. Regulasi <i>Cascade</i> untuk Degradasi Glikogen.....	150
73. Jalur <i>Glyoxylate</i>	153
74. Skema Pemotongan Rangka Karbon pada Jalur Pentosa Fosfat	155
75. Jalur Pentosa Fosfat	156
76. Hubungan Reaksi Terang dengan Reaksi Gelap	178
77. Struktur Kloroplas	180
78. Distribusi Fotosistem I, Fotosistem II, <i>ATP Synthase</i> dan Cyt pada Membran <i>Thylakoid</i>	181
79. Struktur Lipid Membran <i>Thylakoid</i>	181
80. Kompleks Protein-membran Fotosintesis pada Tumbuh.....	182
81. Penyerapan Cahaya Nampak oleh Fotopigmen Fotosintesis..	183
82. Struktur Fotopigmen.....	184
83. Transfer Energi Cahaya dari Pigmen Klorofil Antena ke Molekul Klorofil <i>Special Pair</i>	186
84. Aliran Energi dari Kompleks Antena Fotosintetik (Hijau Muda) Ke Reaksi Pusat Fotosintetik, RCs (orange).....	187
85. Struktur Sinar-X LH2 dari <i>Rs molischianum</i>	187
86. Struktur sinar-X LHC-II dari Kloroplas Tanaman.....	188
87. Struktur Kompleks Protein-Membran dan Protein Larut Fotosintesis Tumbuhan.....	189
88. Struktur Sinar-X <i>photosystem II</i> dari <i>T. Elongatus</i>	190
89. Penataan Kofaktor Transfer-Elektron PSII dari <i>T.elongatus</i>	191
90. Perubahan <i>Plastoquinone</i> ke <i>Plastoquinol</i>	192

91. Skema dari <i>Mangan Center</i>	193
92. Distribusi Proton pada Stroma dan Lumen <i>Thylakoid</i>	194
93. Struktur <i>Cytochrome b6f</i>	195
94. Pemompaan Proton Melalui <i>Cytochrome b6f</i>	196
95. Struktur <i>Plastocyanin</i>	197
96. Struktur <i>Photosystem I</i>	198
97. <i>Ferredoxin (Fd)</i>	200
98. (A) Struktur <i>Ferredoxin-NADP⁺ reductase</i> Berinteraksi dengan <i>Ferredoxin</i> . (B) Reaksi Redoks Fd_{red} dengan $NADP^{+}$	201
99. Skema Z Fotosintesis.....	203
100. Perjalanan Elektron dan Proton pada Membran <i>Thylakoid</i>	206
101. Asimilasi CO_2 Masuk ke Biomassa pada Tumbuhan.....	208
102. Siklus Calvin.....	210
103. Mekanisme Karboksilasi Berkataliskan Rubisco pada Ribulose 1,5 <i>Biphosphate</i> ke Bentuk Dua Molekul 3- <i>Phosphoglycerate</i>	211
104. Tahap ke-2 Asimilasi CO_2	213
105. Tahap ke-3 Asimilasi CO_2	214
106. Deretan Reaksi pada Siklus Calvin.....	217
107. Lintas Hatch-Slack (Jalur C_4).....	219
108. Reaksi Khas pada Jalur C_4	220
109. Jalur CAM.....	222
110. Biosintesis Pati di Kloroplas.....	224
111. Getah Kaya Sukrosa dari Pohon.....	225
112. Biosintesis Sukrosa dari <i>Glyceraldehyde-3-phosphate</i> dan <i>Dihydroxyacetone Phosphate</i> dalam Sitosol.....	226
113. Struktur Selulosa.....	228
114. Gambar yang Diusulkan untuk Sintesis Selulosa pada Tumbuhan.....	229

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. <i>Bacteria</i> dan <i>Archaea</i> yang Ditemukan pada Daerah Ekstrim.....	9
2. ΔG° Reaksi Hidrolisis Beberapa Senyawa Ber- <i>Phosphate</i>	53
3. Potensial Reduksi Standar Beberapa Reaksi Biologi.....	60
4. Deretan Reaksi pada Jalur Glikolisis Eukariot.....	78
5. Deretan Reaksi Glukoneogenesis dengan Prekursor <i>Pyruvate</i> ..	88
6. Koenzim dan Jumlah Subunit Tiga Enzim pada <i>Pyruvate</i> <i>Dehydrogenase Complex</i>	99
7. Deretan Reaksi pada Siklus TCA.....	106
8. Komponen Enzim Kompleks dari Rantai Transport Elektron pada Mitokondria.....	117
9. Oksidasi Sempurna Satu Molekul Glukosa.....	136
10. Penyakit Turunan Penyimpanan Glikogen pada Manusia.....	160

BAB I

PENDAHULUAN

A. Ruang Lingkup Biokimia

B iokimia secara sederhana dapat didefinisikan sebagai 'kimia dari kehidupan' (*Biochemistry is chemistry of life*) yaitu ilmu yang mempelajari reaksi pada makhluk hidup. Biokimia merupakan disiplin ilmu yang menggunakan prinsip bahasa kimia untuk menjelaskan makhluk hidup. Lebih dari seratus tahun yang lalu, ahli biokimia telah menemukan senyawa kimia dan proses metabolisme sentral yang sama pada makhluk hidup seperti yang ditemukan pada bakteri, tumbuhan, hewan, dan manusia. Meskipun ahli biokimia memfokuskan riset pada metabolisme makhluk hidup/organisme spesies tertentu, tetapi riset tersebut dapat digunakan untuk banyak spesies. Sekarang telah diketahui bahwa prinsip dasar biokimia adalah umum untuk semua makhluk hidup.

Moran LA *et al*, (2012) menulis dalam bukunya '**biokimia adalah sains modern**'. Biokimia muncul sebagai sains yang berdiri sendiri hanya dalam waktu 100 tahun yang lalu, tetapi kemunculan biokimia sebagai sains modern telah dipersiapkan berabad-abad sebelumnya. Kemajuan pesat penemuan prinsip dasar kimia seperti kinetika reaksi dan komposisi atom pada molekul sederhana telah ditemukan sebelum tahun 1900. Banyak senyawa-senyawa yang dihasilkan makhluk hidup telah diidentifikasi pada akhir abad ke 19. Sejak itu, biokimia menjadi sebuah disiplin ilmu yang terorganisasi dan ahli-ahli biokimia telah menjelaskan banyak proses kimia dari berbagai bidang kehidupan seperti bidang kedokteran, kesehatan, pertanian, peternakan, dan pangan. Contoh topik menarik pada biokimia adalah penyebab penyakit dan pengobatannya serta pentingnya nutrisi bagi kesehatan. Contoh menarik lainnya pada saat ini adalah enzim yang tetap aktif/stabil karena panas yang dikenal dengan

enzim termostabil. Kebanyakan enzim termostabil diekspresikan oleh mikroorganisme kelompok *Archaea*. Penelitian enzim dan gen pengkodennya dari *Archaea* banyak menarik perhatian peneliti saat ini karena mempunyai aplikasi yang luas pada berbagai industri. Pertumbuhan biokimia dan pengaruhnya pada disiplin ilmu lain terus berlanjut seiring bergulirnya waktu.

Beberapa pertanyaan yang berhubungan dengan biokimia, antara lain: Bagaimana struktur kimia dan struktur tiga dimensi molekul yang terdapat pada makhluk hidup? Bagaimana molekul ini dapat membentuk struktur seperti ini dan bagaimana sifat-sifatnya? Bagaimana hubungan struktur protein dengan sifat dan fungsinya? Bagaimana mekanisme molekuler katalis enzim? Bagaimana reseptor mengenal dan berikatan dengan molekul spesifik? Bagaimana informasi genetik diekspresikan dan ditransmisikan pada generasi berikutnya? Bagaimana molekul pada makhluk hidup disintesis? Bagaimana pengontrolan/regulasi metabolisme? Bagaimana sel dan organisme bertumbuh, membelah, dan bereproduksi? Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa **biokimia adalah studi tentang makhluk hidup sampai tingkat molekuler**. Pengetahuan biokimia membantu kita memahami kehidupan makhluk hidup pada tingkat molekuler. Pengetahuan ini dapat digunakan pada berbagai bidang keilmuan yang objeknya adalah makhluk hidup. Oleh sebab itu, biokimia dipelajari pada berbagai bidang yang berhubungan dengan makhluk hidup, seperti kedokteran, pertanian, peternakan, perikanan, pangan, kesehatan, farmasi, dan kelautan. Dengan mempelajari biokimia, kita dapat melihat dan merasakan begitu sangat menakjubkan proses kimia yang terjadi pada makhluk hidup.

Pembahasan biokimia dapat dibagi dalam **tiga topik utama** yaitu (1) struktur biokimia yang difokuskan pada **struktur molekul penyusun makhluk hidup** yang dikaitkan pada hubungan antara **struktur molekul dan fungsi biologi** molekul penyusun makhluk hidup; (2) **proses metabolisme** yang terjadi pada makhluk hidup dan **regulasinya serta energi yang terlibat**; (3) informasi biokimia yang dihubungkan dengan proses kimia dan senyawa yang menyimpan dan mentransmisikan informasi biologi yang dikenal sebagai **pewarisan sifat sel**. Makromolekul-makromolekul pada sel hidup dapat bergabung dengan makromolekul lain membentuk kompleks

supramolekul seperti membran, dinding sel, kromosom, dan virus. Deretan reaksi pada pembentukan atau degradasi molekul komponen sel hidup tersebut dikenal dengan metabolisme. Setiap reaksi pada sederetan reaksi metabolisme dikatalisis oleh enzim. Dengan demikian, deretan reaksi pada metabolisme berlangsung cepat. Walaupun reaksi berlangsung cepat, deretan reaksi tersebut diregulasi agar kadar metabolit di dalam sel tetap.

Tema penting biokimia adalah reaksi kimia yang terjadi di dalam sel. Jenis reaksi ini sama dengan jenis reaksi yang terjadi pada laboratorium kimia. Perbedaan penting adalah hampir semua reaksi pada sel hidup dikatalisis oleh enzim. Dengan demikian, kecepatan reaksi pada sel hidup berlangsung sangat cepat. Enzim mempercepat reaksi tanpa melanggar mekanisme reaksi dasar kimia organik.

Buku ini merupakan bagian ke-1 dari buku 'biokimia metabolisme'. Buku ini berisikan gambaran umum metabolisme, siklus energi di dalam sel, metabolisme karbohidrat, fotosintesis dan metabolisme lipid yang terdiri dari beberapa subbab. Bab awal pada buku ini berisikan ruang lingkup biokimia, gambaran umum metabolisme, dan siklus energi di dalam sel. Pada bab metabolisme karbohidrat dijelaskan antara lain metabolisme glukosa serta regulasinya, metabolisme selain glukosa, metabolisme glikogen, jalur lain metabolisme karbohidrat seperti jalur glyoxylate, jalur pentosa fosfat. Pada bab ini juga dijelaskan penyakit genetik terkait metabolisme karbohidrat. Pada bab fotosintesis dijelaskan hakekat reaksi gelap dan reaksi terang, kloroplas, kompleks protein-membran, sintesis ATP pada fotofosporilasi, Siklus Calvin, Lintas Hatch-Slack serta jalur CAM (*Crassulacean Acid Metabolism*).

B. Keistimewaan Makhluk Hidup

Makhluk hidup mempunyai kemampuan untuk mengekstrak energi dari nutrisi yang digunakannya. Energi ini berguna untuk melakukan berbagai fungsi. Makhluk hidup mempunyai tenaga untuk merespon lingkungannya. Makhluk hidup mempunyai kemampuan bertumbuh dan membelah. Namun sesungguhnya makhluk hidup adalah kehidupan yang mempunyai fenomena yang kompleks. **Makhluk hidup tersusun atas molekul yang pada dasarnya merupakan benda mati**. Benda mati tersebut bergabung,

berinteraksi dan membentuk 'kehidupan'. Mengapa pada kenyataannya organisme hidup sama sekali berbeda dari benda mati? **Kekuatan apa yang membuat mereka "hidup"** (*life bukan on*)? Sampai sekarang biokimia belum mempunyai penjelasan yang memuaskan? Oleh sebab itu, kita tidak mungkin mendefinisikan 'makhluk hidup' dengan tepat. Bagaimanapun juga Norman Horowitz mengusulkan kriteria makhluk hidup adalah memiliki ciri-ciri bereplikasi, mengkatalisis dan berubah-ubah (Voet *et al.*, 2011:3).

Keunikan dan keragaman makhluk hidup muncul bahkan pada tingkat selular. Makhluk hidup paling sederhana terdiri dari satu sel, dan sangat mikroskopik. Makhluk hidup yang kompleks merupakan organisme multiseluler yang mengandung tipe sel berbeda, bervariasi ukuran, bentuk dan fungsi khususnya.

Unit terkecil dari kehidupan adalah sel. Ada dua klasifikasi utama sel yaitu sel eukariot (*eukaryotes*, bahasa Yunani; *eu* 'baik' atau 'benar', *karyon* 'inti') yang mempunyai membran melingkupi DNA genomnya yang dikenal sebagai *nucleus* 'inti'; dan sel prokariot (*prokaryotes*, bahasa Yunani: *pro* 'sebelum') yang tidak mempunyai organel ini. DNA prokariot tidak dibungkus membran tetapi tetap berada pada sitoplasma yang dinamakan dengan *nucleoid* 'daerah inti'. Prokariot meliputi bermacam-macam tipe bakteri. Prokariot merupakan organisme yang paling banyak dan tersebar luas di bumi. Prokariot ditemukan pada hampir setiap lingkungan bumi dari sumber sulfur panas sampai di bawah dasar lautan. Hal ini karena prokariot mempunyai kemampuan adaptasi yang luar biasa terhadap lingkungan yang bervariasi. Oleh sebab itu, jumlah prokariot diperkirakan mewakili sekitar setengah biomassa bumi.

C. Karakteristik Makhluk Hidup

Begitu sangat mudahnya kita memutuskan 'sesuatu' termasuk makhluk hidup atau bukan. Hal ini karena makhluk hidup memperlihatkan fenomena yang khas yang membedakannya dengan benda mati. Makhluk hidup mempunyai kemampuan untuk mengekstrak energi dari nutrisi yang digunakannya. Energi ini berguna untuk melakukan berbagai fungsi. Makhluk hidup mempunyai tenaga untuk merespon lingkungannya. Makhluk hidup mempunyai kemampuan bertumbuh dan membelah. Namun

sesungguhnya makhluk hidup adalah kehidupan yang mempunyai fenomena yang kompleks. **Makhluk hidup tersusun atas molekul yang pada dasarnya merupakan benda mati.** Benda mati tersebut bergabung, berinteraksi dan membentuk 'kehidupan'. Mengapa pada kenyataannya organisme hidup sama sekali berbeda dari benda mati? **Kekuatan apa yang membuat mereka "hidup"** (*life bukan on*)? Sampai sekarang biokimia belum mempunyai penjelasan yang memuaskan? Oleh sebab itu, kita tidak mungkin mendefinisikan 'makhluk hidup' dengan tepat. Bagaimanapun juga Norman Horowitz mengusulkan kriteria makhluk hidup adalah memiliki ciri-ciri bereplikasi, mengkatalisis dan berubah-ubah (Voet *et al.*, 2011:3).

Keunikan dan keragaman makhluk hidup muncul bahkan pada tingkat selular. Makhluk hidup paling sederhana terdiri dari satu sel, dan sangat mikroskopik. Makhluk hidup yang kompleks merupakan organisme multiseluler yang mengandung tipe sel berbeda, bervariasi ukuran, bentuk dan fungsi khususnya. Organisme hidup tersusun atas molekul yang pada dasarnya merupakan benda mati. Karakteristik makhluk hidup paling utama yang membedakannya dengan benda mati adalah makhluk hidup dapat berkembang biak (bereproduksi). Hal ini mengindikasikan bahwa makhluk hidup bereplikasi. Karakteristik makhluk hidup yang lain adalah sebagai berikut:

1. Makhluk hidup tersusun atas sel.
Makhluk hidup paling sederhana terdiri dari satu sel, sedangkan yang lebih kompleks tersusun dari banyak sel. Setiap isi sel dilindungi oleh membran sitoplasma.
2. Makhluk hidup mengalami pertumbuhan dan perkembangan.
Pertumbuhan menyebabkan ukuran sel menjadi semakin besar dan jumlah sel semakin bertambah. Pertambahan tinggi atau pertambahan berat suatu organisme merupakan tanda makhluk hidup bertumbuh. Selain bertumbuh, sel-sel makhluk hidup mengalami perkembangan. Perkembangan meliputi perubahan sel menjadi bentuk yang berbeda sehingga dapat menjalankan fungsi tertentu.
3. Makhluk hidup melakukan metabolisme.
Pada tubuh makhluk hidup terjadi berbagai deretan reaksi pembentukan dan penguraian senyawa-senyawa yang dikenal

sebagai metabolisme. Setiap reaksi pada metabolisme dikatalisis oleh enzim. Metabolisme terjadi terus-menerus, sehingga sel tubuh makhluk hidup selalu dalam keadaan lingkungan internal yang seimbang dan konstan.

4. Makhluk hidup memberikan respons terhadap rangsangan. Setiap makhluk hidup sensitif terhadap rangsangan, baik yang berasal dari dalam maupun dari luar tubuh. Rangsangan yang diterima makhluk hidup antara lain perubahan warna, intensitas cahaya, suhu, tekanan, kadar air, dan suara.
5. Makhluk hidup mempunyai kemampuan beradaptasi dengan lingkungan. Kemampuan adaptasi membuat makhluk hidup dapat bertahan meskipun pada keadaan lingkungan yang senantiasa berubah-ubah.

D. Pengelompokan Makhluk Hidup

Unit terkecil dari kehidupan adalah sel. Ada dua klasifikasi utama sel yaitu **sel eukariot** (*eukaryotes*, bahasa Yunani; *eu* 'baik' atau 'benar', *karyon* 'inti') yang mempunyai membran melingkupi DNA genomnya yang dikenal sebagai *nucleus* 'inti'; dan **sel prokariot** (*prokaryotes*, bahasa Yunani; *pro* 'sebelum') yang tidak mempunyai organel ini. DNA prokariot tidak dibungkus membran tetapi tetap berada pada sitoplasma yang dinamakan dengan *nucleoid* 'daerah inti'. Prokariot meliputi bermacam-macam tipe bakteri. Prokariot merupakan organisme yang paling banyak dan tersebar luas di bumi. Prokariot ditemukan pada hampir setiap lingkungan bumi dari sumber sulfur panas sampai di bawah dasar lautan. Hal ini karena prokariot mempunyai kemampuan adaptasi yang luar biasa terhadap lingkungan yang bervariasi. Oleh sebab itu, jumlah prokariot diperkirakan mewakili sekitar setengah biomassa bumi.

Prokariot pertama kali diamati pada tahun 1683 oleh penemu mikroskop Antonie van Leeuwenhoek. Umumnya, prokariot mempunyai ukuran 1-10 μ m. Prokariot mendiami lingkungan aerob pada suhu tubuh kita. Jenis prokariot tertentu berkembang pada kondisi lingkungan yang ekstrim, seperti lingkungan yang sangat asam, sangat basa, suhu tinggi (setinggi 130°C) dan kekurangan oksigen. Lingkungan ekstrim ini tidak cocok untuk eukariot. Kecepatan reproduksi prokariot cepat. Kebanyakan spesies prokariot

membelah kurang dari 20 menit. Kebanyakan prokariot mempunyai kemampuan untuk membentuk spora yang memungkinkan prokariot bertahan pada kondisi yang tidak cocok.

Prokariot mempunyai struktur yang relatif sederhana dan selalu uniseluler. Kebanyakan eukariot merupakan multiseluler dan ada yang uniseluler. Eukariot jauh lebih kompleks dibandingkan prokariot. Contoh eukariot yang paling sederhana dan telah banyak dimanfaatkan untuk kehidupan kita adalah *Saccharomyces cerevisiae*. *Saccharomyces cerevisiae* merupakan eukariot yang paling banyak dipelajari. Bagaimana dengan virus? Virus lebih sederhana daripada sel prokariot. Virus tidak dikelompokkan sebagai makhluk hidup karena virus tidak dapat bereproduksi di luar sel inangnya. Pada prinsipnya, virus merupakan gabungan beberapa makromolekul.

Sel prokariot mempunyai tiga bentuk dasar, yaitu berbentuk bola (*cocci*), berbentuk batang (*bacilli*) dan berbentuk spiral melingkar (*spirilla*). Walaupun bentuknya berbeda sel prokariot dilingkupi membran sitoplasma yang tebalnya sekitar 70Å. Sel prokariot juga mempunyai tiga struktur dinding sel yang berbeda sehingga dikenal *mycoplasmas*, **bakteri gram-positif**, dan **bakteri gram-negatif**. Dinding sel *mycoplasmas* kurang kaku dibandingkan prokariot lainnya. *Mycoplasmas* merupakan sel yang paling kecil ukuran diameternya yaitu sekecil 0,12 μ m dan memiliki sekitar 20% DNA dari DNA *E.coli*. Mungkin jumlah informasi genetik ini mendekati jumlah minimum yang diperlukan untuk 'mesin metabolik esensial' yang dibutuhkan bagi kehidupan seluler. Bakteri gram-positif dan bakteri gram-negatif dapat dibedakan dengan pewarnaan **gram stain**, prosedur yang pertamakali dikembangkan pada tahun 1884 oleh Christian Gram. Bakteri gram-negatif memiliki membran luar yang kompleks yang mengelilingi dinding selnya sehingga menghalangi pewarnaan gram. Bakteri gram-positif tidak memiliki membran luar ini sehingga tidak menghalangi perwarnaan gram.

Prokariot terdiri dari dua domain, yaitu *Bacteria* (juga dikenal sebagai *Eubacteria*) dan *Archaea* (juga dikenal sebagai *Archaeobacteria*). Domain ini terlihat jelas jika prokariot dibedakan berdasarkan sekuens basa nukleotida ribosomal RNA (rRNA). Jika dilakukan analisis sekuens basa nukleotida pada rRNA, makhluk hidup

mengelompok dalam tiga kelompok, yaitu *Bacteria*, *Archaea*, dan *Eukarya*. Terdapat sejumlah sifat biokimia dasar yang membedakan *Bacteria*, *Archaea*, *Eukarya*, tetapi ada sifat biokimia umum dimiliki kelompok tersebut. Penentuan sekuens basa nukleotida rRNA mengungkapkan bahwa sekuens rRNA *Eukarya* memiliki kemiripan dengan sekuens rRNA *Archaea*, sedangkan sekuens rRNA *Eukarya* tidak memiliki kemiripan dengan sekuens rRNA *Bacteria*. Hal ini dapat menunjukkan bahwa *Bacteria* dan *Archaea* bercabang dari bentuk kehidupan purba sederhana diikuti *Eukarya* bercabang dari *Archaea*. Dengan demikian, *Archaea* lebih dekat hubungannya dengan *Eukarya* dibandingkan dengan *Bacteria*. Hubungan ini ditunjukkan sebagai pohon filogenetika (*Phylogenetic tree*) (Gambar 1).

1. *Bacteria* (*Eubacteria*)

Bacteria mendiami tanah, permukaan air, dan jaringan organisme hidup atau organisme pembusuk. Kelompok ini termasuk bakteri gram-positif seperti *purple bacteria* (*proteobacteria*), *cyanobacteria*, dan *flavobacteria*. Bakteri yang paling banyak dipelajari dengan baik adalah *Escherichia coli*. Bakteri ini telah setengah abad menjadi model sistem biologi.

2. *Archaea* (*Archaeobacteria*)

Banyak *Archaea* dikenal sebagai domain yang berbeda oleh Carl Woese pada tahun 1980-an. *Archaea* merupakan kelompok prokariot yang umumnya ditemukan pada lingkungan ekstrim, seperti danau dengan kadar garam tinggi, sumber air panas, rawa dengan keasaman tinggi, dan laut dalam dengan kadar garam yang sangat tinggi. *Archaea* awalnya muncul terdiri dari tiga jenis mikroorganisme yang berbeda yang merupakan organisme yang tidak biasa ditemukan sebelumnya, yaitu *methanogens*, kelompok prokariot anaerob yang menghasilkan metana oleh reduksi CO₂ dengan H₂; *halobacteria*, kelompok prokariot yang dapat hidup hanya pada konsentrasi air garam yang tinggi (>2M NaCl) dan *thermomoacidophile*, mikroorganisme yang mendiami lingkungan panas berasam (sekitar 90°C dan pH<2). Walaupun demikian, beberapa *Bacteria* juga ditemukan pada daerah ekstrim. Tabel 1 dimuat kelompok *Bacteria* dan *Archaea* yang ditemukan pada daerah

ekstrim, yaitu pada suhu tinggi dan suhu rendah, pada pH rendah dan pH tinggi, tekanan tinggi, dan pada garam konsentrasi tinggi.

Bukti baru menunjukkan bahwa sekitar 40% mikroorganisme yang berada di lautan adalah *Archaea*. Oleh sebab itu, *Archaea* mungkin merupakan kehidupan yang paling umum di bumi. Karena keunikan *Archaea*, sekarang penelitian banyak difokuskan pada kelompok mikroorganisme ini. Penelitian ditujukan antara lain untuk mengambil manfaat dari enzim termostabil yang diekspresikannya agar enzim tersebut dapat dimanfaatkan pada berbagai industri seperti industri kertas, pangan, dan obat-obatan.

Tabel 1. *Bacteria* dan *Archaea* yang Ditemukan pada Daerah Ekstrim

Ekstrim	Istilah	Spesies	Domain	Habitat	Min	Op	Mak	
Suhu	Tinggi	<i>Hiperthermo Phile</i>	<i>Methanopyrus kandleri</i>	Archaea	Lubang berangin hidrotermal bawah laut	90°C	106°C	122°C
	Rendah	<i>Psychrophile</i>	<i>Psychromonas ingrahamii</i>	Bacteria	Es laut	-12°C	5°C	10°C
pH	Rendah	<i>Acidophile</i>	<i>Picrophilus oshimae</i>	Archaea	Hot spring berasam	-0,06	0,7	4
	Tinggi	<i>Alkaliphile</i>	<i>Natronobacterium gregoryi</i>	Archaea	Danau soda	8,5	10	12
Tekanan	<i>Barophile (Piezophile)</i>	<i>Moritella yananosii</i>	Bacteria	Sendimen laut dalam	500 atm	700 atm	>1000 Atm	
Garam (NaCl)	<i>Halophile</i>	<i>Halobacterium salinarum</i>	Archaea	Pegaraman	15%	25%	32%	

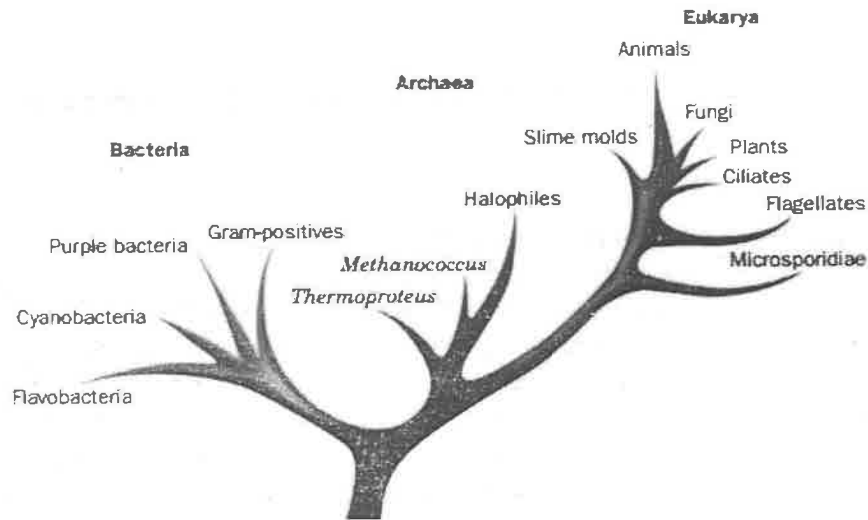
(Sumber: Madigan *et al.*, 2012:38)

3. *Eukarya* (*Eukaryotes*)

Diameter sel eukariot umumnya berkisar antara 10-100µm. Dengan demikian, volume sel eukariot seribu sampai sejuta kali ukuran volume sel prokariot. Pada kenyataannya struktur dan fungsi eukariot lebih kompleks daripada prokariot pada level pengorganisasian tingkat molekuler. Kompleksitas eukariot menjadikan ukurannya lebih besar dan pertumbuhannya lebih lambat dibandingkan sel prokariot. Karakteristik eukariot yang penting adalah mempunyai organel sel bermembran tertutup (*membrane-enclosed organelles*) seperti mitokondria, kloroplas. Organel ini tidak dimiliki oleh sel prokariot. Kelompok yang termasuk

eukariot adalah ragi, jamur lendir (*slime mold*), binatang, jamur (*fungi*), tumbuhan, binatang bersel tunggal (*ciliates*), *flagellates*, dan *microsporidiae* (Gambar 1).

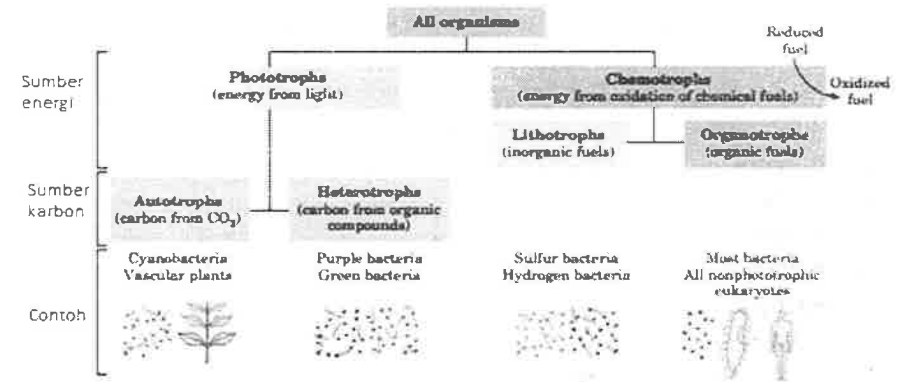
Pada domain *Bacteria*, dan *Archaea* terdapat subgrup yang dibedakan oleh habitatnya. Pada habitat **aerob** suplai oksigen berlimpah. Organisme aerob memperoleh energi dari transfer elektron molekul bahan bakar ke oksigen. Lingkungan lainnya adalah **anaerob**, yaitu lingkungan yang hampir tanpa oksigen. Mikroorganisme anaerob beradaptasi pada lingkungan ini dengan memperoleh energi akibat transfer elektron ke nitrat (pembentukan N_2), sulfat (pembentukan H_2S), atau CO_2 (pembentukan CH_4). Organisme yang berevolusi pada lingkungan anaerob adalah *obligate anaerob*. Organisme ini akan mati jika terkena oksigen. Lain halnya dengan *facultative anaerob*, organisme ini dapat hidup dengan oksigen atau tanpa oksigen.



Gambar 1. Pohon Pilogenetika Tiga Domain Kehidupan (Voet et al., 2011:7)

Selain klasifikasi di atas, organisme dapat juga diklasifikasikan menurut bagaimana organisme tersebut memperoleh energi dan

sumber karbon yang diperlukan untuk mensintesis material selnya (Gambar 2).



Gambar 2. Pengelompokan Organisme Berdasarkan Sumber Energi (Nelson et al., 2013:4)

Ada dua kategori utama organisme berdasarkan sumber energi yang dibutuhkan yaitu :

1. Phototrophs

Phototrophs (Bahasa Yunani *trophe* 'makanan') menangkap dan menggunakan cahaya matahari. Kelompok *phototrophs* yang memerlukan karbon dari CO_2 dinamakan *autotrophs*, sedangkan yang membutuhkan karbon dari nutrisi organik adalah *heterotrophs*. *Autotrophs* kadang-kadang dinamakan juga produser primer karena mensintesis senyawa organik baru dari CO_2 untuk kebutuhannya dan kebutuhan *heterotrophs*. *Cyanobacteria* dan tumbuhan vascular termasuk *autotrophs*, sedangkan bakteri ungu dan bakteri hijau termasuk *heterotrophs*.

2. Chemotrophs

Chemotrophs memperoleh energi dari oksidasi bahan bakar kimia. Beberapa *chemotrophs* adalah *lithotrophs*, mengoksidasi bahan bakar inorganik, seperti HS^- ke S^0 , S^{2-} ke SO_4^{2-} , NO_2^- ke NO_3^- , Fe^{2+} ke Fe^{3+} . Oleh sebab itu, *chemotrophs* ini dinamakan juga *Chemolithotrophs* (Yunani:

lithos, batu). **Organotrophs** mengoksidasi senyawa organik yang tersedia pada lingkungannya. Bakteri sulfur dan bakteri hidrogen termasuk *lithotrops*, sedangkan kebanyakan bakteri dan semua eukariot *nonphototrops* termasuk kelompok *organotrophs*. Dengan demikian, manusia termasuk kelompok *organotrophs* yang menggunakan produk metabolisme dari kelompok *autotrops* terutama tumbuhan.

Selain pengelompokan organisme berdasarkan bagaimana organisme tersebut memperoleh energi dan karbon yang diperlukan untuk mensintesis material selnya. Organisme dapat juga dikelompokkan berdasarkan suhu optimal tumbuhnya (Gambar 3). Berdasarkan suhu optimal tumbuhnya, terdapat empat kelompok mikroorganisme yang berbeda, yaitu *Psychrophiles*, *Mesophiles*, *Thermophiles*, dan *Hyperthermophiles*.

1. Psychrophiles

Psychrophiles tumbuh optimal pada suhu rendah. *Psychrophiles* ditemukan di lingkungan luar biasa dingin. *Polaromonas vacuolata* merupakan contoh *psychrophile* yang tumbuh optimal pada suhu 4°C.

2. Mesophiles

Mesophiles tersebar luas di alam. *Mesophiles* tumbuh optimal pada suhu optimal menengah. *Mesophiles* ditemukan pada hewan berdarah panas, di darat, dan di lingkungan berair pada suhu sedang, dan lintang tropikal. *E.coli* adalah *mesophile*. Suhu optimum untuk kebanyakan strain *E.coli* mendekati suhu 39°C, suhu maksimum 48°C, dan suhu minimum 8°C. Dengan demikian, *E.coli* tumbuh optimal pada suhu sekitar 39°C.

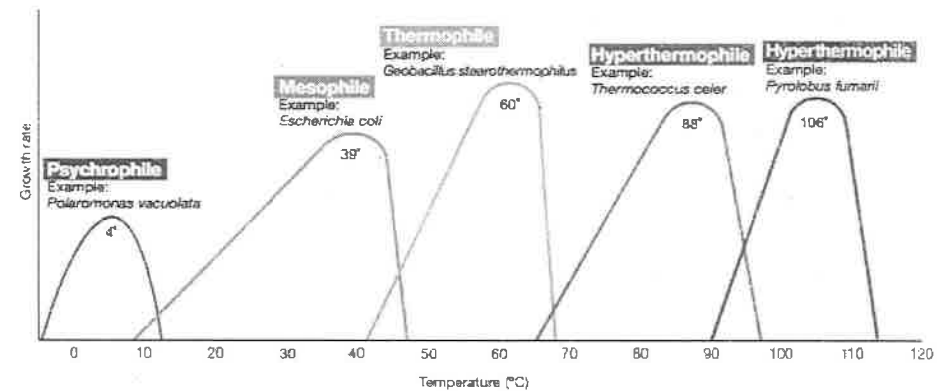
3. Thermophiles

Thermophiles tumbuh optimal pada suhu tinggi. *Thermophiles* ditemukan pada lingkungan panas. *Geobacillus stearothermophilus* merupakan contoh *thermophile* yang tumbuh optimal pada suhu 60°C.

4. Hyperthermophiles

Hyperthermophiles tumbuh optimal pada suhu sangat tinggi. *Hyperthermophiles* ditemukan pada lingkungan luar biasa panas

seperti *hot spring*, *geyser* dan lubang *hydrothermal* laut-dalam. *Thermococcus celer* merupakan contoh *hyperthermophile* yang tumbuh optimal pada suhu 88°C, sedangkan *Pyrolobus fumarii* tumbuh optimal pada suhu 106°C. Mikroorganisme yang dapat hidup pada lingkungan ekstrim dinamakan *extremophile*. Lingkungan ekstrim adalah lingkungan yang tidak lazim seperti lingkungan yang sangat dingin, lingkungan sangat panas, lingkungan bertekanan tinggi, lingkungan dengan pH rendah atau pH tinggi, dan lingkungan dengan kadar garam yang tinggi. *Archae* umumnya ditemukan pada lingkungan ekstrim ini. Oleh sebab itu, penelitian tentang *Archae* sangat menarik dengan harapan ditemukan protein-protein yang mempunyai karakteristik unik yang tetap stabil pada suhu tinggi.



Gambar 3. Kelompok Mikroorganisme Berdasarkan Perbedaan Suhu Optimal Tumbuh (Madigan et al., 2012:135)

E. Kesimpulan

Ruang Lingkup Biokimia

Biokimia adalah sains modern. Pembahasan biokimia dapat dikelompokkan menjadi tiga topik utama yaitu (1) struktur biokimia yang difokuskan pada struktur molekul penyusun makhluk hidup yang dikaitkan pada hubungan antara struktur molekul dan fungsi biologi molekul penyusun makhluk hidup; (2) proses metabolisme yang terjadi pada makhluk hidup dan regulasinya serta energi yang terlibat; (3) informasi biokimia yang dihubungkan dengan proses

kimia dan senyawa yang menyimpan dan mentransmisikan informasi biologi yang dikenal sebagai **pewarisan sifat sel**.

Keistimewaan Makhluk Hidup

Makhluk hidup mempunyai kemampuan untuk mengekstrak energi dari nutrisi yang digunakannya. Energi ini berguna untuk melakukan berbagai fungsi Makhluk hidup mempunyai kemampuan bertumbuh dan membelah. **Makhluk hidup tersusun atas molekul yang pada dasarnya merupakan benda mati**. Kriteria makhluk hidup memiliki ciri-ciri bereplikasi, mengkatalisis dan berubah-ubah.

Pengelompokan Makhluk Hidup

Unit terkecil dari kehidupan adalah sel. Ada dua klasifikasi utama sel yaitu **sel eukariot** (*eukaryotes*, bahasa Yunani; *eu* 'baik' atau 'benar', *karyon* 'inti') yang mempunyai membran melingkupi DNA genomnya yang dikenal sebagai *nucleus* 'inti'; dan **sel prokariot** (*prokaryotes*, bahasa Yunani: *pro* 'sebelum') yang tidak mempunyai organel ini. Sel prokariot mempunyai tiga bentuk dasar, yaitu berbentuk bola (*cocci*), berbentuk batang (*bacilli*) dan berbentuk spiral melingkar (*spirilla*). Sel prokariot juga mempunyai tiga struktur dinding sel yang berbeda sehingga dikenal **bakteri gram-positip**, dan **bakteri gram-negatif**.

Jika dilakukan analisis sekuens basa nukleotida pada rRNA, makhluk hidup mengelompok dalam tiga kelompok, yaitu *Bacteria*, *Archaea*, dan *Eukarya*. Terdapat sejumlah sifat biokimia dasar yang membedakan *Bacteria*, *Archaea*, *Eukarya*, tetapi ada sifat biokimia umum yang dimiliki kelompok tersebut.

Organisme hidup dapat juga diklasifikasikan menurut bagaimana organisme tersebut memperoleh energi dan sumber karbon yang diperlukan untuk mensintesis material selnya. Ada dua kategori utama organisme berdasarkan sumber energi yang dibutuhkan yaitu : *Phototrophs* dan *chemotrop*. Berdasarkan suhu optimal tumbuhnya, terdapat empat kelompok mikroorganisme yang berbeda, yaitu *Psychrophiles*, *Mesophiles*, *Thermophiles*, dan *Hyperthermophiles*.

F. Latihan dan Kasus

Latihan

1. Makhluk hidup berbeda dengan benda mati. Makhluk hidup tersusun atas molekul yang pada dasarnya merupakan benda mati. Jelaskan pernyataan ini.
2. Jelaskan pengelompokan makhluk hidup. Apakah perbedaan setiap pengelompokan tersebut.
3. Bakteri gram positip, berbeda dengan bakteri gram negatif. Apakah perbedaannya? Bagaimana cara membedakannya?

Kasus

1. Jika saudara memperbesar sel 10.000 kali lipat (pembesaran yang biasanya dicapai dengan menggunakan mikroskop elektron), seberapa besar tampilannya? Asumsikan saudara sedang melihat sel eukariotik dengan diameter sel 50 μm .
2. Glukosa adalah nutrisi penghasil energi utama bagi sebagian besar sel. Dengan asumsi konsentrasi glukosa seluler 1 mM (yaitu, 1 milimol/L), hitung berapa banyak molekul glukosa dalam sel eukariotik. (Bilangan Avogadro, 1 mol molekul adalah $6,02 \times 10^{23}$)
3. **Inisiasi Transkripsi di Eukariotik**
Aktivitas RNA polimerase baru ditemukan dalam ekstrak murni sel yang berasal dari jamur eksotis. RNA polimerase memulai transkripsi dari satu promotor khusus. Jika RNA polimerase dimurnikan, aktivitasnya menurun, dan enzim RNA polimerase yang dimurnikan sama sekali tidak aktif kecuali ekstrak murni ditambahkan ke dalam campuran reaksi. Sarankan penjelasan untuk pengamatan ini.

Referensi

Buku

- Campbell MK., Farrell SO. (2006). *Biochemistry*, 5th ed. USA: Thomson Books/Cole.
- Madigan MT, Martinko JM, Stahl DA, Clark DP. (2012). *Brock Biology of Microorganisms*, 13th ed. San Francisco: Benjamin Cumming.
- Moran LA, Horton HR, Scringeour KG, Perry MD. (2012). *Principle of Biochemistry*, 5th ed. USA: Pearson Education, Inc.
- Nelson DL, Cox MM. (2013). *Lehninger Principles of Biochemistry*. 6th ed, New York: WH Freeman and Company.
- Voet D, Voet JG. (2011). *Biochemistry*. 4th edition .USA: John Wiley & Sons Inc

Artikel pada jurnal

- Baker GC, Smith JJ, Cowan DA (2003) Review and re-analysis of domain-specific 16S primers. *Journal of Microbiological Methods*. 55:541-555.
- Barton HA (2006). Introduction to cave microbiology: a review for the non-specialist. *Journal of Cave and Karst Studies*, 68:43-54.

BAB II GAMBARAN UMUM METABOLISME

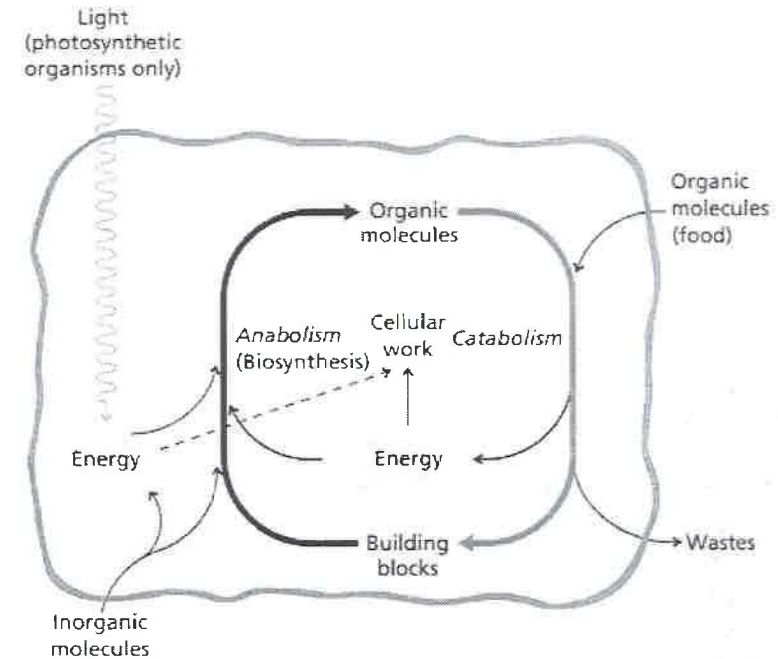
Jika kita amati organisme satu sel (uniseluler) seperti bakteri, ragi atau organisme multiseluler seperti manusia, binatang, tumbuh-tumbuhan, kita menemukan begitu sangat bervariasi adaptasi biologinya. Yang sangat mengagumkan dari organisme tersebut adalah biokimia dari sel tersebut mirip tidak hanya pada komposisi kimia dan struktur komponen sel tetapi juga pada rute metaboliknya. Dengan demikian, pemahaman yang baik **jalur universal metabolik adalah kunci untuk mengerti metabolisme**. Jika Anda telah mempelajari jalur fundamental metabolik, maka Anda akan dapat memperkirakan jalur metabolik tambahan yang terlibat pada beberapa spesies. Tujuan utama mempelajari metabolisme adalah untuk mengerti bagaimana organisme menggunakan sejumlah energi melalui jalur metaboliknya.

Metabolisme pada buku ini menggambarkan reaksi metabolik yang berlangsung pada kebanyakan spesies yang dikenal sebagai **jalur universal metabolik**. Sebagai contoh adalah jalur degradasi glukosa (jalur glikolisis) dan jalur biosintesis glukosa (jalur glukoneogenesis) serta siklus Krebs. Ketiga jalur ini dimiliki oleh hampir semua spesies dari organisme yang sederhana (uniseluler) sampai organisme multiseluler (kompleks). Meskipun kebanyakan sel mempunyai jalur metabolik yang sama, perbedaan metabolisme sel dan organisme adalah memungkinkan karena penambahan reaksi enzimatik spesifik pada jaringan atau spesies tertentu. Pada bab ini dijelaskan istilah-istilah yang berhubungan dengan metabolisme, tahap utama metabolisme, model dan regulasi jalur metabolik, serta siklus energi di dalam sel. Pada buku ini dijelaskan terutama jalur universal metabolik.

A. Metabolisme : Anabolisme dan Katabolisme

Metabolisme merupakan keseluruhan reaksi-reaksi yang terjadi di dalam sel hidup. Reaksi-reaksi tersebut saling berkaitan membentuk suatu jaringan deretan reaksi-reaksi yang amat terkoordinasi yang setiap reaksinya dikatalisis oleh enzim. Deretan reaksi ini digunakan untuk merubah molekul besar menjadi molekul yang lebih kecil atau sebaliknya. Oleh sebab itu, metabolisme dikelompokkan menjadi dua bagian yaitu katabolisme dan anabolisme. Katabolisme dan anabolisme terjadi bersamaan di dalam sel dengan kecepatan prosesnya yang diatur/diregulasi. Anabolisme lebih dominan pada waktu pertumbuhan dan reproduksi, sedangkan katabolisme lebih dominan pada saat melakukan aktivitas seperti berolahraga, dan berfikir.

Anabolisme merupakan deretan reaksi yang bukan sebaliknya dari deretan reaksi katabolisme. **Katabolisme** merupakan deretan reaksi yang berkaitan dengan degradasi enzimatik senyawa-senyawa kompleks (seperti glikogen, pati, trigliserida dan protein) menjadi molekul-molekul yang lebih kecil (seperti asam laktat, ammonia, karbondioksida dan air). **Anabolisme** disebut juga biosintesis yang merupakan biosintesis enzimatik komponen-komponen sel (seperti asam nukleat, protein, trigliserida, glikogen, pati) dari *building block* atau dari prekursornya. Jalur katabolik merupakan jalur penghasil energi kimia. Energi ini digunakan pada jalur anabolik (Gambar 4). Dengan demikian dapat disimpulkan fungsi metabolisme adalah (1) untuk memperoleh energi kimia dari degradasi molekul yang kaya energi atau dari sinar matahari; (2) untuk mengubah molekul **nutrien** menjadi prekursor atau unit pembangun (monomer) untuk kebutuhan sintesis makromolekul sel; (3) untuk menggabungkan unit-unit pembangun ini menjadi protein, asam nukleat, polisakarida dan komponen sel lain; (4). mensintesis dan mendegradasi biomolekul yang dibutuhkan untuk fungsi seluler, seperti lipid membran, messenger intraseluler dan pigmen. Katabolisme dan anabolisme terjadi bersamaan di dalam sel dengan kecepatan prosesnya yang diatur/diregulasi.



Gambar 4. Anabolisme dan Katabolisme
(Moran *et al.*, 2012:295)

Sel hidup mempertahankan keteraturan internalnya di dalam keadaan kesetimbangan dinamis dengan mempergunakan molekul-molekul nutrient dan sinar matahari yang diperoleh dari lingkungannya. Molekul nutrient diubah ke bentuk molekul lain dan energi matahari diubah ke dalam bentuk energi kimia melalui sederetan reaksi yang amat terkoordinasi. Deretan reaksi tersebut membentuk jalur metabolik. **Jalur metabolik (metabolic pathway)** merupakan sederetan reaksi enzimatik yang berurutan dimana produk suatu reaksi menjadi substrat untuk reaksi berikutnya yang akhirnya menghasilkan produk spesifik. Deretan reaksi pada suatu jalur metabolik dapat terdiri dari dua atau lebih reaksi. Jalur metabolik yang umumnya terjadi pada semua makhluk hidup dan merupakan jalur zat makanan sel yang relatif panjang seperti karbohidrat, lemak dan protein dikenal dengan **metabolisme primer**.

Pada jalur ini, aliran metabolit relatif besar. Jalur-jalur metabolik yang termasuk metabolisme primer antara lain jalur glikolisis, jalur glukoneogenesis, siklus TCA, jalur glikogenolisis, dan jalur glikogenesis.

Jalur metabolik lain yang memiliki densitas aliran metabolit yang jauh lebih kecil termasuk pembentukan dan penguraian senyawa dalam jumlah hanya mg perhari dikenal dengan **metabolisme sekunder**. Ini termasuk pembentukan produk-produk khusus yang diperlukan oleh sel hanya dalam jumlah sedikit. Semua senyawa yang berkaitan dengan reaksi metabolisme seperti reaktan, senyawa intermediet dan senyawa produk disebut **metabolit**. Zat awal dari suatu jalur metabolik dinamakan **prekursor**. Suatu prekursor mungkin merupakan metabolit jalur lain. Dengan demikian terdapat metabolit penghubung pada suatu jalur metabolik ke jalur metabolik lainnya yang mengakibatkan jalur-jalur metabolik saling terhubung. Peta jalur metabolik dapat dilihat pada web <http://www.iubmb-nicholson.org/>. Nicholson (Donald Nicholson, D.Sc., 1916-2012) membuat jalur metabolik dengan tulisan tangan yang dicetak pertamakali pada tahun 1960. Nicholson meninggal pada Sabtu 12 May 2012 pada usia 96 tahun. Peta jalur metabolik yang dimuat pada web tersebut merupakan edisi yang ke-22 yang didesain oleh Nicholson.

Jalur metabolik mempunyai lima karakteristik (Voet *et al.*, 2011) yaitu; (1). Jalur metabolik merupakan **jalur irreversibel**. Jalur metabolik degradasi glukosa menjadi *Pyruvate* (glikolisis) bukan kebalikan dari jalur sintesis glukosa dari *Pyruvate* (glukoneogenesis); (2) Jalur katabolik dan jalur anabolik merupakan jalur yang berbeda. Perbedaan jalur ini memudahkan pengontrolan reaksi di dalam sel; (3) Setiap jalur metabolik mempunyai langkah awal yang tetap; (4) Semua jalur metabolik diregulasi. Regulasi umumnya terjadi pada reaksi pertama setiap jalur metabolik yaitu pada enzim yang mengkatalisis reaksi pertama pada jalur metabolik tersebut; (5) Jalur metabolik pada sel eukariot terjadi di dalam lokasi spesifik di dalam sel. Pada mitokondria terjadi siklus asam sitrat (siklus Krebs), transport elektron dan fosforilasi oksidatif, oksidasi asam lemak dan degradasi asam amino. Pada sitosol terjadi reaksi-reaksi jalur glikolisis, jalur pentosa fosfat, biosintesis asam lemak, sebagian besar

reaksi glukoneogenesis. Pada inti sel terjadi replikasi DNA, transkripsi. Pada retikulum endoplasmik halus (*smooth endoplasmic reticulum*) terjadi biosintesis lipid dan steroid.

B. Reaksi Anabolik, Katabolik dan Reaksi Ampibolik

Pada metabolisme dikenal tiga jenis reaksi yaitu reaksi anabolik, reaksi katabolik dan reaksi *amphibolic*. Pada katabolisme terlibat reaksi katabolik, sedangkan pada anabolisme terlibat reaksi anabolik. Reaksi ampibolik terlibat pada katabolisme dan anabolisme. **Reaksi anabolik** mensintesis semua senyawa yang diperlukan untuk pemeliharaan, pertumbuhan dan reproduksi sel. Reaksi ini meliputi sintesis molekul kecil seperti asam amino, nukleotida, vitamin sampai sintesis molekul besar seperti protein, lipid kompleks, asam nukleat. Pada beberapa spesies, semua molekul kompleks yang membangun sel disintesis dari prekursor inorganik seperti karbondioksida, ammonia, *inorganic phosphate*. Beberapa spesies mendorong energi dari molekul inorganik ini atau dari kreasi potensial membran. Organisme fotosintetik menggunakan energi cahaya untuk mendorong reaksi biosintesis (Bab V).

Reaksi katabolik mendegradasi molekul besar untuk membebaskan molekul lebih kecil dan sejumlah energi (Gambar 4). Semua sel melakukan reaksi degradasi sebagai bagian dari metabolisme sel yang normal tetapi beberapa spesies bergantung pada reaksi katabolik hanya sebagai sumber energi. Binatang sebagai contoh, membutuhkan molekul organik sebagai makanan. Pelajaran reaksi katabolik yang menghasilkan energi pada mamalia dinamakan **metabolisme bahan bakar** (*fuel metabolism*). Sumber asal bahan bakar ini adalah jalur biosintetik pada spesies lain. Yang perlu diingat kembali adalah bahwa reaksi katabolik melibatkan degradasi senyawa yang disintesis sel hidup pada sel yang sama, atau pada sel yang berbeda pada individu yang sama atau pada sel dari organisme yang berbeda.

Reaksi yang melibatkan kedua jalur anabolik dan jalur katabolik termasuk dalam kelompok reaksi yang ketiga yaitu **reaksi ampibolik** (*amphibolic reaction*). Reaksi pada siklus Krebs adalah contoh reaksi ampibolik. Sel hidup mempertahankan keteraturan internalnya di dalam keadaan kesetimbangan dinamis dengan melakukan

anabolisme dan katabolisme. Anabolisme dan katabolisme dilewati dalam beberapa tahap seperti dijelaskan pada subbab tahap metabolisme.

Apakah hubungan metabolisme dengan sekuens lengkap genomnya? Sekuens lengkap genom dari sejumlah spesies telah ditentukan. Keseluruhan jaringan metabolik spesies ini berdasarkan sekuens gen yang mengkode enzim metabolik. *Escherichia coli* sebagai contoh mempunyai hanya 900 gen yang mengkode enzim metabolik dan enzim ini terkoordinasi untuk menciptakan 130 jalur metabolik yang berbeda. Beberapa spesies mengandung jalur metabolik tambahan. Bakteri yang menyebabkan tuberkulosis, *Mycobacterium tuberculosis* mempunyai kira-kira 250 enzim yang terlibat dalam metabolisme asam lemak. Genom ragi *Saccharomyces cerevisiae* mengandung 5.900 gen yang mengkode protein. Dari jumlah ini 1.200 (20%) mengkode enzim yang terlibat pada metabolisme antara dan energi. Genom nematoda *Caenorhabditis elegans*, suatu multi selular binatang mengode 19.000 protein, 5.300 (28%) dibutuhkan pada berbagai jalur metabolisme. Nah, genom manusia mempunyai sekitar 22.000 gen. Jumlah pasti gen yang dibutuhkan untuk metabolisme dasar pada manusia belum diketahui tetapi diperkirakan sekitar 5.000 gen.

Walaupun metabolisme setiap organisme mempunyai karakteristik tertentu, tetapi metabolisme mempunyai gambaran umum yang sama. Gambaran umum metabolisme adalah sebagai berikut :

1. Organisme atau sel memelihara konsentrasi internal spesifik dari ion inorganik, metabolit dan enzim. Membran sel merupakan pembatas fisik yang memisahkan komponen sel dari bagian-bagian lain di dalam sel atau dari lingkungannya.
2. Organisme mengekstrak energi dari sumber luar untuk mendorong reaksi yang membutuhkan energi. Organisme fotosintesis memperoleh energi dari perubahan energi matahari ke energi kimia. Organisme lainnya memperoleh energi dari katabolisme senyawa yang menghasilkan energi.
3. Jalur metabolik pada setiap organisme dicirikan oleh gen yang terkandung dalam genom organisme tersebut.

4. Organisme dan sel berinteraksi dengan lingkungannya jika suplai energi dari lingkungan berlimpah. Aktivitas sel diarahkan untuk menyediakan energi yang digunakan untuk reproduksi dan pertumbuhan. Jika suplai energi dari lingkungan terbatas, kebutuhan energi dapat diperoleh sesaat dari penyimpanan internal atau kecepatan metabolisme diperlambat seperti pada keadaan istirahat tanpa aktivitas, dan pada pembentukan biji. Jika kekurangan energi berlarut-larut, maka organisme akan mati.
5. Sel dari organisme tidak statis. Komponen-komponen sel secara kontinu didegradasi dan disintesis. Perubahan konsentrasi senyawanya merupakan respon untuk merubah kondisi eksternal atau internalnya.

C. Tahap Utama Metabolisme

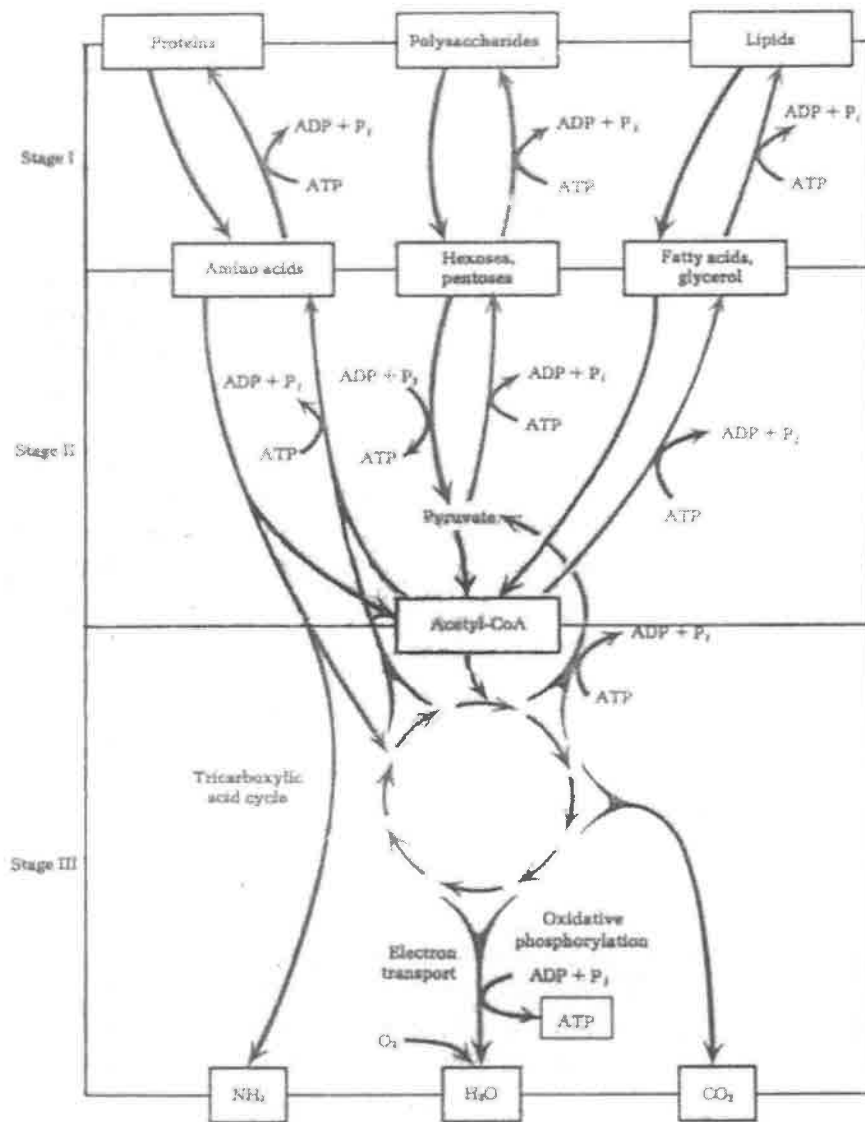
Tahap I Katabolisme

Terdapat **tiga tahap utama pada katabolisme dan anabolisme** (Gambar 5). Sekarang marilah kita perhatikan **jalur katabolik**-nya. Pada **tahap I. Biomolekul besar dihidrolisis menjadi unit-unit pembangunnya**. Tahap I dapat terjadi pada proses pencernaan atau di dalam sel. Bila biomolekul besar terdapat pada makanan, maka proses pada tahap I terjadi pada pencernaan. Proses pencernaan pada hakekatnya merubah molekul-molekul besar pada makanan menjadi unit pembangunnya. Proses tersebut dikatalisis oleh enzim pencernaan.

Polisakarida dihidrolisis menjadi monosakarida, protein dihidrolisis menjadi asam amino, gliserida dihidrolisis menjadi asam lemak dan gliserol. Molekul-molekul hasil hidrolisis tersebut diserap di usus halus dan memasuki aliran darah menuju sel yang memerlukan. Ringkasan proses pencernaan yang menghidrolisis polisakarida, protein dan trigliserida yang terdapat pada makanan dimuat pada Gambar 6. Di dalam sel, molekul-molekul tersebut mengalami katabolisme selanjutnya (Tahap II dan Tahap III).

Polisakarida (seperti: glikogen, amilosa, amilopektin) dihidrolisis menjadi monosakarida. Proses ini mulai di mulut dimana *amylase* mulai mengkatalisis reaksi hidrolisis pati. Pencernaan

berlanjut di usus halus dimana *amylase pancreas* selanjutnya mengkatalisis reaksi hidrolisis pati menjadi maltosa. *Maltase* meng-



Gambar 5. Tiga Tahap Utama Metabolisme (Lehninger, 1975:372)

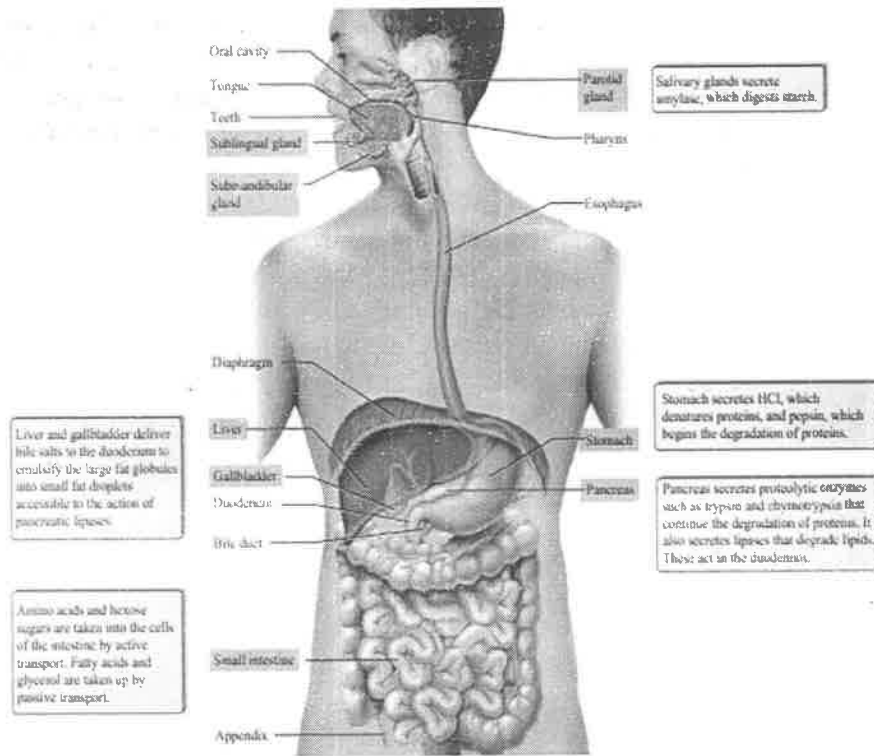
katalisis reaksi hidrolisis maltosa menghasilkan glukosa. Dengan cara yang mirip sukrosa dihidrolisis menjadi glukosa dan fruktosa oleh sukrase dan laktosa dihidrolisis menjadi glukosa dan galaktosa oleh laktase. Selanjutnya monosakarida ini memasuki epitel sel usus halus dengan cara transport aktif.

Pencernaan protein mulai di lambung. Lambung mempunyai pH rendah yaitu sekitar 2 (pH optimum enzim pepsin) sebagai akibat sekresi asam klorida (HCl) oleh sel khusus pada lambung. pH yang rendah mengakibatkan protein terdenaturasi. Protein yang terdenaturasi lebih mudah dihidrolisis oleh enzim pepsin di lambung. Hidrolisis protein dilanjutkan di usus halus yang dikatalisis oleh enzim tripsin, kimotripsin, elastase dan protease lainnya. Produk pencernaan protein adalah asam-asam amino dan oligopeptida berantai pendek. Molekul-molekul ini selanjutnya memasuki epitel usus halus dengan cara transport aktif.

Pencernaan lemak atau minyak tidak dimulai sampai makanan yang mengandung lemak mencapai usus halus walaupun terdapat lipase pada cairan lambung. Lemak sampai di duodenum (bagian awal yang pendek dari usus halus) membentuk globula lemak yang besar. Garam empedu yang dihasilkan hati mengakibatkan terbentuknya emulsi dengan butiran-butiran lemak yang kecil. Keadaan ini membuat enzim *lypase* pankreas lebih mudah mengkatalisis reaksi hidrolisis lipid. Enzim ini mengkatalisis reaksi hidrolisis trigliserida menjadi asam lemak dan gliserol yang selanjutnya memasuki sel usus halus dengan proses yang tidak memerlukan energi. Proses ini dinamakan transport pasif. Reaksi hidrolisis disakarida, dipeptida dan trigliserida pada Gambar 7.

Bahan makanan yang tidak mengalami proses pencernaan masuk ke dalam usus besar untuk selanjutnya difermentasi oleh bakteri yang hidup di usus besar atau dikeluarkan dari tubuh melalui anus. Bahan makanan tersebut ada yang dapat dikelompokkan sebagai *dietary fiber*. *Dietary fiber* adalah kelompok karbohidrat yang tidak dapat dihidrolisis oleh enzim tubuh manusia tetapi difermentasi oleh mikroflora usus besar sehingga berpengaruh pada fungsi usus dan parameter lipid darah. *Dietary fiber* yang larut dalam air lebih mudah difermentasi dibandingkan dengan *dietary fiber* yang tidak larut. *Dietary fiber* yang larut mudah dan cepat difermentasi

oleh *bifidobacteria* usus, akibatnya menaikkan biomasanya dalam feces dan menghasilkan sejumlah besar produk fermentasi di usus besar terutama *short chain fatty acids* (SCFA) dan *L-lactate*. Senyawa-senyawa ini ternyata mempengaruhi metabolisme lipid tubuh. *Dietary fiber* yang mempunyai sifat seperti ini dikenal sebagai prebiotik.

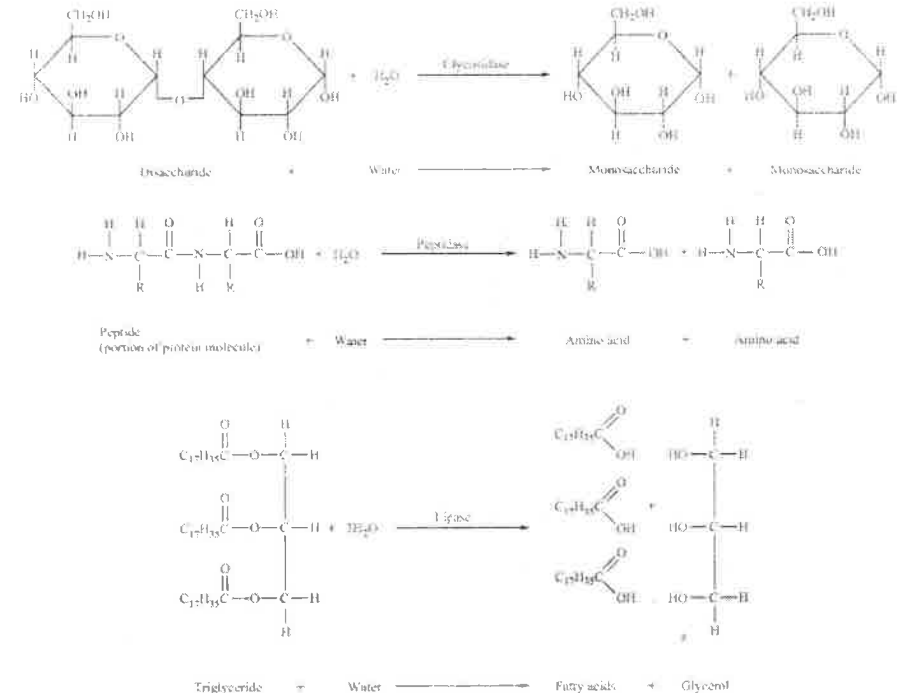


Gambar 6. Pencernaan Karbohidrat, Protein dan Trigliserida (Denniston, 2008:735)

Tahap II Katabolisme

Pada tahap II. Perubahan monomer-monomer menjadi produk intermediet yang dapat dioksidasi sempurna. Produk-produk berbeda pada tahap I dikumpulkan dan diubah menjadi

intermediet sederhana, *acetyl-CoA*. Heksosa didegradasi melalui intermediet asam *Pyruvate* selanjutnya menjadi *acetyl-CoA*. Beberapa asam amino diubah menjadi *acetyl-CoA* dan beberapa produk lainnya. Gugus amina pada asam amino dipindahkan dari asam amino dan memasuki siklus urea, sedangkan rangka karbonnya memasuki siklus Krebs. Asam lemak diubah ke *acetyl-CoA* dan memasuki siklus Krebs. Gliserol yang merupakan hasil hidrolisis trigliserida diubah ke *glyceraldehydes-3-phosphate*, salah satu intermediet pada jalur glikolisis. Pada tahap II dihasilkan energi dalam bentuk NADH dan ATP. Akhirnya gugus *acetyl* dari *acetyl-CoA* ke tahap III.



Gambar 7. Reaksi Hidrolisis Disakarida, Dipeptida dan Trigliserida (Denniston, 2008:736)

Tahap III Katabolisme

Pada tahap III. Produk-produk tahap II dioksidasi menjadi air dan karbondioksida. Pada tahap ini *acetyl-CoA* memasuki siklus Krebs. Pada siklus Krebs terjadi oksidasi gugus *acetyl* ke molekul CO_2 dan dihasilkan sejumlah energi dalam bentuk NADH, FADH_2 , GTP dan ATP. NADH dan FADH_2 memberikan elektronnya menuju molekul oksigen (O_2). Aliran elektron (**transport elektron**) dimulai dengan masuknya pasangan elektron atau ekuivalen hidrogen ke dalam rantai transport elektron yang akhirnya diterima molekul O_2 membentuk molekul H_2O . Aliran elektron disertai transfer proton melewati pembawa elektron pada membran ini yang mengakibatkan dihasilkan **gradien kimia (ΔpH) dan gradien elektrik ($\Delta\psi$)**. Gradien ini merupakan sumber energi untuk membentuk ATP dari ADP dan Pi yang dinamakan **fosforilasi oksidatif**. Dengan demikian, fosforilasi oksidatif adalah proses pembentukan ATP dari ADP dan Pi yang energinya diperoleh dari proses transfer elektron yang menghasilkan gradien kimia dan gradien elektrik.

Jalur Anabolisme

Selanjutnya marilah kita perhatikan lagi **jalur anabolik** pada Gambar 5. Pada tahap III dan tahap II anabolisme molekul-molekul prekursor diregenerasi di tahap III lalu diubah di tahap II menjadi unit pembangun makrobiomolekul. Selanjutnya pada tahap I anabolisme, unit pembangun makromolekul berikatan membentuk makromolekul. Kita perhatikan pada biosintesis trigliserida. Biosintesis trigliserida dimulai dari pembentukan *acetyl-CoA* yang merupakan prekursor pembentukan asam lemak pada tahap II anabolisme diubah menjadi trigliserida (salah satu kelompok lipid) pada tahap I anabolisme. Biosintesis protein dimulai dari pembentukan asam α -keto yang merupakan prekursor α -asam amino pada tahap III dan tahap II anabolisme, selanjutnya pada tahap I anabolisme, asam-asam amino berikatan membentuk polipeptida. Biosintesis polisakarida seperti glikogen dan pati dapat dimulai dari pembentukan *acetyl-CoA* menjadi *Pyruvate* selanjutnya menjadi heksosa pada tahap II anabolisme. Heksosa misalnya glukosa pada tahap II anabolisme berikatan dengan glukosa membentuk glikogen

atau pati. Glikogen dan pati merupakan polimer penyimpan energi di dalam sel.

D. Prebiotik dan Probiotik

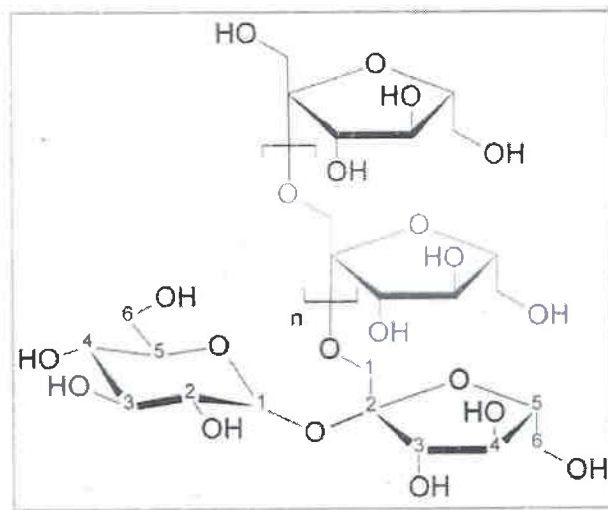
Konsep prebiotik dikembangkan mulai tahun 1995 oleh Gibson and Roberfroid. **Prebiotik** dapat didefinisikan sebagai *food ingredient* yang tidak dapat dicerna manusia tetapi difermentasi selektif oleh beberapa mikroflora usus besar dan menstimulasi pertumbuhan dan aktivitas bakteri yang bermanfaat untuk kesehatan manusia. *Food ingredient* yang diklasifikasikan sebagai prebiotik harus :1) tidak dihidrolisis dan tidak diserap di bagian atas traktus gastrointestinal; 2) substrat yang selektif untuk satu atau sejumlah mikroflora yang menguntungkan kolon, memicu pertumbuhan bakteri yang aktif melakukan metabolisme; 3) mampu merubah mikroflora kolon menjadi komposisi yang menguntungkan kesehatan.

Senyawa-senyawa yang termasuk kelompok prebiotik antara lain inulin, *fructo-oligosaccharides* (FOS), *isomalto-oligosaccharides*, *Lactosucrose*, *lactulose*, *pyro-dextrins*, *soy oligosaccharides*, *trans-galactooligosaccharides*, *xylo-oligosaccharides*. Laporan ilmiah pertama yang menyatakan bahwa inulin bermanfaat untuk kesehatan adalah pada abad ke 19. Inulin sebagai prebiotik telah banyak menarik perhatian peneliti pada tiga dekade ini. Inulin mempunyai efek prebiotik yang paling baik. Oleh sebab itu, inulin telah menjadi prebiotik diet harian yang sebagian besar dipakai oleh penduduk dunia. Inulin sebagai prebiotik telah dikapsulkan dengan merek dagang antara lain Inubio Forte produk dari Finland. Inulin yang telah dikapsulkan ini merupakan ekstrak kering inulin dari akar *chicory*. Inulin dalam jumlah besar terdapat juga pada umbi tanaman dahlia. Tanaman dahlia tumbuh subur di dataran tinggi Indonesia. Inulin juga terdapat antara lain pada pisang dan bawang.

Inulin adalah polimer alami kelompok karbohidrat. Monomer inulin adalah fruktosa yang jumlahnya pada satu untai polimer bervariasi tergantung sumbernya. Antara monomer fruktosa pada inulin dihubungkan oleh ikatan ($2 \rightarrow 1$) *residu β -D-fructofuranosyl*. Tiap ujung pereduksi untai polimer inulin dapat hadir glukosa. Oleh sebab itu, polimer inulin dapat ditulis GF_n yaitu fruktan dengan ujung terminal glukosa atau Fn yaitu fruktan tanpa ujung terminal

glukosa (Gambar 8). Simbol n pada rumus tersebut adalah derajat polimerisasi (DP). $2 < DP \leq 10$ dikenal sebagai oligofruktosa.

Inulin sebagai prebiotik berhubungan dengan pemeliharaan kesehatan usus besar (kolon). Pemeliharaan kesehatan usus besar adalah penting untuk menjaga kesehatan tubuh secara keseluruhan. Pada dasawarsa terakhir ini, penelitian banyak ditujukan pada fungsi kolon yang mempengaruhi kesehatan manusia dan nutrisi utamanya dalam hubungan dengan mikrobiota yang hidup di dalamnya. Oleh sebab itu, lahirlah konsep "prebiotik dan probiotik". Istilah **probiotik** merujuk pada "mikroorganisme hidup" yang dimakan dalam jumlah cukup yang berimplikasi pada kesehatan *host*nya. Mikroorganisme ini memperbaiki secara menguntungkan keseimbangan mikroorganisme kolon.



Gambar 8. Struktur Inulin

Inulin sebagai prebiotik telah ditambahkan pada beberapa produk susu seperti susu formula untuk bayi dan susu untuk orang dewasa. Penambahan inulin pada produk yang mengandung probiotik dikenal dengan **sinbiotik**. Pada formulasi sinbiotik telah terdapat prebiotik dan probiotik. Kombinasi prebiotik dan probiotik mempunyai efek sinergistik karena penambahan prebiotik dapat

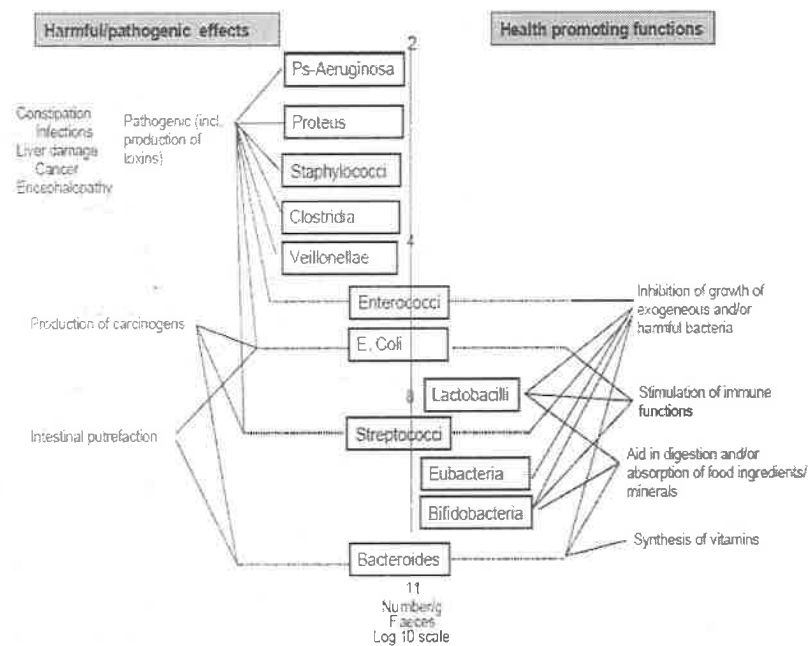
meningkatkan pertumbuhan bakteri probiotik. Sinbiotik merupakan makanan kesehatan yang inovatif untuk masa kini dan mendatang.

Penambahan prebiotik inulin pada pembuatan set yoghurt dari susu skim adalah contoh formulasi sinbiotik. Penambahan inulin mempunyai pengaruh yang berarti terhadap karakteristik set yoghurt dari susu skim yaitu menurunkan pH, menaikkan kadar asam lemak dan kadar asam laktat (Azhar, dkk, 2006). Inulin dapat memperbaiki sifat fisika dan sensori dadih. Hal yang menarik untuk diteliti adalah, apakah formulasi sinbiotik dengan prebiotik inulin dapat menurunkan resiko kanker kolon pada manusia?

Semua sel hidup dalam tubuh manusia diperkirakan 95% adalah bakteri kolon (usus besar). Oleh sebab itu, kolon manusia merupakan suatu ekosistem yang sangat sarat dengan kolonisasi mikrobiota, diperkirakan terdiri atas 300-500 spesies bakteri yang berbeda. Mikroflora di saluran kolon tersebut berupa (1) bakteri menguntungkan (misalnya *Bifidobacteria*, *Lactobacillus*, *Eubacteria*), (2) bakteri yang merugikan (misalnya, *Aeruginosa*, *Clostridia*, *Staphylococci*), (3) bakteri yang mempunyai sifat keduanya *Bacteroides*, *E. coli*, *Streptococci*, dan *Enterococci*. Mikrobiota kolon manusia dimuat pada Gambar 9.

Keberadaan bakteri menguntungkan di kolon sangat penting dipertahankan karena mempunyai efek kesehatan yang luas pada *host*nya diantaranya memperbaiki sistem imun, mempertinggi pencernaan dan penyerapan, mensintesis vitamin, menekan pertumbuhan bakteri patogen, serta menurunkan kolesterol darah. Istilah **probiotik** merujuk pada mikroorganisme hidup yang dimakan untuk memperbaiki secara menguntungkan keseimbangan mikroorganisme usus sehingga berimplikasi pada kesehatan *host*nya. Karakteristik probiotik yang diinginkan adalah mempunyai kapasitas untuk bertahan hidup, melakukan kolonisasi serta melakukan metabolisme dalam saluran cerna, mampu mempertahankan suatu keseimbangan mikroflora usus besar yang sehat melalui kompetisi dan inhibisi bakteri patogen. Probiotik bersifat non-patogen dan non-toksik. Disamping itu, probiotik harus mampu bertahan hidup secara optimal, stabil selama penyimpanan dan penggunaan dalam bentuk preparat makanan yang diinginkan secara massal dalam industri.

Mikroflora yang tergolong probiotik pada manusia adalah *Lactobacillus* (*L.acidophilus*, *L.casei*, *L.Delbruekii subsp.bulgaricus*), Mikroflora lainnya adalah *Bifidobacteria* (*B. Adolescentis*, *B. Bifidum*, *B. Longum*, *B. Breve* dan *B.infantis*), dan *Streptococcus* (*S.thermophilus*, *S.lactis*). Semua kelompok mikroflora tersebut termasuk kelompok bakteri asam laktat yang dapat membentuk asam laktat pada metabolisemenya. Yoghurt merupakan salah satu susu fermentasi dengan kultur bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Dengan demikian, yoghurt mengandung probiotik.



Gambar 9. Mikrobiota Kolon Manusia (Gibson, 1995)

Bifidobacteria merupakan salah satu probiotik yang terpenting. Manfaat *Bifidobacteria* pada manusia telah diteliti secara *in vivo* dan *in vitro*. Efek positif *Bifidobakteria* bagi kesehatan manusia mencakup beberapa hal, diantaranya menghambat pertumbuhan bakteri dan ragi yang berbahaya, memperbaiki penyerapan mineral, menurunkan toksin, mensintesis vitamin, menurunkan kolesterol darah,

menyeimbangkan flora usus besar. Inulin merupakan makanan yang baik bagi *Bifidobacteria* dan *Lactobacilli* karena mudah dan cepat difermentasi oleh bakteri tersebut. Inulin tipe GFn dan Fn difermentasi oleh *Bifidobacteria* dengan kecepatan yang sama. Inulin menaikkan level bakteri *Bifidobacteria* dan *Lactobacilli*. *Bifidobacteria* dan *Lactobacilli* dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

Produk fermentasi inulin oleh *Bifidobacteria* dan *Lactobacilli* menghasilkan terutama *short chain fatty acids* (SCFA), *L-laktate* yang telah dibuktikan secara *in vivo* dan *in vitro*. Senyawa yang termasuk SCFA adalah *acetate*, *propionate* dan *butyrate*. Persamaan reaksi total pembentukan SCFA adalah sebagai berikut:



SCFA mempunyai fungsi penting pada usus besar. Pembentukan SCFA dan *L-laktat* dapat menurunkan pH kolon sehingga dapat menaikkan pertumbuhan *Lactobacilli* dan *Bifidobacteria* dan menurunkan aktivitas enzim-enzim bakteri yang terlibat pada sintesis produk yang bersifat karsinogen dan toksik di dalam usus, menurunkan pertumbuhan bakteri patogen. SCFA mensuplai lebih dari 50% kebutuhan energi harian jaringan kolon dan mempengaruhi metabolisme kolon. SCFA juga diserap dan masuk ke *portalvein* dan dimetabolisme oleh hati, SCFA terlibat pada regulasi lipid dan gula. Hal yang sama juga dinyatakan bahwa SCFA dapat mempengaruhi metabolisme lipid tubuh. SCFA juga mempengaruhi fungsi *immune*, kesehatan jantung, dan mencegah kanker kolon. Selain itu, inulin dapat menaikkan efisiensi sistem pencernaan dengan cara membuat sistem pencernaan efisien menyerap Ca sehingga mempertinggi penyerapan Ca, menaikkan penyerapan ion Mg dan Fe.

Proses regulasi lipid dan glukosa oleh SCFA dapat dijelaskan sebagai berikut *propionate* menginhibisi *HMG CoA reductase* yang merupakan katalis pembentukan *mevalonic acid* dari β -Hydroxy β -methyl glutaryl CoA. *Mevalonic acid* merupakan prekursor pembentuk kolesterol. Dengan demikian *propionate* menghambat pembentukan kolesterol. *Propionat* juga dapat menurunkan pembentukan glukosa

dengan cara propionat diubah ke *methyl malonyl-CoA*. *Methyl malonyl-CoA* dapat menghambat *pyruvate carboxylase*. Enzim ini merupakan katalis pembentukan *phosphoenol pyruvate* (PEP) dari *pyruvate*. PEP merupakan prekursor pembentukan glukosa pada jalur glukoneogenesis.

E. Model Jalur Metabolisme

Jalur metabolik (*metabolic pathway*) merupakan sederetan reaksi enzimatik yang berurutan dimana produk suatu reaksi menjadi substrat untuk reaksi berikutnya yang akhirnya menghasilkan produk spesifik. Produk ini dapat menjadi zat awal (prekursor) untuk jalur metabolik lainnya. Setiap jalur metabolik mempunyai metabolit penghubung dengan jalur metabolik lainnya sehingga terdapat keterkaitan antara jalur metabolik.

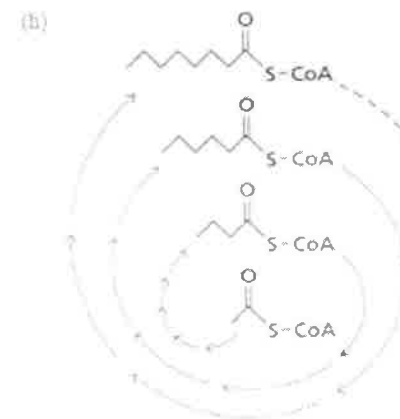
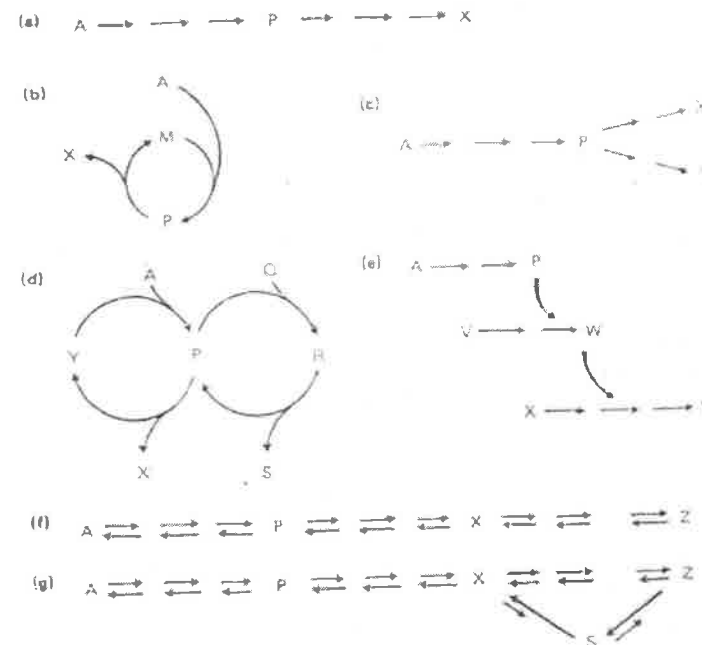
Konsentrasi setiap metabolit pada jalur metabolik diatur (diregulasi). Regulasi jalur metabolik dibahas tersendiri (subbab regulasi jalur metabolik). Deretan reaksi-reaksi pada katabolisme dan anabolisme berlangsung dalam berbagai model jalur metabolik seperti: jalur lurus, lingkaran, bercabang, lingkaran dua, tangga, reversibel langsung dan reversibel tak langsung, dan jalur spiral (Gambar 10).

Jalur lurus : hasil reaksi dari setiap reaksi metabolisme merupakan senyawa pemula untuk reaksi berikutnya (Gambar 10a).

Jalur bercabang dua atau lebih : Hasil reaksi merupakan senyawa pemula untuk reaksi berikutnya dan selanjutnya hasil reaksi (P) mengalami reaksi penguraian menjadi produk akhir X dan Y (Gambar 10c)

Jalur lingkaran : senyawa pemula A diubah menjadi X dengan cara A bereaksi dengan M membentuk P dan P diuraikan menjadi M dan X. Ini dinamakan satu siklus. Pada siklus ke dua M yang terbentuk selanjutnya bereaksi kembali dengan A membentuk P dan P diuraikan menjadi M dan X kembali. Demikianlah seterusnya (Gambar 10b).

Jalur dua atau lebih jalur lingkaran : senyawa pemula A dan Q masing-masing menghasilkan X dan S dimana pada metabolismenya A



Gambar 10. Model Jalur Metabolik (Wirahadikusumah, 1985:2)

bereaksi dengan Y membentuk P, P yang terbentuk bereaksi dengan Q membentuk R, selanjutnya R terurai menjadi P dan S, P terurai menjadi X dan Y. Y yang terbentuk bereaksi kembali dengan A, demikianlah seterusnya (Gambar 10d)

Jalur tangga: hasil akhir suatu deretan reaksi (P) berperan sebagai pendorong berlangsungnya reaksi lain (V menjadi W) dan seterusnya W merupakan pendorong salah satu reaksi pada deretan reaksi pembentukan Y dari X (Gambar 10e).

Jalur reversible langsung : deretan reaksi pembentukan Z dari A merupakan deretan reaksi kebalikan dengan deretan reaksi pembentukan A dari Z (Gambar 10f).

Jalur reversible tidak langsung : untuk reaksi Z ke X diperlukan jalur lain yang berbeda dari jalur ke Z (Gambar 10g)

Jalur spiral : satu set enzim yang sama mengkatalisis sederetan reaksi setiap perpanjangan rantai karbon pada biosintesis asam lemak (Gambar 10h).

F. Regulasi Jalur Metabolik

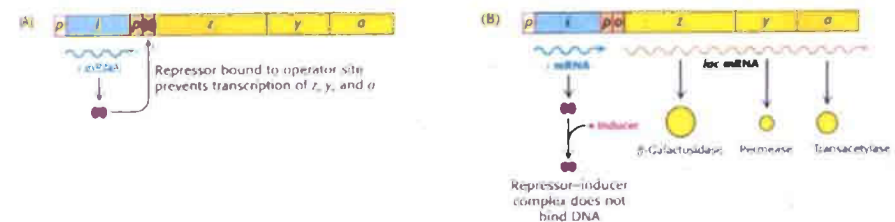
Katabolisme dan anabolisme terjadi bersamaan di dalam sel dengan kecepatan proses yang diatur tersendiri. Jalur metabolik diatur/diregulasi melalui beberapa cara : (1) **Pengaturan kadar enzim tertentu** pada suatu reaksi di sepanjang jalur metabolik, (2) **Pengaturan aktivitas katalitik dari enzim** pada suatu reaksi di sepanjang jalur metabolik. Enzim yang aktivitas katalitiknya dikendalikan disebut **enzim regulator**. Enzim regulator dapat dikelompokkan dua yaitu **enzim allosterik** (*allosteric enzymes*) dan **enzim kovalen modulasi** (*covalently modulated enzymes*), (3) **Pengaturan oleh hormon**.

Pengaturan kadar enzim

Pengaturan kadar enzim dapat dipahami pada pengaturan sintesis protein, karena sebagian besar enzim adalah protein. Eksperimen Jacob dan Monod mengusulkan **model operon** untuk mengatur sintesis protein. **Operon** merupakan kumpulan gen berdekatan yang ditranskripsi ke dalam molekul mRNA tunggal. Elemen genetik pada model ini adalah sebuah gen regulator, sebuah sisi pengontrol (promotor dan operator) dan satu set gen struktural.

Proses ini telah dipelajari secara detail pada **operon laktosa *E. coli***. Pada operon laktosa gen-gen struktural yang berdekatan tersebut adalah gen-gen yang mengkode β -galaktosidase, *permease* dan *transasetilase*. Dua gen tambahan ini terlibat dalam metabolisme laktosa. *Permease* merupakan suatu protein yang mempermudah pemasukan laktosa ke dalam sel bakteri, sedangkan *transasetilase* adalah suatu enzim yang dapat membantu menghilangkan senyawa-senyawa yang serupa dengan laktosa.

E. coli secara normal membuat enzim β -galaktosidase pada kadar tinggi bila ada laktosa. Enzim β -galaktosidase adalah katalis reaksi hidrolisis laktosa. Jacques Monod dan Francois Jacob menyatakan bahwa (1) jika molekul repressor spesifik (suatu protein yang merupakan produk gen regulator) mengikat operator (O) pada operon laktosa akan mencegah RNA polimerase untuk mensintesis mRNA β -galaktosidase. Akibatnya adalah enzim β -galaktosidase, *permease* dan *transasetilase* tidak terbentuk, (2) Laktosa berfungsi sebagai *inducer*. Laktosa dapat berikatan pada repressor. Sebagai akibatnya adalah mencegah repressor mengikat operator. Dengan adanya laktosa, repressor dinonaktifkan dan mRNA disintesis, enzim β -galaktosidase, *permease* dan *transasetilase* terekspresi. Diagram operon laktosa *E. coli* dimuat pada Gambar 11.

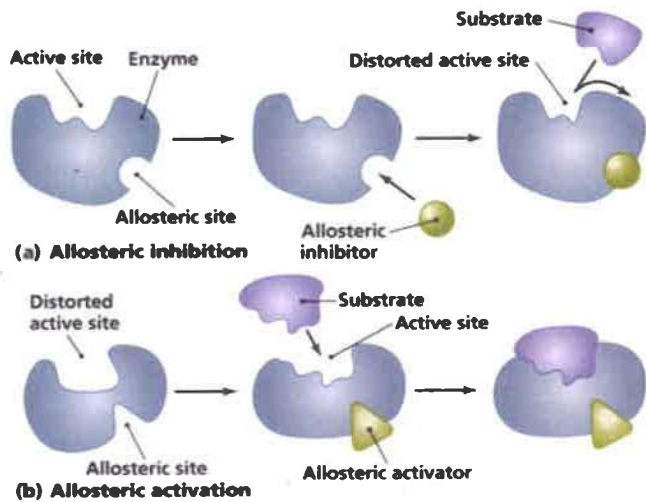


Gambar 11. Diagram Operon Laktosa *E. coli*

- A. Operon laktosa dalam keadaan tertekan
 B. Operon laktosa dalam keadaan terinduksi (*induced states*)
 I: gen regulator, p: promotor, o: operator, po: sisi pengontrol, warna kuning gen struktural.
 Operon laktosa = sisi pengontrol + gen struktural
 (Stryer, 2006:899)

Enzim Allosterik (*allosteric enzymes*)

Enzim allosterik merupakan enzim yang aktivitas katalitiknya dimodulasi melalui ikatan nonkovalen dari metabolit spesifik pada sisi lain (sisi allosterik) dari sisi katalitik enzim (Gambar 12). Metabolit spesifik dapat bertindak sebagai **inhibitor** atau sebagai **aktivator** pada aktivitas enzim allosterik. Prosesnya reversibel. Pada kebanyakan enzim, produk akhir dari sederetan reaksi linier bertindak sebagai inhibitor spesifik dari enzim pada reaksi awal. Sebagai akibatnya kecepatan reaksi keseluruhan ditentukan oleh konsentrasi produk akhir. Tipe inhibisi ini dinamakan *end-product inhibition*, *feedback inhibition* atau *retro inhibition*. Kadang-kadang prekursor bertindak sebagai modulator positif dan menstimulir reaksi pertama.

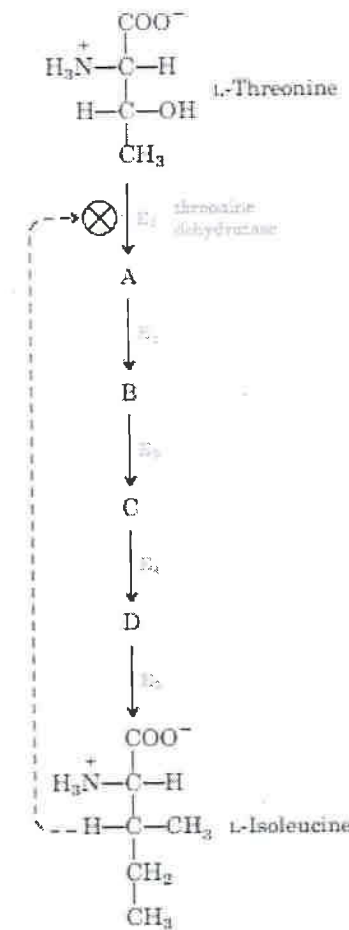


Gambar 12. Enzim Allosterik

<http://academic.pgcc.edu/~kroberts/Lecture/Chapter%205/enzymes.html>

Pada jalur linear, produk akhir biasanya menginhibisi enzim pertama pada sederetan reaksi. Pada jalur bercabang, metabolit pada titik cabang sering sebagai inhibitor *feedback* pada enzim pertama sementara dua produk akhir cabang sering bertindak sebagai inhibitor *feedback* dari enzim pertama setelah titik cabang. Pola modulasi enzim allosterik pada jalur linear adalah *threonine*

dehidratase yang diinhibisi oleh isoleusin jika isoleusin banyak terbentuk pada jalur sintesis isoleusin dari *threonine* (Gambar 13).



Gambar 13. Pola Modulasi Enzim Allosterik pada Jalur Sintesis Isoleusin (Nelson *et al.*, 2013:221)

Enzim Kovalen Modulasi (*covalently modulated enzymes*)

Kelompok enzim ini berada dalam keadaan aktif atau tidak aktif tergantung pada modifikasi kovalen dari strukturnya. Proses ini melibatkan gugus kimia yang dapat berikatan atau lepas pada

protein enzim. Modifikasi kovalen enzim menyebabkan perubahan aktivitas enzim menjadi aktif (*on*) atau tidak aktif (*off*). Terdapat 7 tipe modifikasi kovalen yang mengontrol aktivitas enzim yaitu:

1). **Phosphorylation**

Enzim aktif bila berikatan dengan gugus *phosphate*

2). **Adenylylation**

Enzim aktif bila berikatan dengan gugus *adenylate*

3). **Acetylation**

Enzim aktif bila berikatan dengan *acetyl*

4). **Myristoylation**

Enzim aktif bila terikat *myristoyl*

5). **Ubiquitination**

Enzim aktif bila terikat *ubiquitin*

6). **ADP-ribosylation**

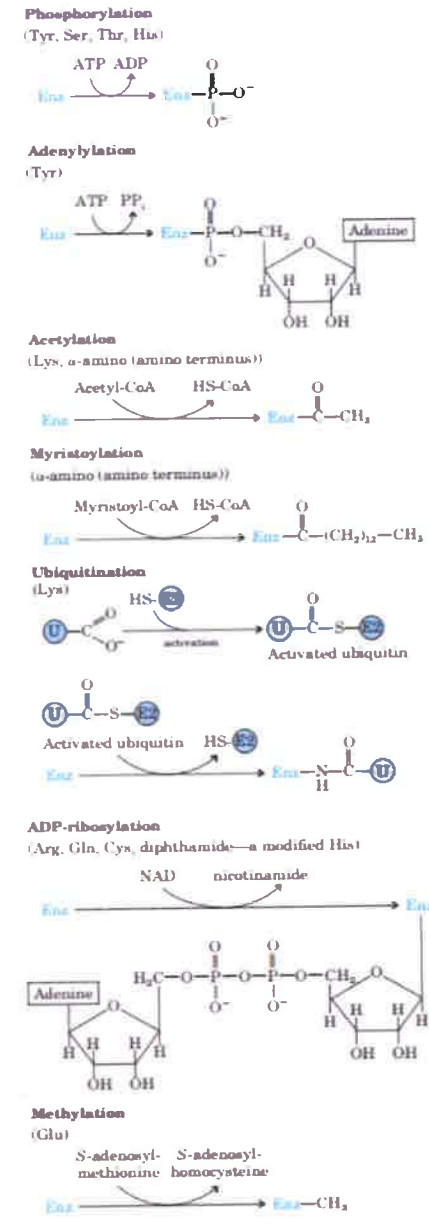
Enzim aktif bila terikat gugus *ADP-ribosyl*

7). **Methylation**

Enzim aktif bila terikat gugus metil

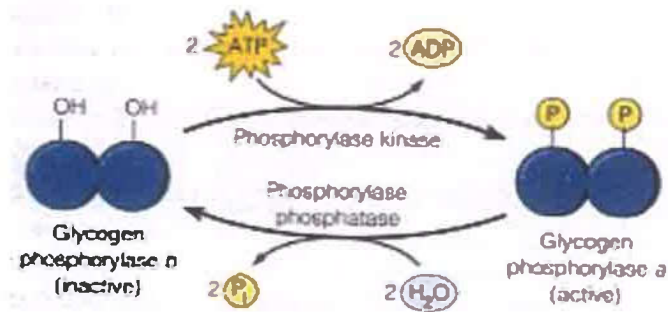
Residu asam amino target untuk *phosphorylation* biasanya Tyr, Ser, Thr atau His, sementara pada *ADP-ribosylation* dapat melibatkan residu asam amino Arg, Gln, Cys atau residu His yang dimodifikasi. Pada *adenylation* melibatkan residu asam amino Tyr, sedangkan pada *metilation* melibatkan residu asam amino Glu. Ketujuh tipe enzim modifikasi kovalen dimuat pada Gambar 14.

Phosphorylation adalah tipe enzim yang paling penting. Contoh enzim tipe *phosphorylation* yang banyak dipelajari adalah *glukogen phosphorylase* pada jaringan hewan yang mengkatalisis reaksi hidrolisis *glukogen* tubuhnya menghasilkan *glucose 1-phosphate*. *Glikogen phosphorylase* dinamakan juga *phosphorylase*. Enzim ini merupakan suatu dimer dengan sub unit yang identik yang masing-masing sub unit terdiri dari 842 residu asam amino dengan massa molekul 97 kD (Voet *et al.*, 2011). Enzim ini berada dalam dua bentuk yaitu *phosphorylase a* dan *phosphorylase b*. Pengikatan gugus *phosphoryl* pada residu Ser-14 pada masing-masing sub unit enzim *phosphorylase* menyebabkan *phosphorylase* berada dalam keadaan *active* (*phosphorylase a*) dan pelepasan gugus *phosphoryl* menyebabkan *phosphorylase* berada dalam keadaan *inactive* (*phosphorylase b*).



Gambar 14. Tipe Enzim Modifikasi Kovalen (Nelson *et al.*, 2013:223)

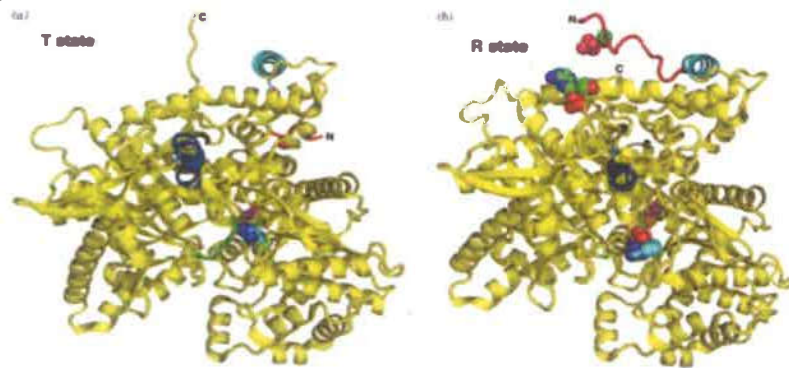
Perubahan *phosphorylase b* (*inactive*) menjadi *phosphorylase a* (*active*) dikatalisis oleh *phosphorylase kinase* (Gambar 15).



Gambar 15. Perubahan *Phosphorylase b* (*inactive*) Menjadi *Phosphorylase a* (*active*)

(<http://www.mindcreators.com/developmentalsim/proteinregulators.htm>)

Konformasi *phosphorylase b* (*inactive*) disebut dalam keadaan *T state*, sedangkan konformasi *phosphorylase a* (*active*) disebut dalam keadaan *R state*. Secara keseluruhan perubahan konformasi molekul sub unit *phosphorylase* akibat pengikatan gugus *phosphoryl* tidak terlalu besar. Perubahan konformasi yang besar dapat diamati pada posisi ujung-N dan ujung-C polipeptida dari sub unit tersebut (Gambar 16).



Gambar 16. Konformasi *T state* (a) dan *R state* (b) Satu Subunit *Phosphorylase* (Voet et al., 2011:649)

Pengaturan oleh Hormon

Mekanisme regulasi di dalam suatu sel eukariot dapat merupakan pesan yang dikirimkan dari organ atau jaringan lain. Proses pengiriman pesan dan menyebabkan perubahan metabolik dinamakan *signal transduction*. Pengiriman pesan dilakukan oleh kelompok *messenger* ekstraselular. Kelompok *messenger* ekstraselular adalah *hormon*, *growth factor*, *neurotransmitters* dan *pheromones*. Hormon adalah suatu senyawa yang disintesis di dalam sel khusus dan dibawa ke sel target. Pada sel target hormon ini berinteraksi dengan reseptor spesifik pada permukaan sel yang mengakibatkan perubahan metabolik spesifik di dalam sel target. Ada dua tipe respon metabolik oleh hormon yang dimengerti baik. Tipe yang pertama adalah hormon steroid yang melibatkan perubahan di dalam ekspresi gen. Contoh hormon steroid adalah estrogen. Estrogen memasuki sel target dimana hormon ini berinteraksi dengan protein reseptor intraseluler. Kompleks hormon-reseptor ini bermigrasi ke inti sel, kemudian berikatan pada sisi spesifik di dalam genom dan berakibat transkripsi gen tertentu ditekan atau diaktifkan. Dengan demikian, hormon steroid mengontrol metabolisme dengan **pengaturan pada level protein intraseluler**.

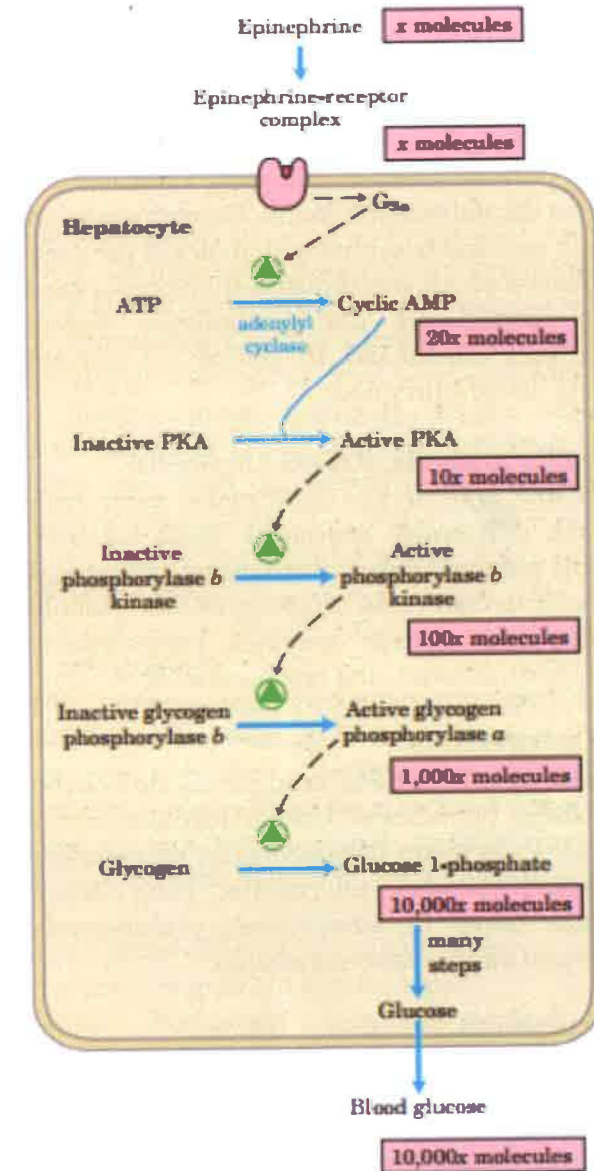
Tipe kedua adalah tipe respon metabolik oleh hormon yang melibatkan **sintesis *second messengers* intraseluler** yang mengontrol reaksi metabolik. Hormon ini (*the first messenger*) berikatan dengan protein reseptor yang terdapat pada membran plasma dan menstimulasi pembentukan *second messenger* pada intraseluler. Hormon yang beraksi seperti ini pada umumnya hormon polipeptida seperti *glucagon*, dan beberapa hormon turunan asam amino seperti *epinephrine*. *Second messenger* dari *glucagon* dan *epinephrine* adalah adenosin 3',5'-monophosphate yang lebih dikenal dengan *cyclic AMP* (cAMP).

Pada tipe kedua ini, sistem *signal transduction* terdiri atas tiga komponen protein yaitu reseptor, *transducer* dan efektor. Reseptor adalah protein membran yang mengenal dan berikatan dengan hormon spesifik. Sebagai *transducer* adalah protein G, dinamakan demikian karena mempunyai afinitas yang tinggi terhadap nukleotida *guanine*. Interaksi kompleks hormon-reseptor dengan *transducer* menstimulasi sebuah reaksi dimana GDP yang terikat

pada protein G digantikan oleh GTP. Protein G yang aktif berinteraksi dengan efektor (*adenylate cyclase*) yang merupakan katalis pembentukan cAMP dari ATP.

Sebagai contoh adalah sekresi adrenalin yang sekarang dinamakan *epinephrine*. *Epinephrine* merupakan hormon turunan dari asam amino yang disekresi dari adrenal medulla yang berfungsi untuk menstimulasi glikogenolisis (hidrolisis glikogen) di dalam liver dan otot. Proses ini dinamakan amplifikasi kaskade (*cascade*) pada stimulasi glikogenolisis oleh *epinephrine* di dalam sel hati untuk menghasilkan glukosa. *Epinephrine* dilepaskan dalam aliran darah memberikan konsentrasi sangat rendah yaitu sekitar 10^{-2} M. Sebagai akibatnya dapat menaikkan konsentrasi glukosa darah berlipat ganda yaitu sekitar 5mM. *Epinephrine* dilepaskan dalam aliran darah bila kadar glukosa darah rendah.

Aksi hormon *epinephrine* pada permukaan sel hati mengakibatkan terbentuk cAMP di dalam sel yang memberikan efek respon metabolik yang diinginkan yaitu menaikkan kadar glukosa. Efek respon metabolik yang diberikan adalah: cAMP mengaktifkan enzim *phosphorylase kinase*. *Phosphorylase kinase* aktif selanjutnya mengkatalisis *phosphorylase b* menjadi *phosphorylase a*. *Phosphorylase a* adalah katalis reaksi hidrolisis glikogen menghasilkan *glucose-1-phosphate*. *Glucose-1-phosphate* selanjutnya diinversi menjadi *glucose-6-phosphate* yang akhirnya gugus *phosphoril* dilepaskan dari glukosa. Selanjutnya glukosa ke luar dari sel hati memasuki aliran darah (Gambar 17).



Gambar 17. Amplifikasi Kaskade oleh *Epinephrine* (Nelson et al., 2013:429)

G. Kesimpulan

Metabolisme: Anabolisme dan Katabolisme

Metabolisme merupakan keseluruhan reaksi-reaksi yang terjadi di dalam sel hidup. Reaksi-reaksi tersebut saling berkaitan membentuk suatu jaringan deretan reaksi-reaksi yang amat terkoordinasi yang setiap reaksinya dikatalisis oleh enzim. Deretan reaksi ini digunakan untuk merubah molekul besar menjadi molekul yang lebih kecil atau sebaliknya. Oleh sebab itu, metabolisme dikelompokkan menjadi dua bagian yaitu katabolisme dan anabolisme. Katabolisme dan anabolisme terjadi bersamaan di dalam sel dengan kecepatan prosesnya yang diatur/diregulasi.

Reaksi Katabolik, Anabolik, Reaksi Ampibolik

Pada metabolisme dikenal tiga jenis reaksi yaitu reaksi anabolik, reaksi katabolik dan reaksi *amphibolic*. Pada katabolisme terlibat reaksi katabolik, sedangkan pada anabolisme terlibat reaksi anabolik. Reaksi ampibolik terlibat pada katabolisme dan anabolisme. **Reaksi anabolik** mensintesis semua senyawa yang diperlukan untuk pemeliharaan, pertumbuhan dan reproduksi sel.

Tahap utama metabolisme

Terdapat tiga tahap utama pada katabolisme dan anabolisme. Pada tahap I katabolisme, biomolekul besar dihidrolisis menjadi unit-unit pembangunnya. Pada tahap II katabolisme, perubahan monomer-monomer menjadi produk intermediet yang dapat dioksidasi sempurna. Pada tahap III katabolisme, produk-produk tahap II dioksidasi menjadi air dan karbondioksida.

Prebiotik dan probiotik

Prebiotik dapat didefinisikan sebagai *food ingredient* yang tidak dapat dicerna manusia tetapi difermentasi selektif oleh beberapa mikroflora usus besar dan menstimulasi pertumbuhan dan aktivitas bakteri yang bermanfaat untuk kesehatan manusia. Istilah **probiotik** merujuk pada "mikroorganisme hidup" yang dimakan dalam jumlah cukup yang berimplikasi pada kesehatan *hostnya*.

Model Jalur Metabolisme

Deretan reaksi-reaksi pada katabolisme dan anabolisme berlangsung dalam berbagai model jalur metabolik seperti: jalur lurus, lingkaran, bercabang, lingkaran dua, tangga, reversibel langsung dan reversibel tak langsung, dan jalur spiral.

Regulasi Jalur metabolik

Jalur metabolik diatur/diregulasi melalui beberapa cara : (1) Pengaturan kadar enzim tertentu pada suatu reaksi di sepanjang jalur metabolik, (2) Pengaturan aktivitas katalitik dari enzim pada suatu reaksi di sepanjang jalur metabolik. Enzim yang aktivitas katalitiknya dikendalikan disebut enzim regulator. Enzim regulator dapat dikelompokkan dua yaitu enzim allosterik (*allosteric enzymes*) dan enzim kovalen modulasi (*covalently modulated enzymes*), (3) Pengaturan oleh hormon.

H. Latihan dan Kasus

Latihan

Tahap utama metabolisme

1. Anda diberi sarapan pagi: potongan roti yang berisi daging cincang bumbu asam pedas, keju serut, potongan daun salad. Permukaan roti tersebut diolesi Blue Band, kemudian dipanggang. Anda juga diberi segelas susu yang mengandung inulin. Jelaskan tiga tahap utama metabolisme karbohidrat, trigliserida dan protein di tubuh Anda. Bagaimana nasib serat makanan?
2. Diskusikanlah alasan urutan pemilihan makanan atau minuman tertentu jika seseorang dalam kondisi lapar.
3. Kumpulkanlah komposisi beberapa merek susu dan diskusikanlah hubungannya dengan proses metabolisme

Model jalur metabolisme

1. Bedakanlah 3 model jalur metabolisme !
2. Kumpulkanlah gambar jalur metabolik dan kelompokkanlah gambar tersebut ke dalam jenis model jalur metabolik !

Regulasi lintas metabolik

1. Bagaimana pengaturan (regulasi) jalur metabolik melalui pengaturan konsentrasi enzim?
2. Bagaimana pengaturan jalur metabolik oleh enzim allosterik?

Kasus

1. Peran Cobalamin dalam Katabolisme Asam Amino

Anemia pernisiiosa adalah jenis anemia yang disebabkan oleh gangguan penyerapan vitamin B12 (*cyanocobalamine*) dan dapat menyebabkan osteoporosis dan patah tulang. Apakah efek dari gangguan ini pada katabolisme asam amino? Apakah gangguan ini akan berpengaruh sama terhadap semua asam amino?

2. Tingginya Tingkat Metabolisme Bakteri

Sel bakteri memiliki laju metabolisme yang jauh lebih tinggi daripada sel hewan. Dalam kondisi ideal beberapa bakteri menggandakan ukuran dan membelah setiap 20 menit, sedangkan kebanyakan sel hewan membutuhkan waktu 24 jam pada kondisi pertumbuhan yang optimum. Laju metabolisme bakteri yang tinggi membutuhkan rasio luas permukaan terhadap volume sel yang tinggi.

- a) Mengapa rasio volume: permukaan mempengaruhi laju maksimum metabolisme?
- b) Hitung rasio permukaan: volume untuk bakteri bulat *Neisseria gonorrhoeae* (diameter 0,5 μm), yang menyebabkan penyakit gonore. Bandingkan dengan rasio permukaan : volume untuk amoeba globular, sebuah sel eukariotik besar (diameter 150 μm). Luas permukaan bola adalah $4\pi r^2$.

Referensi

Buku

- Denniston KJ, Topping JJ, Caret RL. (2008). *General, Organic, and Biochemistry*, 6th ed. New York: McGraw-Hill.
- Moran LA, Horton HR, Scringeur KG, Perry MD. (2012). *Principle of Biochemistry*, 5th ed. USA: Pearson Education, Inc.
- Nelson DL, Cox MM. (2013). *Lehninger Principles of Biochemistry*. 6th ed, New York: WH Freeman and Company.
- Wirahadikusumah, M (1985). *Biokimia: Metabolisme Energi, Karbohidrat dan Lipid*. Penerbit ITB. Bandung.
- Voet D, Voet JG. (2011). *Biochemistry*. 4th edition .USA: John Wiley & Sons Inc

Artikel

- Azhar, M (2009). *Inulin sebagai Prebiotik*. Sainstek Vol.12. No.1 1-8
- Franck A (2006). *Food polysaccharides and their application*. CRC Press.
- Gibson, GR, Roberfroid MB (1995). *Dietary Modulation of Human Colonic Microbiota: Introducing The Concept of Prebiotics*. J. Nutrition 125 : 1401-12

BAB III SIKLUS ENERGI DI DALAM SEL

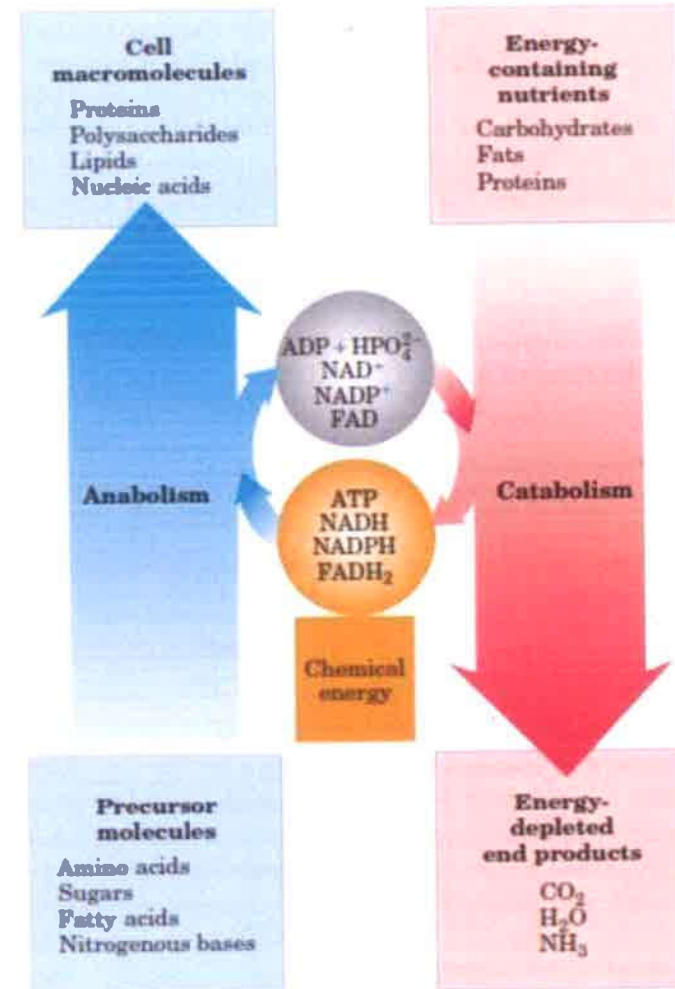
Panas simbolnya q atau ΔH (kalor pada tekanan tetap) bukan merupakan sumber energi yang berarti bagi sel hidup karena panas dapat melakukan kerja jika panas tersebut mengalir dari objek bersuhu tertentu ke objek lain dengan suhu yang lebih rendah. Sel hidup mempunyai suhu keseluruhan yang sama. Oleh sebab itu, sel tidak dapat memanfaatkan energi panas dengan berarti. Panas berguna bagi sel hanya untuk mempertahankan suhu optimum bagi kegiatannya.

Bentuk energi yang dapat dan harus digunakan sel hidup adalah energi bebas (ΔG) yang dapat melakukan kerja pada suhu dan tekanan tetap. Reaksi biokimia terjadi sekitar pH 7. Oleh sebab itu, pH 7 dan suhu 25°C ditetapkan sebagai pH dan suhu standar di dalam energetika biokimia (perjanjian)

Energi bebas yang dihasilkan pada reaksi-reaksi katabolisme disimpan dalam bentuk ATP, NADH, NADPH, FADH_2 dan digunakan pada reaksi-reaksi anabolisme (Gambar 18). ATP menyimpan energi dalam struktur kovalen gugus fosforilnya ($\sim\text{PO}_3^{2-}$). ATP berperan sebagai senyawa antara di dalam reaksi pemindahan gugus fosforil. NADH, NADPH, FADH_2 menyimpan energi dalam bentuk atom hidrogen atau elektron. Dengan demikian, NADH, NADPH, FADH_2 terlibat pada reaksi redoks. ATP dan NADPH adalah sumber energi bebas untuk reaksi-reaksi biosintesis.

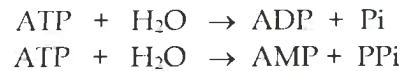
A. ATP (Adenosine Triphosphate)

Pada tahun 1941, Fritz Lipmann mengajukan suatu pernyataan bahwa ATP adalah pembawa energi kimia utama dan universal di dalam sel hidup. Energi bebas pada ATP digunakan untuk biosintesis, transport aktif (kerja melawan konsentrasi), kontraksi

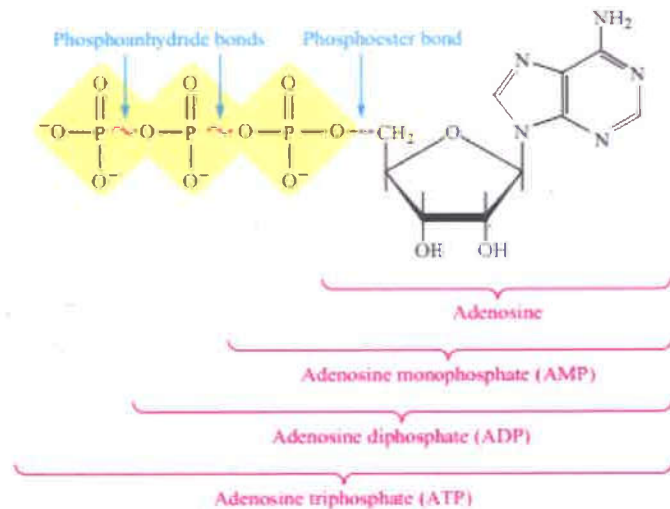


Gambar 18. Hubungan Energi antara Jalur Katabolisme dan Anabolisme (Nelson *et al.*, 2013:503)

otot dan pemindahan informasi genetik. Produk hidrolisis ATP adalah adenosin diphosphate (ADP) dan orthophosphate, PO_4^{2-} (Pi) atau adenosin monophosphate (AMP) dan pyrophosphate, $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ (PPi).



ATP, ADP dan AMP merupakan nukleotida yang terdapat di dalam semua sel dan melakukan fungsi universal yang sama. ATP merupakan nukleotida yang ribosanya berikatan dengan adenin (suatu basa nitrogen) dan 3 buah gugus fosforil (Gambar 19). Nukleotida ini tidak hanya terdapat di dalam sitosol sel tetapi juga di dalam mitokondria dan inti sel. Di dalam sel normal yang melakukan respirasi, ATP mencapai 80% atau lebih dari jumlah ketiga ribonukleotida lainnya (GTP, TTP, CTP).



Gambar 19. Struktur ATP, ADP dan AMP
(Denniston *et al.*, 2008:732)

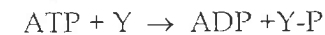
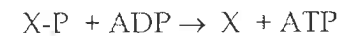
ATP merupakan senyawa berphosphate dengan energi bebas baku yang tinggi bagi hidrolisisnya. **ATP dikatakan senyawa berphosphate berenergi tinggi.** Energi bebas standar hidrolisis senyawa berphosphate yang lebih rendah dari pada ATP misalnya *glucose 6-phosphate* dikelompokkan sebagai **senyawa berphosphate berenergi rendah.** Energi bebas standar hidrolisis senyawa

berphosphate yang jauh lebih tinggi daripada ATP dikelompokkan sebagai **senyawa berphosphate berenergi super tinggi** seperti *phosphoenol Pyruvate* (Tabel 2).

Tabel 2. ΔG° Reaksi Hidrolisis Beberapa Senyawa Ber-Phosphate

Senyawa berphosphate	ΔG° (kkal/mol)
<i>Phosphoenol pyruvate</i>	-14,8
<i>3-phosphoglyceroyl phosphate</i>	-11,8
<i>Phosphocreatine</i>	-10,3
ADP	-7,3
ATP	-7,3
AMP	-3,4
<i>Glucose 1-phosphate</i>	-5,0
<i>Fructose 6-phosphate</i>	-3,8
<i>Glucose 6-phosphate</i>	-3,3

Semua senyawa berphosphate berenergi super tinggi harus memberikan gugus fosforilnya melalui ATP kepada molekul penerima sehingga terbentuk senyawa berphosphate berenergi rendah. Dengan demikian dapat dikatakan **ATP sebagai senyawa antara pembawa energi yang umum di dalam sel**, menghubungkan reaksi yang membebaskan energi dan reaksi yang memerlukan energi (Gambar 20). Selama berlangsungnya reaksi katabolik yang memberikan energi, senyawa berphosphate berenergi tinggi dihasilkan. Enzim khusus yang dikenal dengan *kinase* mengkatalisis pemindahan gugus fosforil dari senyawa berphosphate berenergi supertinggi tersebut yang dilambangkan X-P kepada ADP membentuk ATP. Pada tahap kedua kinase khusus lainnya mengkatalisis pemindahan gugus fosforil terminal dari ATP ke suatu molekul penerima Y yang kandungan energinya meningkat pada saat senyawa ini mengikat gugus fosforil (Y-P). Kedua reaksi ini dapat ditulis sebagai berikut:

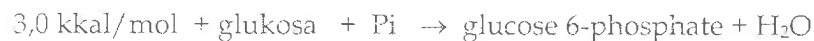


Pada kedua persamaan reaksi tersebut dapat ditafsirkan telah terjadi pemindahan energi kimia dari X-P menuju Y melalui pemindahan gugus fosforil. ATP merupakan perantara bagi reaksi pemindahan gugus tersebut. Hal ini terjadi karena sel tidak mengandung kinase yang dapat memindahkan gugus fosforil secara langsung dari senyawa berphosphate berenergi super tinggi kepada senyawa penerima membentuk senyawa berphosphate berenergi rendah.

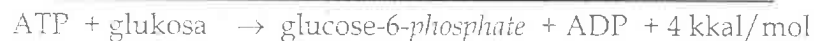
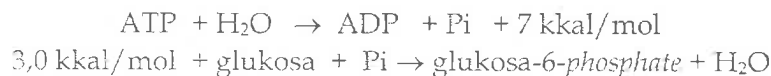
Kita perhatikan sekarang reaksi $ATP + Y \rightarrow ADP + Y-P$, bagaimana ATP memberikan gugus fosforilnya pada Y dan berapa energi bebas yang terlibat. Sebagai molekul penerima gugus fosforil kita contohkan glukosa. Proses ini terjadi pada reaksi awal pada glikolisis (silahkan dilihat pada metabolisme karbohidrat bagian glikolisis). Reaksi ini juga mengungkapkan peranan ATP sebagai sumber energi. Reaksi ini merupakan reaksi yang dirangkaikan dari dua reaksi. Reaksi pertama adalah hidrolisis ATP menghasilkan ADP dan P_i . Reaksi ini merupakan *reaksi eksergonik* yang melepaskan energi kira-kira 7 kkal/mol ATP. Persamaan reaksinya adalah



Reaksi kedua adalah pembentukan *glucose 6-phosphate* dari glukosa dan P_i yang merupakan *reaksi endergonik* yang membutuhkan energi 3,0 kkal/mol.

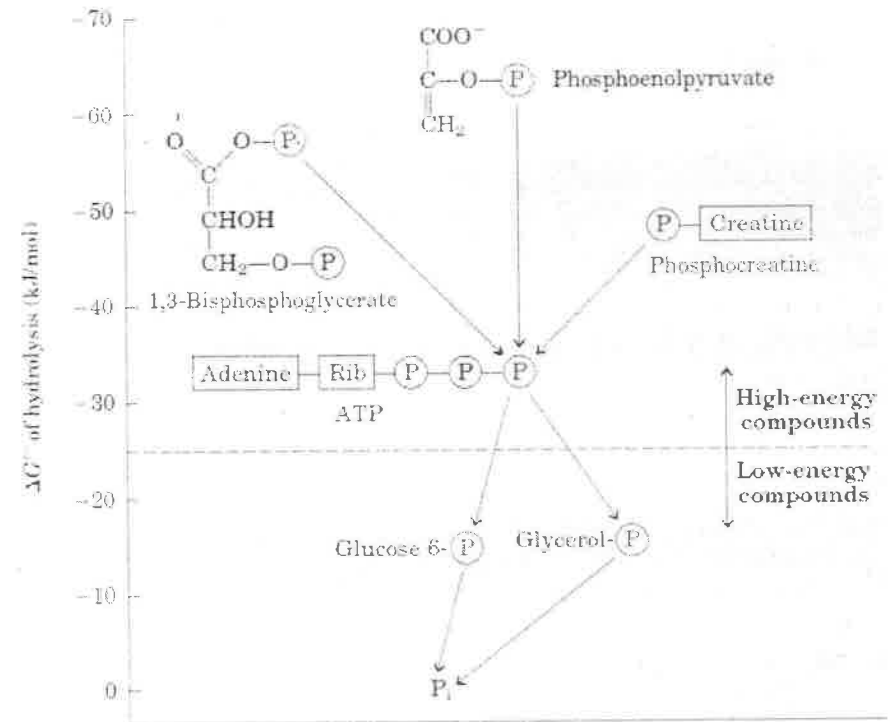


Dua tipe reaksi ini dapat dijumlahkan yang dapat memperlihatkan bagaimana hidrolisis ATP dirangkaikan dengan fosforilasi glukosa.



Dengan demikian dapat dikatakan bahwa energi bebas standar (ΔG°) yang dilepaskan pada hidrolisis ATP sebagian disimpan pada *glucose*

6-phosphate dan sebagian lagi dilepaskan. Reaksi ini spontan ke arah kanan. Perhatikan posisi ATP dan posisi *glucose-6-phosphate* pada Gambar 20.



Gambar 20. Aliran Gugus Fosforil dari Senyawa Berenergi Tinggi ke Rendah (Nelson *et al.*, 2013:523)

UTP (*Uridin triphosphate*), GTP (*Guanin triphosphate*) dan CTP (*Citosin Triphosphate*) merupakan analog nukleotida struktur ATP dengan harga energi bebas standar hidrolisis yang sama. Senyawa dATP, dGTP dan dCTP dan dTTP juga ditemukan di dalam sel. Senyawa-senyawa ini terdapat di dalam semua sel dengan konsentrasi yang jauh lebih rendah dibandingkan ATP. Senyawa-senyawa ini khusus berfungsi pada lintas metabolik tertentu. Senyawa-senyawa ini memperoleh gugus fosforil terminalnya dari ATP.

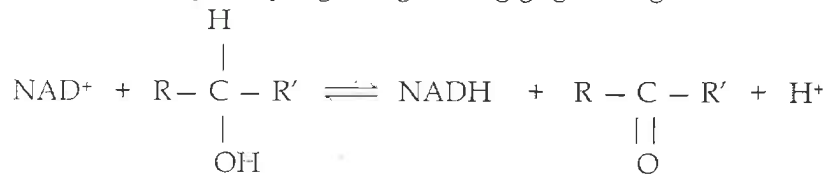
B. NADH, FADH₂ dan NADPH

Energi bebas dapat diperoleh dari oksidasi (reaksi yang melepaskan elektron) molekul bahan bakar seperti glukosa dan asam lemak. Pada organisme aerobik elektron akhirnya diberikan pada penerima elektron terakhir yaitu molekul O₂. Elektron tidak dipindahkan secara langsung dari molekul bahan bakar ke molekul O₂ melainkan ditransfer terlebih dahulu pada **molekul pembawa elektron** yaitu *pyridine nucleotides* atau *flavin*. Bentuk tereduksi senyawa pembawa elektron ini kemudian mentransfer elektronnya dengan energi potensial tinggi ke molekul O₂ melalui sederetan rantai transport elektron yang berlokasi pada membran-dalam mitokondria. ATP dibentuk dari ADP dan Pi sebagai akibat aliran elektron tersebut. Proses ini dinamakan fosforilasi oksidatif (*oxidative phosphorylation*) (silahkan dilihat pada BAB metabolisme karbohidrat bagian fosforilasi oksidatif).

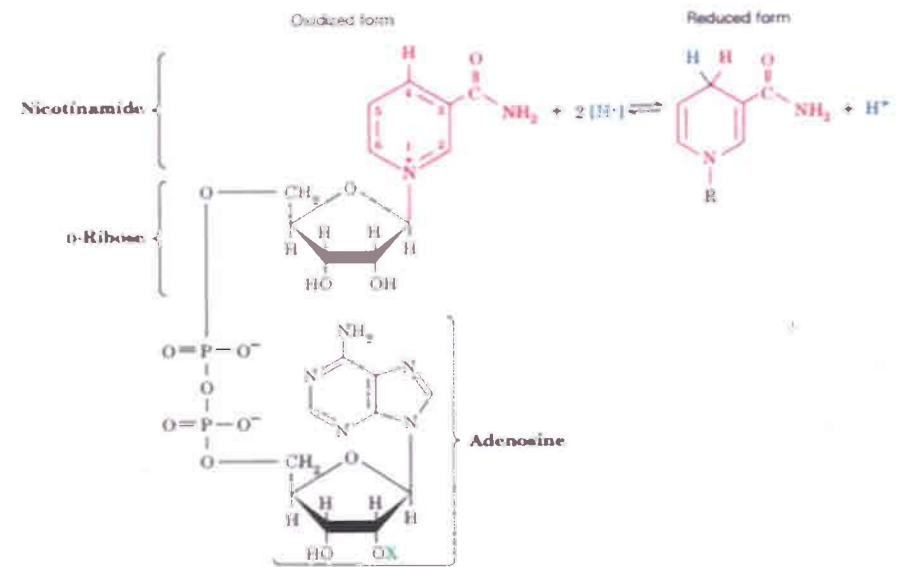
Nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺) merupakan penerima elektron utama dari oksidasi molekul bahan bakar. Bagian reaktif NAD⁺ adalah cincin nikotinamidanya (Gambar 21). Pada oksidasi molekul bahan bakar, setiap cincin nikotinamida pada NAD⁺ (bentuk teroksidasi) menerima satu ion hidrogen dan dua elektron dan membentuk NADH (bentuk tereduksi).



Dengan demikian, NAD⁺ adalah aseptor elektron. Kita perhatikan reaksi oksidasi senyawa yang mengandung gugus fungsi alkohol.



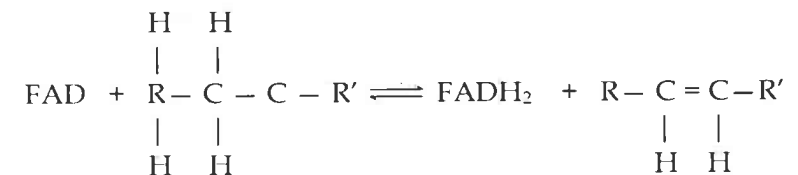
Pada reaksi ini satu ion hidrogen dari setiap molekul substrat secara langsung ditransfer ke setiap ion NAD⁺, yang lainnya ke pelarut. Setiap molekul substrat kehilangan dua buah elektron karena ditransfer ke setiap cincin nikotinamida.



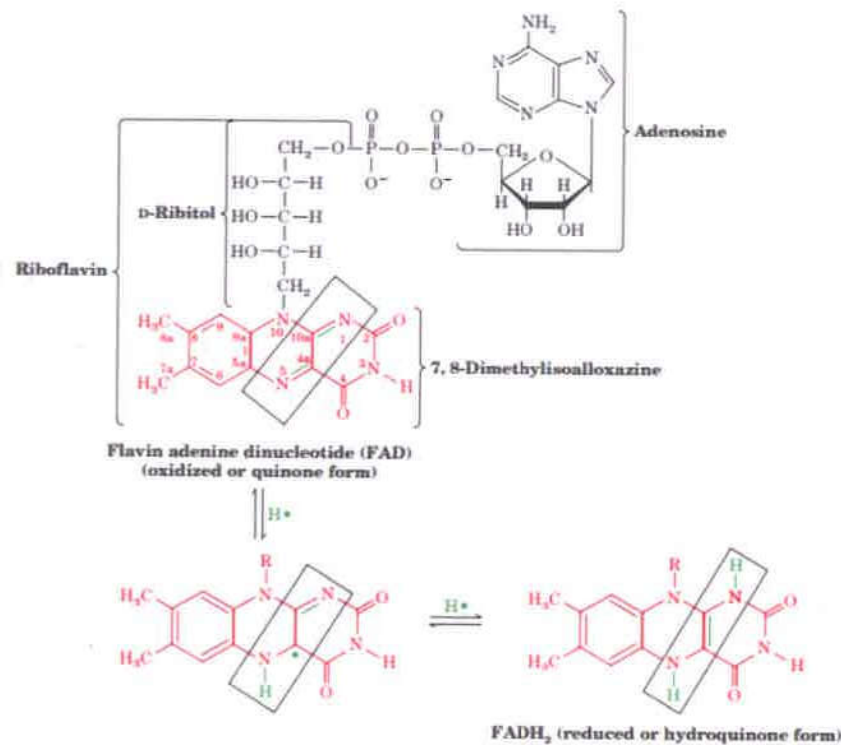
X = H Nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺)
X = PO₄⁻ Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP⁺)

Gambar 21. Struktur NAD⁺ dan NADP⁺
(Voet et al., 2011:471)

Penerima elektron utama lainnya pada oksidasi molekul bahan bakar adalah *flavin adenine dinucleotide* (FAD). Bagian reaktif dari FAD adalah cincin *isoalloxazine*nya (Gambar 22). Pada oksidasi molekul bahan bakar, setiap cincin *isoalloxazine* pada FAD (bentuk teroksidasi) menerima dua ion hidrogen dan dua elektron dan membentuk FADH₂ (bentuk tereduksi). Kita perhatikan reaksi di bawah ini dimana FAD adalah penerima elektron.



Pada reaksi ini, setiap FAD menerima dua ion hidrogen dan dua elektron dari setiap substrat sehingga terbentuk ikatan ganda dua.

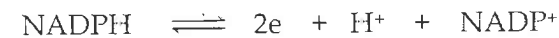


Gambar 22. Struktur FAD dan FADH₂ Bagian Aktif Ditandai dalam Kotak (Voet et al., 2011:566)

NADH dan FADH₂ merupakan pembawa elektron utama pada oksidasi molekul bahan bakar. NADH dan FADH₂ dibentuk pada glikolisis, oksidasi asam lemak dan pada siklus Krebs. NADH dan FADH₂ merupakan molekul yang kaya energi karena masing-masingnya mengandung sepasang elektron yang mempunyai energi potensial transfer yang tinggi, bagaimana pula dengan NADPH?

NADPH adalah donor elektron utama pada biosintesis yang bersifat reduksi. Pada biosintesis yang bersifat reduksi, setiap cincin nikotinamida pada NADPH (bentuk tereduksi) memberikan satu ion

hidrogen dan dua elektron dan membentuk NADP⁺ (bentuk teroksidasi).



NADPH berbeda dengan NADH dimana gugus 2-hidroksil pada adenosin bereaksi dengan phosphate. NADPH terlibat pada hampir semua reaksi biosintesis yang bersifat reduksi, sedangkan NADH terlibat pada oksidasi molekul bahan bakar dan digunakan terutama untuk menghasilkan ATP. Dengan kata lain, NADH dioksidasi pada rantai pernafasan untuk menghasilkan ATP, sedangkan NADPH berfungsi sebagai donor elektron pada reaksi biosintesis. NAD⁺ dan NADP⁺ menerima elektron dan ion hidrogen dari reaksi oksidasi molekul bahan bakar dan disimpan dalam bentuk NADH dan NADPH.

Untuk menghitung perubahan energi-bebas standar (ΔG°) digunakan potensial reduksi standar (Tabel 3). Mengapa potensial reduksi begitu bermanfaat pada biokimia? Jika nilai potensial (E) telah ditentukan untuk dua setengah-sel, relatif terhadap elektroda hidrogen standar. Kita juga dapat mengetahui potensial reduksi relatifnya masing-masing elektroda. Kita dapat meramalkan arah kecenderungan elektron mengalir ketika dua setengah-sel dihubungkan melalui sirkuit eksternal atau ketika komponen-komponen kedua setengah-sel berada pada larutan yang sama. Perubahan energi bebas (ΔG) untuk reaksi oksidasi dan reduksi sebanding dengan beda potensial (ΔE).

$$\Delta G = -n \cdot F \cdot \Delta E \text{ atau } \Delta G^\circ = -n \cdot F \cdot \Delta E^\circ$$

dimana n adalah jumlah elektron yang dipindahkan dalam reaksi. Dengan persamaan ini kita dapat menghitung perubahan energi-bebas sesungguhnya untuk reaksi oksidasi reduksi dari nilai E^o. Tabel 3 merupakan potensial reduksi standar beberapa reaksi biologi. Kita dapat menggunakan data pada Tabel ini untuk menghitung perubahan energi-bebas sesungguhnya (ΔG) jika *asetaldehyde* direduksi oleh pembawa elektron NADH.

Tabel 3. Potensial Reduksi Standar Beberapa Reaksi Biologi

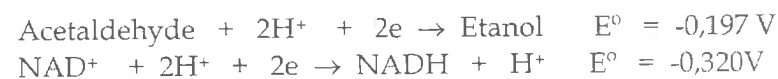
Setengah reaksi	E° (V)
$\frac{1}{2} \text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}$	0,816
$\text{Fe}^{3+} + \text{e}^- \rightarrow \text{Fe}^{2+}$	0,771
$\text{NO}_3^- + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O}$	0,421
Cytochrome <i>f</i> (Fe^{3+}) + $\text{e}^- \rightarrow$ Cytochrome <i>f</i> (Fe^{2+})	0,365
$\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ (ferricyanide) + $\text{e}^- \rightarrow \text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$	0,36
Cytochrome a_3 (Fe^{3+}) + $\text{e}^- \rightarrow$ Cytochrome a_3 (Fe^{2+})	0,35
$\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$	0,295
Cytochrome <i>a</i> (Fe^{3+}) + $\text{e}^- \rightarrow$ Cytochrome <i>a</i> (Fe^{2+})	0,29
Cytochrome <i>c</i> (Fe^{3+}) + $\text{e}^- \rightarrow$ Cytochrome <i>c</i> (Fe^{2+})	0,254
Cytochrome c_1 (Fe^{3+}) + $\text{e}^- \rightarrow$ Cytochrome c_1 (Fe^{2+})	0,22
Cytochrome <i>b</i> (Fe^{3+}) + $\text{e}^- \rightarrow$ Cytochrome <i>b</i> (Fe^{2+})	0,077
Ubiquinone + $2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow$ Ubiquinol + H_2	0,045
Fumarate ²⁻ + $2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow$ Succinate ²⁻	0,031
$2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2$ (pada kondisi standar, pH 0)	0,000
Crotonyl-CoA + $2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow$ Butyryl-CoA	-0,015
Oxaloacetate ²⁻ + $2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow$ Malate ²⁻	-0,166
Pyruvate + $2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow$ Lactate	-0,185
Acetaldehyde + $2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow$ Ethanol	-0,197
$\text{FAD} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{FADH}_2$	-0,219
Glutathione + $2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow$ 2 reduced glutathione	-0,23
$\text{S} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2\text{S}$	-0,243
Lipoic acid + $2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow$ Dihydrolipoic acid	-0,29
$\text{NAD}^+ + \text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{NADH}$	-0,320
$\text{NADP}^+ + \text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{NADPH}$	-0,324
Acetoacetate + $2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow$ β -hydroxybutyrate	-0,346
α -ketoglutarate + $\text{CO}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow$ Isocitrate	-0,38
$2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2$ (pada pH7)	-0,414
Ferredoxin (Fe^{3+}) + $\text{e}^- \rightarrow$ Ferredoxin (Fe^{2+})	-0,432

(Nelson *et al.*, 2013:515)

Hitunglah perubahan energi-bebas sesungguhnya (ΔG) jika [acetaldehyde] dan [NADH] adalah 1 M dan [etanol] dan [NAD⁺] adalah 0,1 M. Persamaan reaksinya adalah



Nilai E° adalah



Karena *acetaldehyde* penerima elektron dari NADH, maka

$$\begin{aligned} \Delta E^\circ &= -0,197 \text{ V} - (-0,320 \text{ V}) = 0,123 \text{ V, akibatnya} \\ \Delta G^\circ &= -n F \Delta E^\circ = -2(96,5 \text{ kJ/V. mol})(0,123 \text{ V}) = -23,7 \text{ kJ/mol} \end{aligned}$$

Ini adalah perubahan energi-bebas untuk reaksi redoks pada suhu 25°C dan pH 7 ketika *acetaldehyde*, etanol, NAD⁺ dan NADH hadir pada konsentrasi 1 M. Untuk menghitung ΔG jika [acetaldehyde] dan [NADH] adalah 1 M dan [etanol] dan [NAD⁺] adalah 0,1 M, kita pertamakali menentukan harga E untuk masing-masing reduktan.

$$\begin{aligned} E_{\text{acetaldehyde}} &= E^\circ + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[\text{acetaldehyde}]}{[\text{ethanol}]} \\ &= -0,197 \text{ V} + \frac{0,026 \text{ V}}{2} \ln \frac{1,00}{0,100} \\ &= -0,197 \text{ V} + 0,013 \text{ V} (2,303) = -0,167 \text{ V} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} E_{\text{NADH}} &= E^\circ + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[\text{NAD}^+]}{[\text{NADH}]} \\ &= -0,320 \text{ V} + \frac{0,026 \text{ V}}{2} \ln \frac{0,100}{1,00} \\ &= -0,320 \text{ V} + 0,013 \text{ V} (-2,303) = -0,350 \text{ V} \end{aligned}$$

Kita dapat menghitung ΔE dan ΔG ,

$$\begin{aligned} \Delta E &= -0,167 - (-0,350) \text{ V} = 0,183 \text{ V} \\ \Delta G &= -nF \Delta E = -2(96,5 \text{ kJ/V.mol})(0,183 \text{ V}) = -35,3 \text{ kJ/mol.} \end{aligned}$$

Ini adalah perubahan ΔG sesungguhnya pada konsentrasi pasangan reaksi redoks tersebut.

C. Kesimpulan

Energi bebas yang dihasilkan dari reaksi-reaksi katabolisme dalam bentuk: ATP, NADH, NADPH, FADH₂. ATP menyimpan energi dalam struktur kovalen gugus fosforilnya ($\sim\text{PO}_3^{2-}$). ATP berperan sebagai senyawa antara di dalam reaksi pemindahan gugus fosforil. NADH, NADPH, FADH₂ menyimpan energi dalam bentuk atom hidrogen atau elektron. Dengan demikian, NADH, NADPH, FADH₂ terlibat pada reaksi redoks. ATP dan NADPH adalah sumber energi bebas untuk reaksi-reaksi biosintesis.

D. Latihan dan Kasus

Latihan

1. Tulislah struktur molekul ATP dan tandailah ikatan yang berperan dalam reaksi penghasil energi !
2. Tulislah struktur NADH, NADPH, FADH₂ dan diskusikanlah ikatan yang berperan dalam reaksi !
3. Apakah ATP dan ADP setimbang dalam sel? Tetapan kesetimbangan, K_{eq} , untuk reaksi berikut adalah 2×10^{-5} M:



Jika konsentrasi seluler yang diukur adalah $[\text{ATP}] = 5\text{mM}$, $[\text{ADP}] = 0,5\text{mM}$, dan $[\text{Pi}] = 5\text{mM}$, apakah reaksi ini setimbang dalam sel hidup?

4. Perubahan Energi Bebas Standar Bersifat Aditif
Diketahui bahwa perubahan energi bebas standar untuk reaksi $\text{Glucose} + \text{Pi} \rightarrow \text{Glucose-6-phosphate}$ adalah $13,8\text{ kJ/mol}$, dan perubahan energi bebas standar untuk reaksi $\text{ATP} \rightarrow \text{ADP} + \text{Pi}$ adalah $230,5\text{ kJ/mol}$, berapakah perubahan energi bebas untuk reaksi :



5. Nilai Energi pada Sintesis ATP

Jika konstanta kesetimbangan, K_{eq} , untuk reaksi



adalah $2,22 \times 10^{-5}$ M, hitunglah perubahan energi bebas standar, ΔG° , untuk sintesis ATP dari ADP dan P_i pada 25°C !

6. Perubahan Energi Bebas Standar untuk Sintesis Glucose-6-phosphate

Berapa nilai perubahan energi bebas standar, ΔG° , di bawah kondisi fisiologis (*E. coli* tumbuh di usus manusia pada 37°C) untuk reaksi berikut?



Kasus

Pemecahan Glikogen pada Otot Kelinci

Penggunaan glukosa dan glikogen intraseluler diatur secara ketat pada empat titik. Untuk membandingkan proses glikolisis pada keadaan oksigen berlebih dan terbatas, perhatikanlah contoh berikut:

"Otot kaki kelinci memanfaatkan glukosa dan glikogen dalam dua keadaan fisiologis yang berbeda. Ketika kelinci istirahat kebutuhan ATP akan rendah. Namun, kelinci yang melihat musuh bebuyutannya akan lari ke liangnya"

Dari kasus ini tentukanlah tingkat relatif (tinggi, sedang, atau rendah) AMP, ATP, sitrat, dan asetil-KoA yang dibutuhkan ketika kelinci lari dari pemangsanya dan jelaskan bagaimana tingkat ini mempengaruhi aliran metabolit melalui glikolisis dengan mengatur enzim spesifik. Pada periode stres, otot kaki kelinci menghasilkan banyak ATP-nya melalui glikolisis anaerobik (fermentasi laktat) dan sangat sedikit melalui oksidasi asetil-KoA yang berasal dari degradasi lemak.

Referensi

- Denniston KJ, Topping JJ, Caret RL. (2008). *General, Organic, and Biochemistry*, 6th ed. New York: McGraw-Hill.
- Moran LA, Horton HR, Scringeur KG, Perry MD. (2012). *Principle of Biochemistry*, 5th ed. USA: Pearson Education, Inc.
- Nelson DL, Cox MM. (2013). *Lehninger Principles of Biochemistry*, 6th ed, New York: WH Freeman and Company.
- Voet D, Voet JG. (2011). *Biochemistry*. 4th edition .USA: John Wiley & Sons Inc

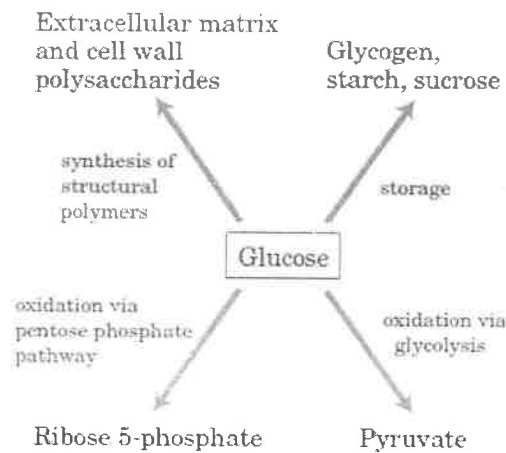
BAB IV METABOLISME KARBOHIDRAT

A. Jalur Glukosa

Glukosa menduduki posisi sentral pada metabolisme tumbuhan, binatang dan banyak mikroorganisme. **Glukosa relatif kaya energi potensial, dan merupakan bahan bakar yang baik.** Oksidasi sempurna glukosa menghasilkan karbondioksida dan air dengan energi-bebas standar (ΔG°) sebesar -2.840 kJ/mol. Glukosa disimpan sebagai polimer dengan massa molekul relatif (M_r) tinggi seperti pada pati dan glikogen. Sebuah sel dapat mencadangkan sejumlah besar unit-unit glukosanya pada pati atau glikogen sebagai penyimpanan intraseluler. Ketika kebutuhan energi sel meningkat, glukosa dapat dilepaskan dari polimer penyimpanan intraseluler yang digunakan untuk menghasilkan ATP baik pada kondisi aerob maupun anaerob.

Glukosa tidak hanya sebagai bahan bakar yang unggul. **Glukosa juga merupakan prekursor sangat serbaguna** karena glukosa dapat mensuplai intermediet metabolit untuk reaksi biosintesis. Pada bakteri seperti *E.coli*, rangka karbon glukosa digunakan untuk mensintesis beberapa asam amino, nukleotida, koenzim, asam lemak atau intermediet metabolit lain yang diperlukan untuk pertumbuhan. Pada binatang, dan tumbuhan **glukosa mempunyai empat jalur utama** (Gambar 23) yaitu dapat digunakan untuk mensintesis polisakarida kompleks ekstraseluler (polisakarida dinding sel, polisakarida ekstraseluler); penyimpan di dalam sel (sebagai glikogen, polisakarida intraseluler atau sukrosa intraseluler); dioksidasi ke senyawa tiga-karbon (*Pyruvate*) melalui jalur glikolisis untuk menghasilkan ATP dan metabolit intermediet; atau dioksidasi melalui jalur *pentose phosphate (phosphogluconate)* untuk menghasilkan *ribose 5-phosphate* yang selanjutnya digunakan untuk

mensintesis asam nukleat. NADPH yang dihasilkan digunakan pada proses biosintesis yang bersifat reduktif.



Gambar 23. Jalur Utama Pemanfaatan Glukosa
(Nelson *et al.*, 2013:527)

Pada sel non-fotosintetik, sel membuat glukosa dari prekursor tiga dan empat-karbon sederhana melalui jalur glukoneogenesis. Pada BAB ini, dijelaskan deretan reaksi pada jalur glikolisis, jalur glukoneogenesis, termasuk fermentasi, perubahan *Pyruvate* menjadi *acetyl-CoA*, siklus TCA, jalur pentosa fosfat, jalur *glyoxylate*, glikogenolisis dan glikogenesis serta penyakit genetik yang berkaitan dengan metabolisme glikogen.

B. Tahap Utama Oksidasi Glukosa

Oksidasi sempurna glukosa menghasilkan karbondioksida dan air serta disertai sejumlah energi. Proses ini dinamakan **respirasi** yang dapat ditulis dalam persamaan reaksi respirasi.



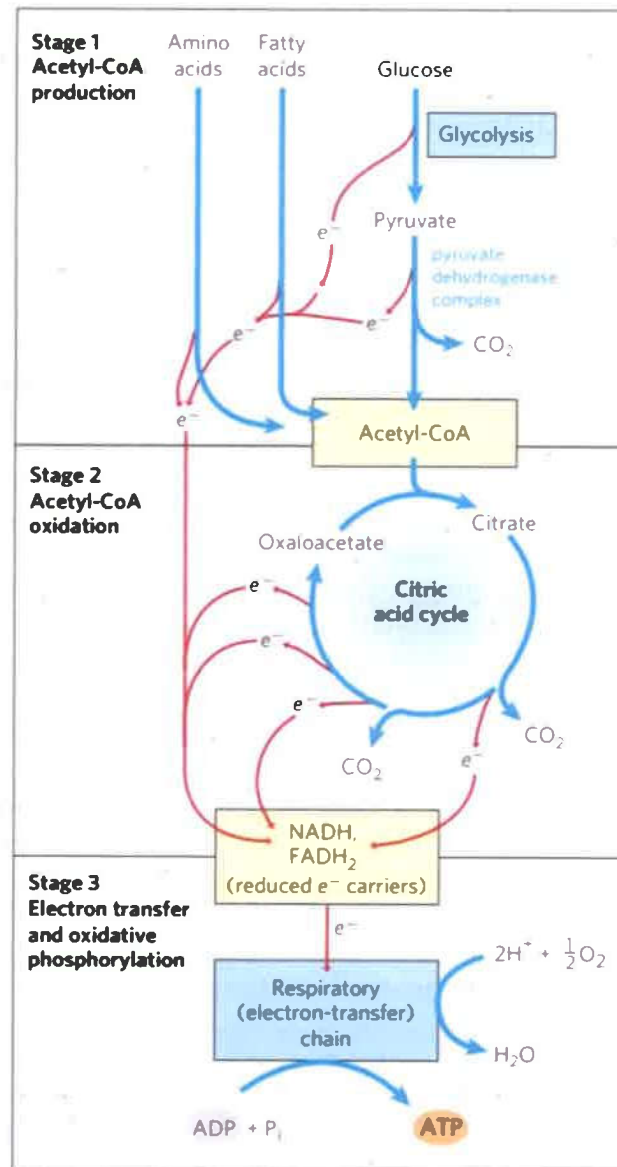
Persamaan reaksi ini telah kita kenal sejak kita mempelajari kimia di Sekolah Menengah. Persamaan reaksi respirasi ini sesungguhnya merupakan reaksi total dari sederetan reaksi dari tiga tahap utama

oksidasi glukosa yang meliputi: glukosa diubah menjadi *acetyl-CoA*, *acetyl-CoA* memasuki siklus asam sitrat yang dinamakan juga **siklus TCA** (*Tricarboxylic acid cycle*) atau **siklus Krebs**. Siklus Krebs dinamakan sesuai dengan nama penemu siklus ini yaitu Hans Krebs. Setelah Siklus Krebs, selanjutnya adalah **tahap transfer elektron dan fosforilasi oksidatif**. Keseluruhan deretan reaksi pada respirasi sel ini dikatalisis enzim dan diregulasi. Hal yang sangat menarik adalah bagaimana deretan reaksi ini diregulasi agar kadar metabolit tetap normal. Tahap-tahap utama respirasi sel dimuat pada Gambar 24.

Tahap-tahap utama respirasi sel adalah tahap pertama, molekul bahan organik seperti glukosa, asam lemak dan sebagian asam amino dioksidasi menghasilkan *acetyl-CoA*. Tahap pertama ini dinamakan juga tahap produksi *acetyl-CoA*. Pada **tahap kedua**, gugus *acetyl* pada *acetyl-CoA* memasuki siklus Krebs untuk dioksidasi selanjutnya. Pada siklus ini, gugus *acetyl* dikonversi melalui sederetan reaksi enzimatik sehingga selama proses reaksi dihasilkan CO_2 , elektron dan molekul-molekul berenergi tinggi. Pada **tahap ketiga**, elektron yang dihasilkan pada siklus Krebs dipindahkan melalui molekul pembawa elektron pada *rantai respirasi* menuju molekul O_2 dan tereduksi menjadi H_2O . Selama proses *transport elektron* banyak energi yang dibebaskan dan disimpan dalam bentuk ATP di dalam proses yang disebut *fosforilasi oksidatif*.

C. Jalur Glikolisis

Istilah glikolisis berasal dari bahasa Yunani yaitu *glykys* yang berarti gula (manis) dan *lysis* artinya pemisahan. Glikolisis merupakan jalur sentral katabolisme glukosa pada hampir semua organisme baik pada hewan, tumbuhan maupun di dalam banyak mikroorganisme. Glikolisis merupakan lintas/jalur katabolik yang paling primitif. Jalur glikolisis merupakan jalur metabolik pertama yang ditemukan dan merupakan jalur yang paling dimengerti dengan baik. Jalur **glikolisis** merupakan sederetan reaksi (10 reaksi enzimatik) yang mengubah satu molekul glukosa ke dua molekul tiga-karbon *Pyruvate* pada waktu bersamaan menghasilkan energi dalam bentuk ATP dan NADH (Tabel 4).



Gambar 24. Tahap Utama Respirasi Sel (Nelson et al., 2013:634)

Glikolisis merupakan jalur sentral universal dari katabolisme glukosa dan merupakan jalur dengan aliran metabolit paling besar di dalam sel. Deretan reaksi pada jalur glikolisis pada setiap spesies sama, berbeda hanya dalam cara pengaturan kecepatan reaksi dan dalam jalur metabolik selanjutnya dari *Pyruvate* yang terbentuk. Pada hampir semua sel, enzim-enzim yang mengkatalisis deretan reaksi pada jalur glikolisis terdapat dalam bentuk terlarut di dalam sitosol sel, yang merupakan medium cair pada sitoplasma. Dengan demikian jalur glikolisis terjadi di sitosol sel.

Penemuan jalur glikolisis berawal dari penemuan Eduard Buchner's pada tahun 1897 tentang fermentasi dari ekstrak sel ragi sampai elusidasi jalur glikolisis keseluruhan di dalam sel ragi oleh Otto Warburg dan Hans von Euler-Chelpin, dan dalam otot oleh Gustav Embden dan Otto Meyerhof dalam tahun 1930 an. Oleh sebab itu, jalur glikolisis kadang-kadang dinamakan Jalur Embden-Meyerhof. Persamaan reaksi total transformasi glukosa ke *Pyruvate* (jalur glikolisis) adalah



Pada kondisi aerobik (cukup oksigen), *Pyruvate* yang terbentuk pada jalur glikolisis dikonversi ke *acetyl-CoA* yang selanjutnya dioksidasi pada siklus Krebs dan fosforilasi oksidatif. Pada kondisi anaerob (kekurangan oksigen) *Pyruvate* direduksi ke produk akhir laktat (*homolactic fermentation*) atau etanol (*alcoholic fermentation*). Dengan demikian, terdapat tiga jalur penting setelah glikolisis.

Glikolisis memiliki dua fase

Degradasi setiap molekul glukosa (6 atom karbon) menjadi dua molekul *pyruvate* (3 atom karbon) dilangsungkan dalam 10 reaksi enzimatik yang berderet (Gambar 25). Lima deret reaksi pertama (reaksi ke-1 sampai ke-5) pada jalur glikolisis merupakan fase pertama glikolisis yang dinamakan *preparatory phase* (fase pendahuluan, persiapan). Pada fase pertama glikolisis memerlukan energi 2 molekul ATP untuk setiap molekul glukosa yang

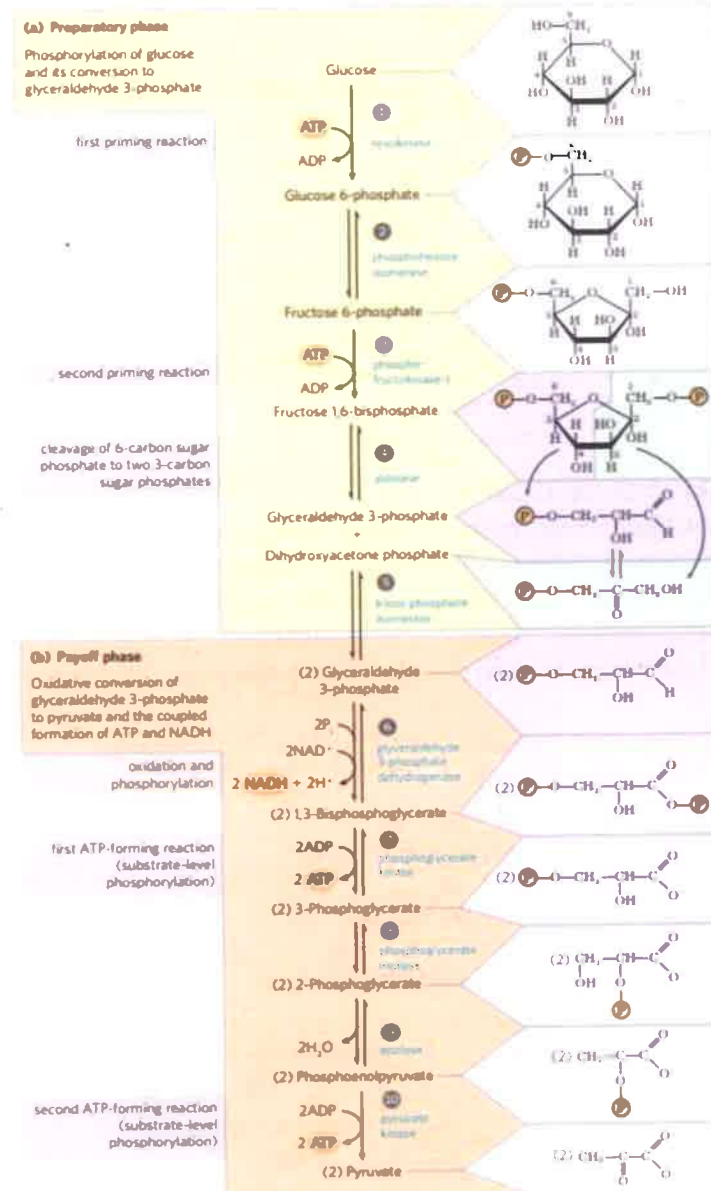
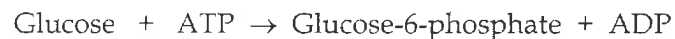
mengakibatkan pemotongan rantai heksosa. Fase pertama jalur glikolisis merupakan fase investasi ATP dimana pada fase ini, glukosa difosforilasi secara enzimatik oleh ATP. Fosforilasi pertama pada atom karbon ke-6 glukosa menghasilkan *glucose-6-phosphate*. *Glucose-6-phosphate* diisomerisasi menjadi *fructose-6-phosphate* kemudian pada atom karbon ke-1 difosforilasi menghasilkan *fructose-1,6-bisphosphate* yang kemudian diuraikan menjadi dua bagian yaitu *glyceraldehyde-3-phosphate* dan *dihydroxyacetone phosphate*.

Glyceraldehyde-3-phosphate dapat langsung diuraikan pada tahap reaksi glikolisis berikutnya, sedangkan *dihydroxyacetone phosphate* dapat dengan cepat berubah menjadi *glyceraldehyde-3-phosphate*. Heksosa lain, terutama fruktosa, galaktosa dan Mannosa juga dapat masuk ke dalam fase pertama glikolisis. Fase pertama glikolisis berfungsi untuk mengumpulkan rantai karbon semua heksosa yang telah dimetabolisme dalam satu bentuk produk umum yaitu *glyceraldehyde-3-phosphate*. Dengan demikian, *glyceraldehyde-3-phosphate* merupakan produk fase pertama glikolisis (Gambar 25).

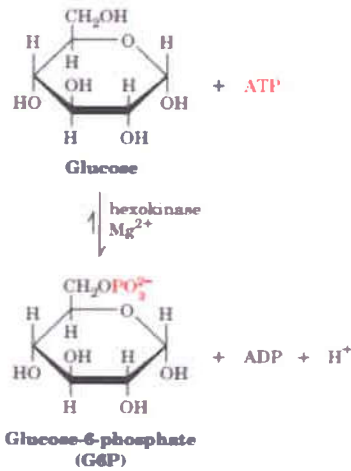
Deretan reaksi pada fase pertama jalur glikolisis

Reaksi ke-1. Fosforilasi

Molekul D-glukosa diaktifkan dengan fosforilasi pada posisi atom C ke-6 dengan cara mentransfer gugus fosforil dari ATP ke glukosa menghasilkan *glucose-6-phosphate* dan ADP. Reaksi ini dikatalisis oleh *hexokinase* dan merupakan **reaksi yang tidak dapat balik** pada kondisi intraselular. *Hexokinase* melangsungkan fosforilasi tidak hanya pada D-glukosa, tetapi pada heksosa lain seperti D-fruktosa dan D-Mannosa. *Hexokinase* memerlukan Mg^{2+} untuk aktivitasnya. Setiap terjadi kenaikan konsentrasi *glucose-6-phosphate* di dalam sel di atas konsentrasi normalnya, molekul ini berfungsi sebagai inhibitor allosterik bagi *hexokinase*, sehingga kecepatan pembentukan *glucose-6-phosphate* menjadi seimbang dengan kecepatan penggunaannya.

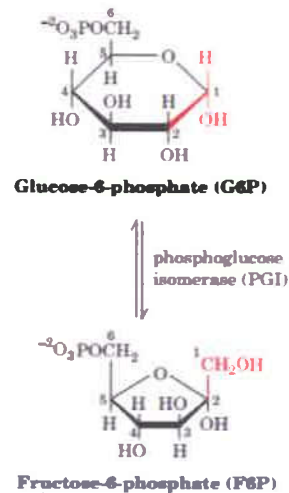


Gambar 25. Dua Fase pada Jalur Glikolisis (Nelson et al., 2013:545)



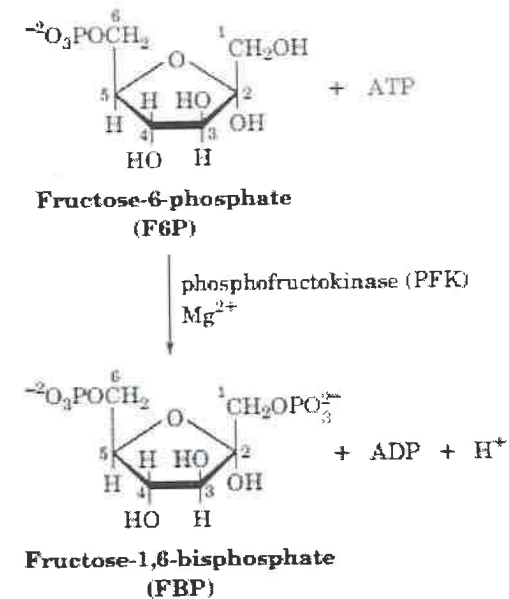
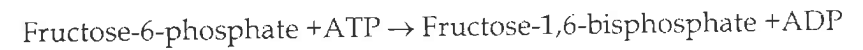
Reaksi ke-2. Isomerisasi

Fosfoglukoisomerase mengkatalisis isomerisasi dapat balik senyawa *glucose-6-phosphate* menjadi *fructose-6-phosphate*. Fosfoglukoisomerase memerlukan Mg^{2+} dan bersifat spesifik bagi *glucose-6-phosphate* dan *fructose-6-phosphate*. Reaksi ini melibatkan pergeseran oksigen karbonil dari atom karbon no-1 ke atom karbon no.2. Reaksi reversibel.



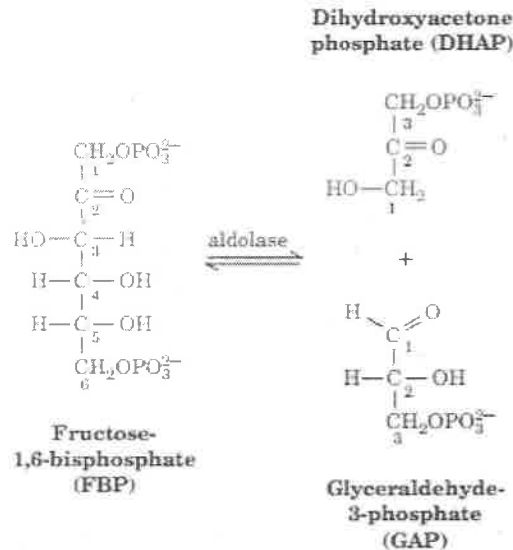
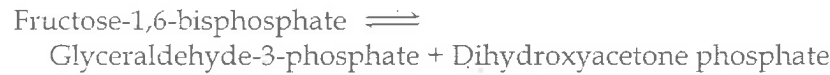
Reaksi ke-3 Fosforilasi

Phosphofruktokinase mengkatalisis pemindahan gugus fosfat dari ATP ke *fructose-6-phosphate* pada posisi 1 menghasilkan *fructose-1,6-bisphosphate*. Reaksi ini merupakan reaksi tidak dapat balik pada kondisi yang berlaku di dalam sel. Reaksi ini merupakan bagian pengontrol penting kedua pada glikolisis. Phosphofruktokinase seperti *hexokinase* merupakan enzim allosterik. Enzim ini merupakan pengatur utama pada glikolisis otot. Aktivitas phosphofruktokinase dipercepat jika cadangan ATP sel berkurang atau kelebihan ADP dan AMP, terutama kelebihan AMP. Enzim ini dihambat jika ATP di dalam sel cukup tinggi.



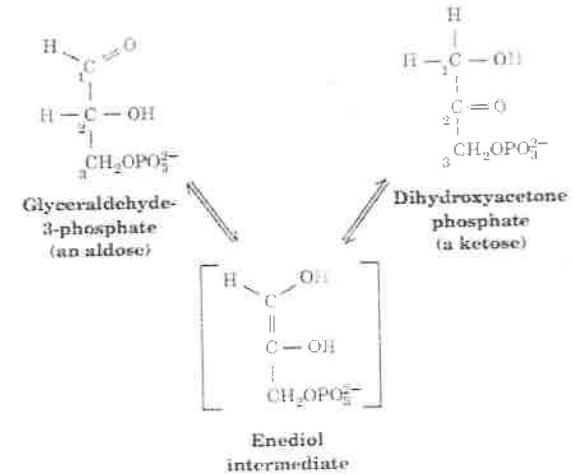
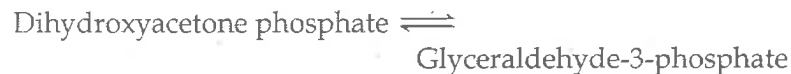
Reaksi ke-4. Pemutusan

Reaksi ini dikatalisis oleh enzim *fructose diphosphate aldolase*, yang seringkali secara sederhana disebut *aldolase*. Reaksi yang dikatalisis merupakan kondensasi aldol yang bersifat dapat balik. *Fructose-1,6-bisphosphate* diuraikan secara dapat balik menghasilkan dua triosa fosfat yang berbeda yaitu *glyceraldehyde-3-phosphate* suatu aldosa dan *dihydroxyacetone phosphate* suatu ketosa.



Reaksi ke-5. Isomerisasi

Dihydroxyacetone phosphate dapat dengan cepat dan dalam reaksi dapat balik berubah menjadi *glyceraldehyde-3-phosphate* atau sebaliknya oleh enzim triosa fosfat isomerase.

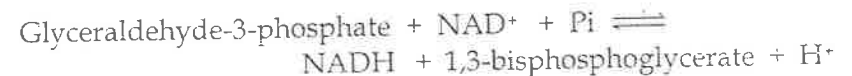


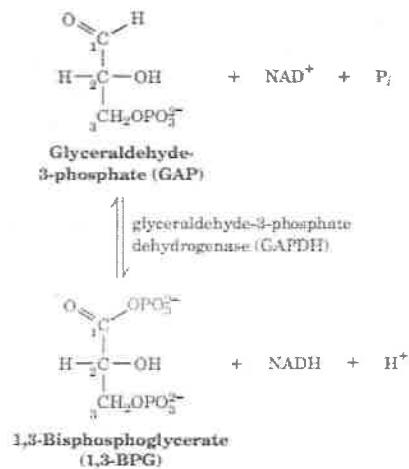
Deretan reaksi pada fase kedua jalur glikolisis

Fase kedua glikolisis disebut *Payoff phase* (fase hasil, reaksi ke-6 sampai ke-10), merupakan reaksi penyimpanan energi. Fase kedua jalur glikolisis meliputi reaksi redoks dan reaksi fosforilasi yang mengandung reaksi-reaksi penyimpanan energi. Pada fase ini setiap 2 molekul *glyceraldehyde-3-phosphate* yang terbentuk pada fase pertama glikolisis diubah menjadi 2 molekul *Pyruvate* yang disertai dengan pembentukan 4 molekul ATP dan 2 molekul NADH (Gambar 25).

Reaksi ke-6. Oksidasi

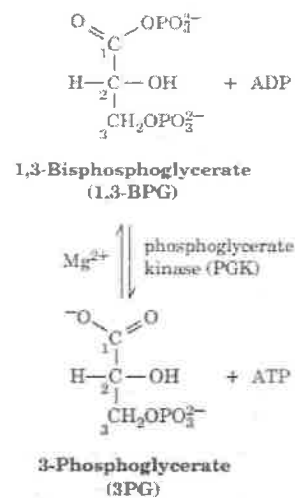
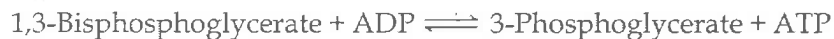
Reaksi ini merupakan reaksi pertama penghasil energi pada jalur glikolisis. Reaksi ini terjadi dalam dua langkah yaitu NAD^+ direduksi menjadi NADH sebagai akibat gugus aldehyd pada *glyceraldehyde-3-phosphate* dioksidasi menjadi gugus karboksil. Pada langkah kedua gugus fosfat ditransfer ke gugus karbonil untuk menghasilkan *1,3-bisphosphoglycerate*. Reaksi ini dikatalisis oleh *glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase* dan merupakan reaksi dapat balik. Senyawa *1,3-bisphosphoglycerate* merupakan senyawa fosfat berenergi super tinggi.





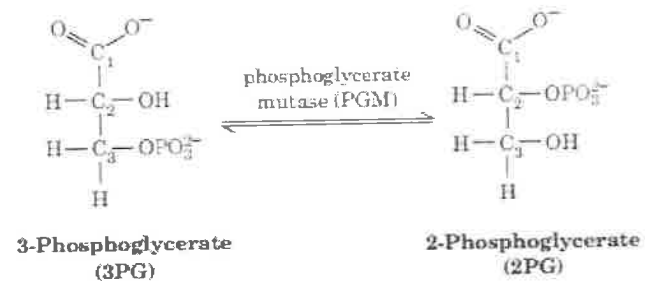
Reaksi ke-7. Transfer gugus fosfat

Pada reaksi ini energi dipanen dalam bentuk ATP. Enzim *phosphoglycerate kinase* memindahkan gugus fosfat berenergi tinggi dari gugus karboksil *1,3-bisphosphoglycerate* ke ADP membentuk ATP dan *3-phosphoglycerate*. Reaksi ini dapat balik pada kondisi sel.



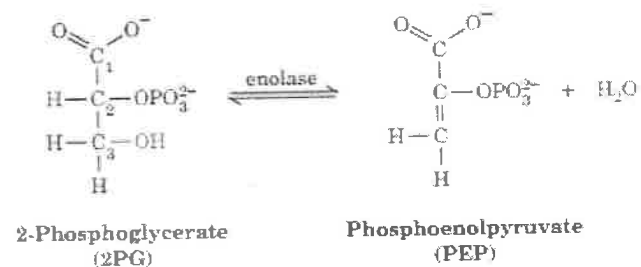
Reaksi ke-8. Isomerisasi

Reaksi ini melibatkan pergeseran gugus fosfat pada posisi atom C ke-3 ke posisi atom C ke-2 molekul gliserat yang dikatalisis oleh *phosphoglycerate mutase* (PGM). Reaksi ini dapat balik, Mg^{2+} diperlukan dalam reaksi.



Reaksi ke-9. Dehidrasi

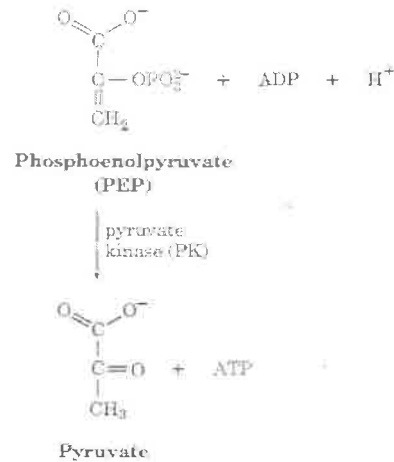
Dehidrasi *2-phosphoglycerate* dikatalisis oleh *enolase* yang menyebabkan pemindahan dapat balik molekul air dari *2-phosphoglycerate* menghasilkan *phosphoenolpyruvate*, suatu senyawa fosfat berenergi super tinggi.



Reaksi ke-10. Pemindahan gugus fosfat

Pemindahan gugus fosfat berenergi tinggi dari *phosphoenolpyruvate* ke ADP menghasilkan ATP dan *Pyruvate*. Reaksi ini bersifat tidak dapat balik pada kondisi intraseluler. Reaksi ini dikatalisis oleh

Pyruvate kinase (PK). M_r enzim ini sekitar 250.000. Aktivitas Pyruvate kinase memerlukan ion K^+ dan Mg^{2+} atau Mn^{2+} .



Tabel 4. Deretan Reaksi pada Jalur Glikolisis Eukariot

Reaksi pada jalur glikolisis	ΔG° (kJ/mol)	ΔG (kJ/mol)
1. Glukosa + ATP \rightarrow Glukosa 6-fosfat + ADP	-16,7	-33,4
2. Glukosa 6-fosfat \rightleftharpoons Fruktosa 6- fosfat	1,7	0 sd 25
3. Fruktosa 6-fosfat + ATP \rightarrow Fruktosa 1,6-bisfosfat + ADP	14,2	-22,2
4. Fruktosa 1,6-bisfosfat + ADP \rightleftharpoons Dihidroksiaseton fosfat + Gliseraldehid 3-fosfat	23,8	-6 sd 0
5. Dihidroksiaseton fosfat \rightleftharpoons Gliseraldehid 3-fosfat	7,5	0 sd 4
6. Gliseraldehid 3-fosfat + Pi + NAD ⁺ \rightleftharpoons 1,3-Bisfosfoglisarat + NADH + H ⁺	6,3	-2 sd 2
7. 1,3-Bisfosfoglisarat + ADP \rightleftharpoons 3-Fosfoglisarat + ATP	-18,8	0 sd 2
8. 3-Fosfoglisarat \rightleftharpoons 2-Fosfoglisarat	44	0 sd 0,8
9. 2-Fosfoglisarat \rightleftharpoons Fosfoenolpiruvat + H ₂ O	7,5	0 sd 33
10. Fosfoenolpiruvat + ADP \rightarrow Pyruvate + ATP	-31,4	-16,7

(Nelson et al., 2013:553)

Keterangan :

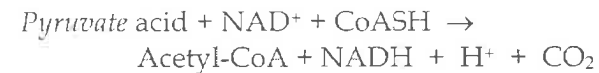
ΔG° perubahan energi-bebas standar

ΔG perubahan energi-bebas yang dihitung pada metabolit glikolisis sesungguhnya (fisiologis pH7)

D. Tiga Jalur Penting Setelah Glikolisis

Pyruvate merupakan titik penghubung penting di dalam katabolisme karbohidrat. Terdapat tiga jalur penting yang dapat dilalui oleh pyruvate (setelah jalur glikolisis) (Gambar 26 dan Gambar 27). Energi yang terlibat pada jalur tersebut dimuat pada Gambar 27. Jalur pyruvate yang pertama adalah siklus Krebs, dilanjutkan transfer elektron dan fosforilasi oksidatif (perhatikanlah Gambar 27). Nama siklus Krebs berasal dari nama Sir Hans Krebs yang berjasa pada riset siklus ini. Siklus Krebs dinamakan juga siklus *tricarboxylic acid*, TCA, karena metabolit awal pada siklus ini mempunyai tiga gugus karboksil. Perhatikanlah struktur molekul metabolit awal pada siklus Krebs.

Pada jalur pyruvate yang pertama, pyruvate dioksidasi dengan melepaskan gugus karboksilnya sebagai CO_2 , dan membentuk gugus acetyl pada acetyl-CoA. Persamaan reaksinya adalah

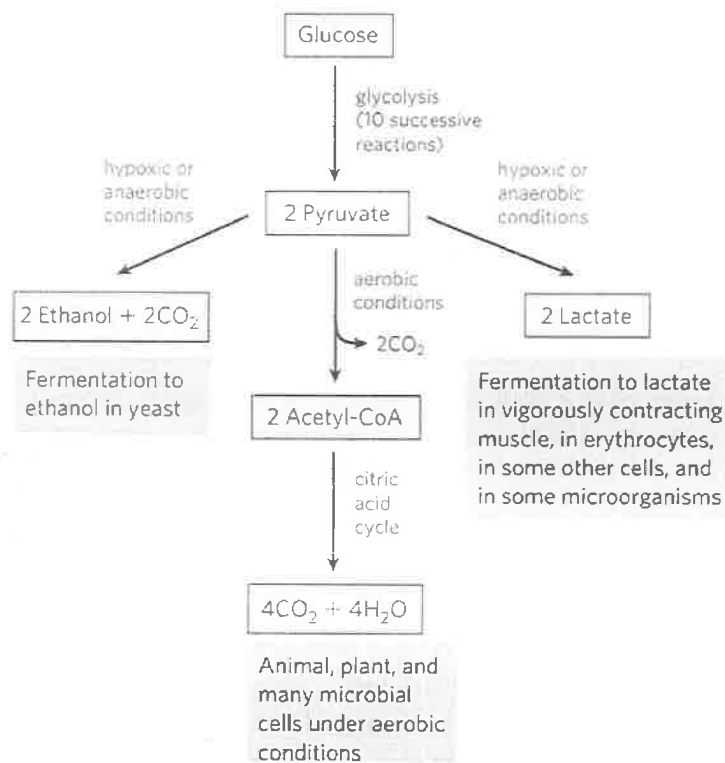


Reaksi ini dikatalisis oleh *pyruvate dehydrogenase complex*. Selanjutnya gugus acetyl pada acetyl-CoA dioksidasi sempurna menjadi CO_2 dan menghasilkan molekul berenergi tinggi pada siklus Krebs. Persamaan reaksi total siklus Krebs adalah



Molekul berenergi tinggi yang dihasilkan pada siklus Krebs dipisahkan menjadi proton dan elektron yang dipindahkan melalui molekul pembawa elektron pada rantai respirasi menuju molekul O_2 dan tereduksi menjadi H_2O . Selama proses transfer elektron banyak

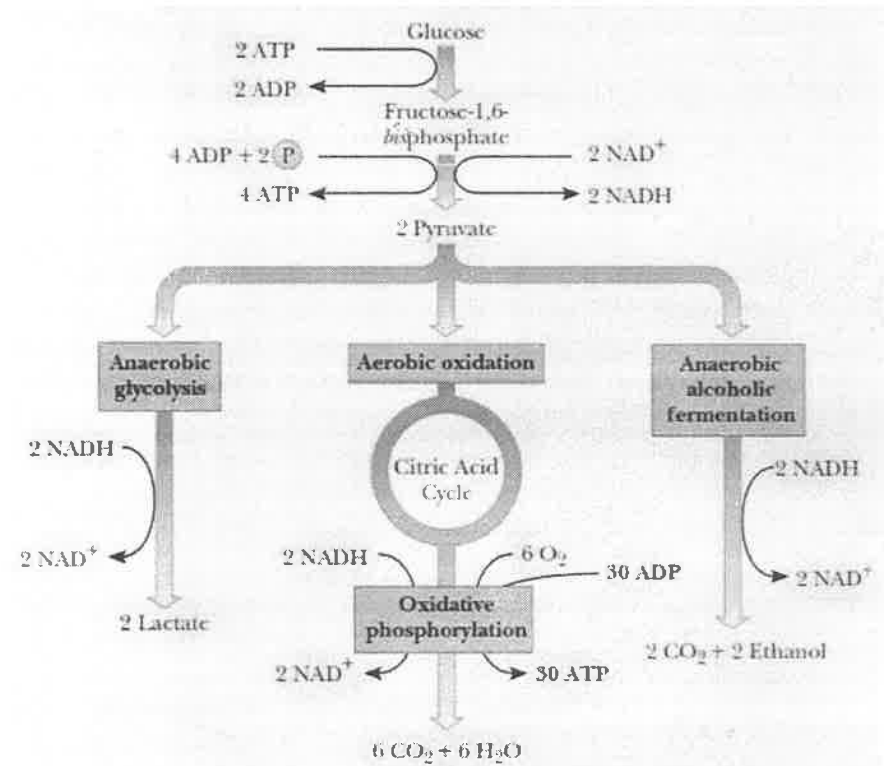
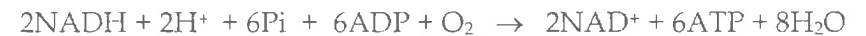
energi yang dibebaskan dan disimpan dalam bentuk ATP pada proses yang disebut **fosforilasi oksidatif**. Dengan demikian, jalur glikolisis merupakan jalur pertama dari keseluruhan degradasi aerobik glukosa menjadi CO_2 dan H_2O . Lintas inilah yang dilalui *pyruvate* pada organisme aerobik yakni hewan aerobik dan tumbuhan. Dengan demikian, jalur ini ditempuh jika tersedia oksigen yang cukup untuk mengoksidasi sempurna molekul glukosa menjadi CO_2 dan H_2O .



Gambar 26. Tiga Jalur Penting Setelah Glikolisis (Nelson et al., 2013:548)

Selanjutnya, NADH yang dihasilkan pada jalur glikolisis ke mana? NADH yang terbentuk di sitosol pada jalur glikolisis diangkut ke dalam mitokondria melalui sistem NADH shuttle yaitu *glycerol phosphate shuttle* atau *malate-aspartate shuttle*. Dengan kata lain, NADH

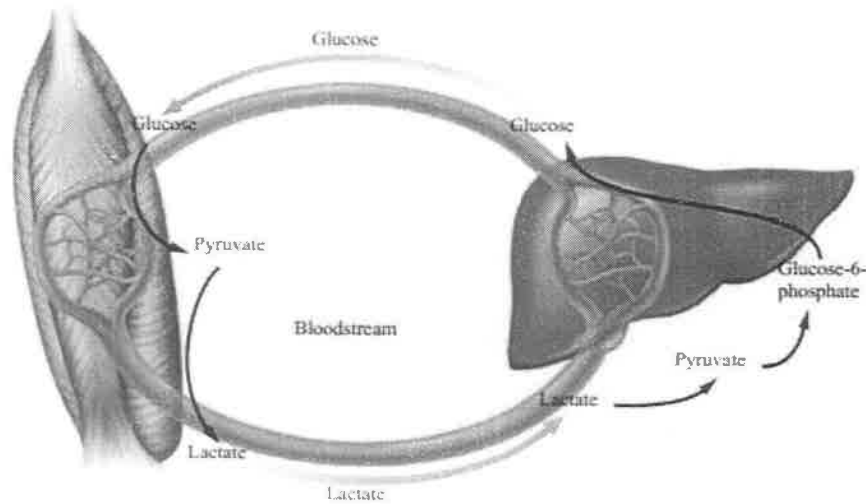
dioksidasi kembali menjadi NAD^+ dan elektronnya dipindahkan ke rantai transport elektron yang dalam sel-sel eukariotik terletak pada membran-dalam mitokondria. Elektron-elektron tersebut pada akhirnya dipindahkan ke molekul O_2 yang tereduksi membentuk H_2O . Pada proses transfer elektron pada rantai transport elektron dihasilkan ATP. Jika digunakan *malate-aspartate shuttle*, persamaan reaksinya adalah



Gambar 27. Energi yang Terlibat pada Tiga Jalur Setelah Glikolisis (Campbell et al., 2006:464)

Jalur *pyruvate* yang kedua adalah reduksi *Pyruvate* menjadi asam laktat. Jika suplai oksigen tidak cukup, maka *pyruvate* diubah

ke asam laktat karena *pyruvate* yang terbentuk dari glukosa tidak dapat dioksidasi lebih lanjut. Gerak cepat secara mendadak membutuhkan jalur ini untuk menghasilkan ATP di dalam otot kerangka. Pada otot kerangka proses ini merupakan sumber energi ATP yang penting bagi aktivitas fisik yang amat intensif tersebut. Pada beberapa hewan, jalur ini merupakan proses yang amat penting dalam aktivitas otot. Jalur ini berperan pada hampir semua vertebrata termasuk manusia. Pada aktivitas yang bersifat ekstrim, misalnya pada tubuh si pelari cepat selama lari cepat 100m, pada saat itu oksigen tidak dapat dibawa pada kecepatan yang cukup ke otot. Akibatnya, laktat mencapai konsentrasi yang tinggi pada otot dan cairan ekstraselular, serta di dalam darah pada tubuh si pelari cepat tersebut. Laktat pada darah memasuki hati selanjutnya secara perlahan laktat diubah kembali menjadi *pyruvate* dan selanjutnya menjadi glukosa di hati. Glukosa yang terbentuk di hati dapat memasuki darah dan dapat masuk ke sel otot. Pertukaran metabolit ini antara hati dan otot digambarkan pada **siklus Cori** (Gambar 28). Jika glukosa tidak digunakan lagi untuk glikolisis, maka glukosa dapat membentuk glikogen dalam sel hati dan sel otot.



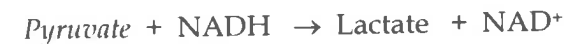
Gambar 28. Siklus Cori
(Denniston *et al.*, 2008:751)

Perubahan glukosa membentuk asam laktat dinamakan dengan **fermentasi laktat atau fermentasi asam laktat**. Asam laktat juga merupakan produk di dalam beberapa mikroorganisme anaerobik yang dikelompokkan sebagai bakteri asam laktat. Produksi asam laktat dari gula oleh bakteri asam laktat menyebabkan pengumpulan susu dan rasa agak asam pada fermentasi susu (yoghurt, dadih dan beberapa keju), rasa agak asam pada fermentasi sayur. Persamaan reaksi total transformasi *glukosa* ke asam laktat adalah



Reduksi *pyruvate* menjadi laktat

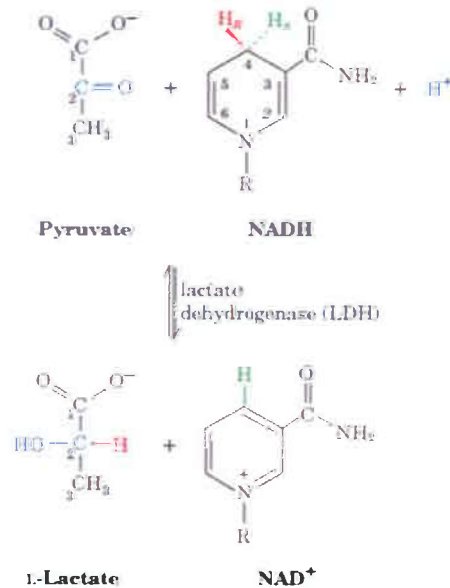
Pada kondisi anaerob, di dalam jaringan otot yang aktif atau di dalam bakteri asam laktat, NADH yang terbentuk pada jalur glikolisis tidak dapat dioksidasi kembali menjadi NAD^+ oleh O_2 , tetapi harus dioksidasi kembali oleh *pyruvate* yang menyebabkan *pyruvate* tereduksi menjadi laktat (Gambar 29). Pada kondisi ini elektron yang semula diberikan oleh *glyceraldehyde-3-phosphate* kepada NAD^+ diangkut dalam bentuk NADH menuju *Pyruvate*. Reduksi *pyruvate* dikatalisis oleh *lactate dehydrogenase* (LDH). Reaksi ini merupakan reaksi yang tidak dapat balik pada kondisi seluler.



Jalur *pyruvate* yang ketiga adalah perubahan *pyruvate* menjadi etanol dan CO_2 . *Pyruvate* yang terbentuk dari glukosa melalui jalur glikolisis diubah secara anaerobik menjadi etanol dan CO_2 . Perubahan glukosa menjadi etanol dikenal dengan **fermentasi alkohol**. Fermentasi alkohol terjadi pada beberapa mikroorganisme seperti pada ragi. Pembentukan etanol dan CO_2 oleh mikroorganisme ini telah dimanfaatkan pada beberapa pembuatan minuman beralkohol seperti arak, minuman anggur dan makanan beralkohol seperti tape singkong, dan tape ketan. Fermentasi alkohol juga telah diterapkan pada pembuatan bioetanol, dan pada pembuatan roti.

Fermentasi merupakan istilah umum yang menunjukkan degradasi anaerobik glukosa atau nutrien organik lainnya menjadi berbagai produk (khas bagi organisme tertentu) untuk memperoleh

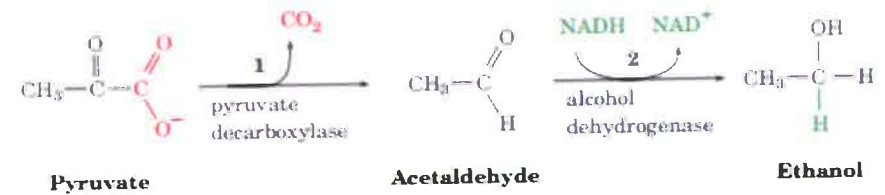
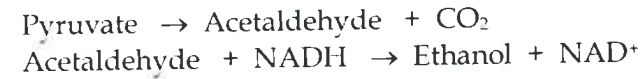
energi dalam bentuk ATP. Transformasi glukosa secara anaerobik merupakan jenis mekanisme biologi yang paling primitif untuk memperoleh energi dari molekul bahan bakar organik. Persamaan reaksi total transformasi glukosa ke etanol (fermentasi alkohol) :



Gambar 29. Reaksi Akhir Fermentasi Laktat
(Voet *et al.*, 2011:614)

Transformasi *pyruvate* menjadi etanol

Pada kondisi anaerob, *pyruvate* yang terbentuk pada jalur glikolisis dikonversi menjadi etanol. Transformasi *pyruvate* menjadi etanol melibatkan dua reaksi yaitu pembentukan CO_2 dari *pyruvate* menghasilkan *acetaldehyde* yang dikatalisis oleh *pyruvate decarboxylase*. Reaksi berikutnya reduksi *acetaldehyde* ke etanol yang dikatalisis oleh *alcohol dehydrogenase*. Kedua reaksi ini dimuat pada Gambar 30. Pada reaksi kedua dihasilkan kembali NAD^+ yang dapat digunakan kembali pada glikolisis.



Gambar 30. Dua Reaksi Akhir Fermentasi Alkohol
(Voet *et al.*, 2011:616)

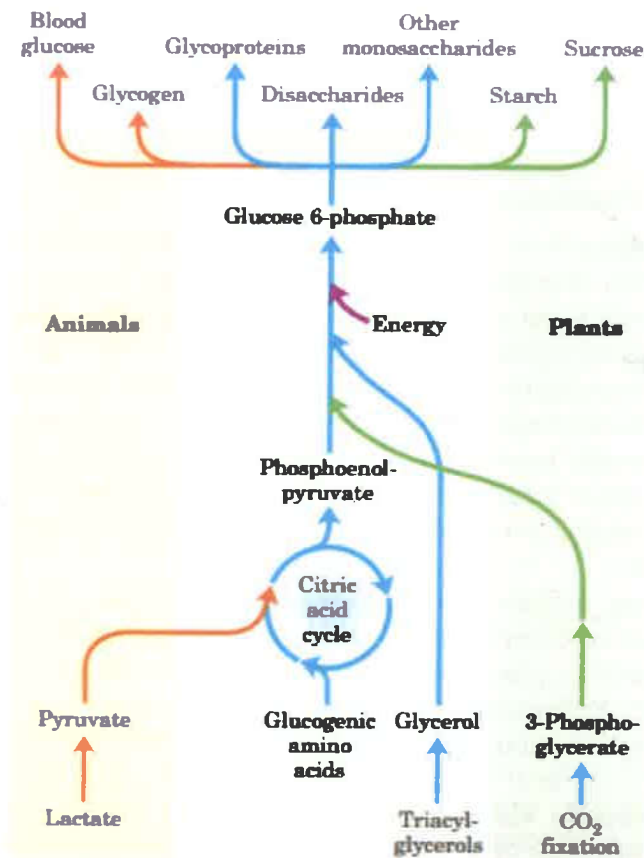
E. Jalur Glukoneogenesis

Glukosa merupakan bahan bakar universal dari mikroba sampai manusia dan merupakan satu-satunya sumber energi sel darah merah mamalia dan sumber energi utama untuk otak. Pada kondisi normal, kita mempunyai cukup glukosa sesuai yang kita butuhkan. Bagaimanapun juga pada kondisi tertentu tubuh kita harus membuat glukosa. Hal ini terjadi jika tubuh dalam latihan yang berat seperti olah raga berat, beraktivitas dalam keadaan berpuasa, dan dalam keadaan sangat lapar. Pada keadaan ini, tubuh dapat mensuplai glukosa dengan cara mensintesis glukosa dari prekursor non karbohidrat.

Glukosa adalah prekursor utama untuk membuat semua karbohidrat termasuk polisakarida, komponen karbohidrat dari glikoprotein dan glikolipid. Keperluan glukosa sebagai biosintetik intermediet menandakan bahwa glukoneogenesis adalah jalur penting pada tumbuh-tumbuhan, binatang dan mikroorganisme. Jalur ini adalah identik pada semua organisme. Jalur glukoneogenesis terutama terjadi di dalam sitosol, meskipun beberapa prekursor dihasilkan di mitokondria dan harus ditransport ke sitosol. Organ glukoneogenetik utama pada binatang adalah hati dan *cortex ginjal*.

Sintesis glukosa dari prekursor nonkarbohidrat merupakan jalur glukoneogenesis. Glukoneogenesis artinya pembentukan gula baru, *gluco* artinya gula, *neo* artinya baru, *genesis* artinya permulaan. Glukoneogenesis terjadi pada semua binatang, tumbuhan, fungi dan

mikroorganisme. Reaksi ini adalah esensial pada semua jaringan dan spesies. Prekursor penting sintesis glukosa pada binatang adalah senyawa tiga karbon seperti laktat, *pyruvate*, gliserol dan semua asam amino kecuali leusin dan lisin (Gambar 31) (Nelson *et al.*, 2013:569, Denniston *et al.*, 2008:750). Asam amino dan gliserol umumnya digunakan pada kondisi sangat lapar.



Gambar 31. Prekursor Jalur Glukoneogenesis pada Binatang, dan Tumbuhan (Nelson *et al.*, 2013:569)

Pada bakteri dan eukariot sel tunggal seperti ragi memanfaatkan asetat sebagai prekursor glukoneogenesis. Beberapa spesies dapat

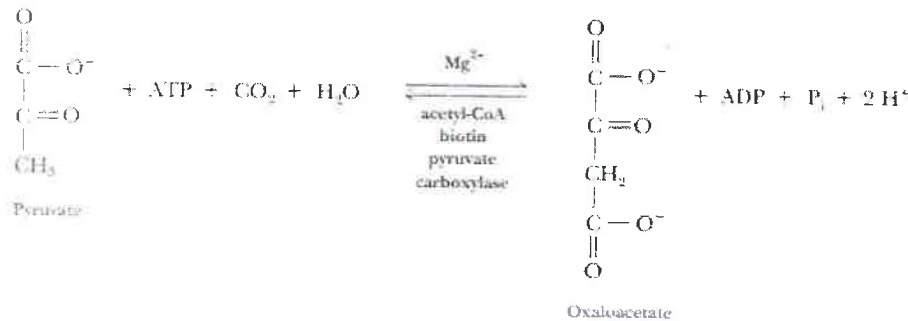
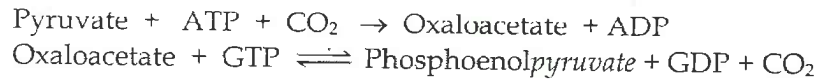
mensintesis asetat secara langsung dari CO_2 . Pada spesies ini jalur glukoneogenesis menyediakan rute untuk sintesis glukosa dari substrat inorganik. Pada binatang pemamah biak seperti lembu, jerapah, rusa dan unta, propionat dan laktat yang dihasilkan oleh mikroorganisme dalam rumen diserap dan masuk ke jalur glukoneogenesis. Propionat dikonversi ke *propionyl-CoA* dan kemudian ke *succinyl-CoA*. *Succinyl-CoA* adalah intermediet siklus TCA yang dapat dimetabolisme ke *oxaloacetate*. Laktat dari rumen dioksidasi ke *pyruvate*. Gliserol dapat dikonversi ke glukosa melalui rute yang dimulai dengan fosforilasi ke *glycerol-3-phosphate* yang dikatalisis oleh *glycerol kinase*. *Glycerol-3-phosphate* memasuki jalur glukoneogenesis setelah dikonversi ke *dihydroxyacetone phosphate* oleh *glycerol-3-phosphate dehydrogenase*.

Pembentukan glukosa dari prekursor *pyruvate*

Proses konversi asam *pyruvate* menjadi glukosa merupakan jalur pusat biosintesis karbohidrat pada berbagai organisme. Deretan reaksi pembentukan glukosa dari *pyruvate* dimuat pada Tabel 5. Jalur ini bukan merupakan kebalikan dari jalur glikolisis. Kebanyakan reaksi-reaksi dari asam *pyruvate* ke glukosa dikatalisis oleh enzim-enzim jalur glikolisis kecuali pada 3 posisi yang dikatalisis oleh enzim berbeda yang dinamakan 'by-passed' (Gambar 32). Dengan demikian, metabolit intermediet jalur glukoneogenesis dan glikolisis hampir identik. Tiga posisi 'by passed' pada glukoneogenesis adalah sebagai berikut:

Reaksi *by passed* ke-1

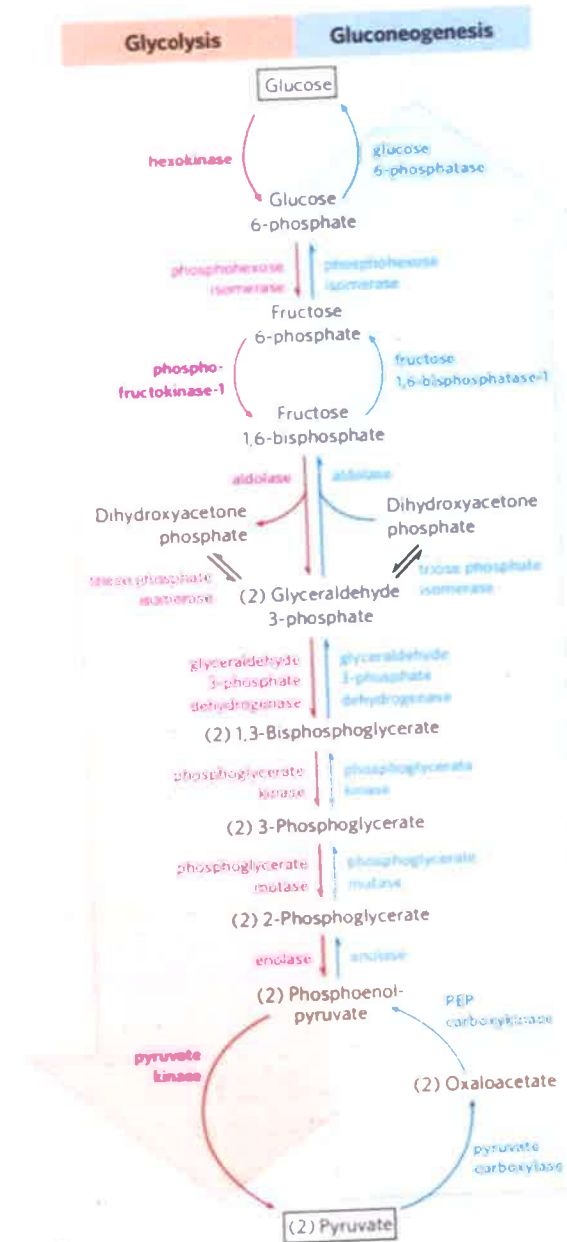
Perubahan *pyruvate* menjadi *phosphoenolpyruvate* membutuhkan dua reaksi eksergonik yaitu perubahan *pyruvate* menjadi *oxaloacetate* yang dikatalisis oleh *pyruvate carboxylase*. Reaksi ini terjadi di mitokondria, kemudian dilanjutkan menjadi *phosphoenolpyruvate* yang dikatalisis oleh *phosphoenolpyruvate carboxykinase*. Enzim ini memindahkan CO_2 dari *oxaloacetate* dan menambahkan gugus fosforil dari GTP. *Pyruvate carboxylase* adalah enzim allosterik yang ditemukan pada mitokondria, sedangkan *phosphoenolpyruvate carboxykinase* ditemukan di sitoplasma dan di mitokondria (Campbell *et al.*, 2006:498).



Tabel 5. Deretan Reaksi Glukoneogenesis dengan Prekursor *Pyruvate*

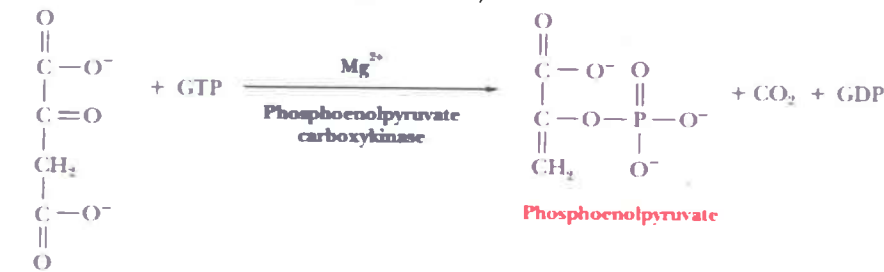
Reaksi glukoneogenesis	Jumlah
Piruvat + HCO ⁻ + ATP → Oksaloasetat + ADP + Pi	2x
Oksaloasetat + GTP ⇌ Fosfoenolpiruvat + CO ₂ + GDP	2x
Fosfoenolpiruvat + H ₂ O ⇌ 2-Fosfoglisarat	2x
2-Fosfoglisarat ⇌ 3-Fosfoglisarat	2x
3-Fosfoglisarat + ATP ⇌ 1,3-Bisfosfoglisarat + ADP	2x
1,3-Bisfosfoglisarat + NADH + H ⁺ ⇌ Gliseraldehid-3-fosfat + NAD ⁺ + Pi	2x
Gliseraldehid-3-fosfat ⇌ Dihidroksiaseton fosfat	
Gliseraldehid-3-fosfat + Dihidroksiaseton fosfat ⇌ Fruktosa-1,6-bisfosfat	
Fruktosa-1,6-bisfosfat ⇌ Fruktosa-6-fosfat + Pi	
Fruktosa-6-fosfat ⇌ Glukosa 6-fosfat	
Glukosa-6-fosfat + H ₂ O → Glukosa + Pi	
Jumlah :	
2 piruvat + 4ATP + 2GTP + 2NADH + 2H ⁺ + 4H ₂ O → Glukosa + 4ADP + 2GDP + 6Pi + 2NAD ⁺	

(Nelson et al., 2013:556)



Gambar 32. Glikolisis, Glukoneogenesis dengan Prekursor *Pyruvate*

(Nelson et al., 2013:569)



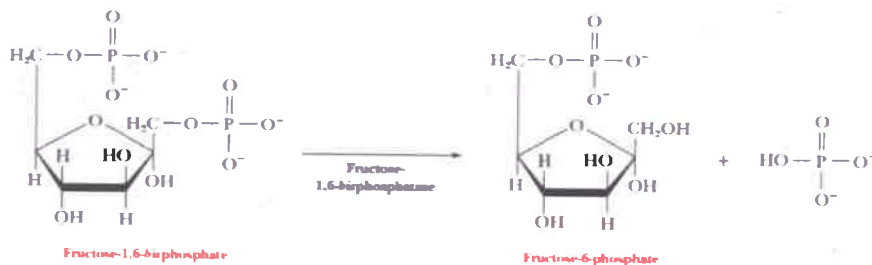
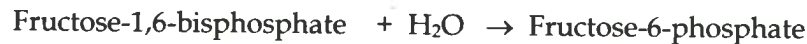
Oxaloacetate

Phosphoenolpyruvate

Phosphoenolpyruvate yang terbentuk dapat meninggalkan mitokondria melalui transport spesifik untuk melanjutkan jalur glukoneogenesis di sitosol. Tetapi oxaloacetate yang terbentuk di mitokondria tidak dapat meninggalkan mitokondria. Oleh sebab itu, alternatif kedua adalah oxaloacetate direduksi membentuk malat yang dikatalisis oleh malate dehydrogenase mitokondria. Reaksi ini membutuhkan NADH sebagai reduktor. Kemudian malat, meninggalkan mitokondria dan dioksidasi menjadi oxaloacetate kembali yang dikatalisis oleh malate dehydrogenase sitosol. Oxaloacetate di sitosol membentuk phosphoenolpyruvate dan melanjutkan jalur glukoneogenesis di sitosol. Deretan reaksi konversi pyruvate di mitokondria menjadi oxaloacetate di sitosol dimuat pada Gambar 33.

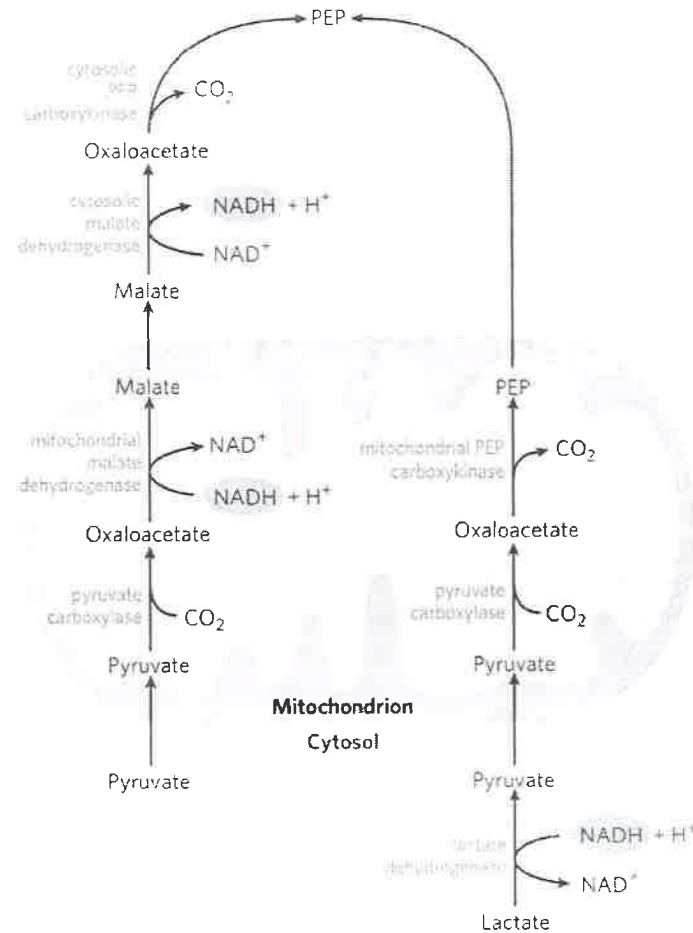
Reaksi by passed ke-2

Konversi fructose-1,6-bisphosphate menjadi fructose-6-phosphate dikatalisis oleh fructose-1,6-bisphosphatase. Reaksi ini terjadi di sitosol.



Fructose-1,6-bisphosphate

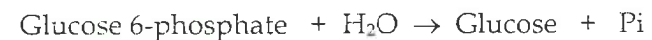
Fructose-6-phosphate

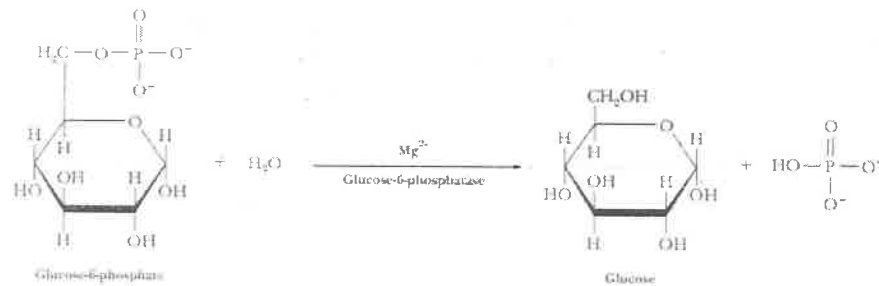


Gambar 33. Tempat Reaksi Konversi Pyruvate Menjadi Oxaloacetate (Nelson et al., 2013:572)

Reaksi by passed ke-3

Konversi glucose-6-phosphate menjadi glukosa dikatalisis oleh glucose-6-phosphatase. Enzim ini ditemukan di liver tetapi tidak ditemukan di otot.





Pembentukan glukosa dari laktat

Konversi laktat menjadi glukosa adalah penting pada mamalia. Seperti kerja otot yang menghasilkan laktat. Laktat yang terbentuk dapat diubah kembali menjadi glukosa di hati. Glukosa ditransport masuk ke dalam darah dan dikembalikan ke otot. Glukosa di dalam otot dapat dikatabolisme untuk menghasilkan ATP atau digunakan untuk disimpan sebagai glikogen. Proses siklik laktat dan glukosa antara hati dan otot dinamakan **siklus Cori** (Gambar 28). Melalui siklus ini, glukoneogenesis menghasilkan cukup glukosa di hati untuk dapat disimpan sebagai glikogen di otot.

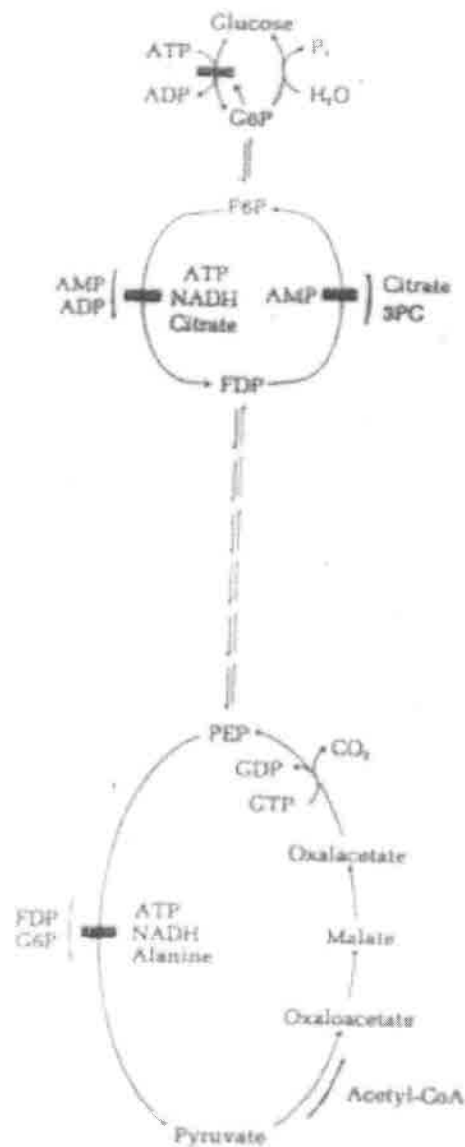
F. Pengendalian pada Jalur Glikolisis dan Glukoneogenesis

Mekanisme utama mengontrol kecepatan jalur glikolisis dan glukoneogenesis adalah melalui regulasi enzim allosterik. Pengendalian kecepatan jalur glikolisis dan glukoneogenesis merupakan pengendalian melalui enzim regulasi (*regulatory enzyme*) allosterik. *Regulatory enzyme* allosterik pada jalur glikolisis adalah **hexokinase** mengkatalisis glukosa menjadi *glucose-6-phosphate* (reaksi pertama), *phosphofruktokinase* mengkatalisis pemindahan gugus fosfat dari ATP ke senyawa *D-fructose-6-phosphate* pada posisi 1 menghasilkan *fructose-1,6-bisphosphate* (reaksi ke-3), dan *pyruvate kinase* mengkatalisis pemindahan gugus fosfat berenergi tinggi dari *phosphoenolpyruvate* ke ADP menghasilkan ATP dan *Pyruvate* (reaksi ke-10). Posisi-posisi regulasi pada jalur glikolisis terletak pada reaksi yang dikatalisis oleh enzim tersebut (Gambar 34)

Enzim **hexokinase** diinhibisi oleh produknya sendiri yaitu *glucose-6-phosphate*. Enzim ini diinhibisi ketika konsentrasi *glucose-6-phosphate* tinggi dan tidak dibutuhkan banyak energi. Setiap terjadi kenaikan konsentrasi *glucose-6-phosphate* di dalam sel di atas konsentrasi normalnya, molekul ini berfungsi sebagai inhibitor allosterik bagi *hexokinase*, sehingga kecepatan pembentukan *glucose-6-phosphate* menjadi seimbang dengan kecepatan penggunaannya. Keadaan ini akan mencegah pembentukan *glucose-6-phosphate* selanjutnya dan kecepatan aliran pembentukan *Pyruvate* dari glukosa menjadi turun.

Enzim *phosphofruktokinase* merupakan pengatur utama pada glikolisis otot. Aktivitas *phosphofruktokinase* dipertinggi jika cadangan ATP sel berkurang atau kelebihan ADP dan AMP, terutama kelebihan AMP. Enzim ini dihambat jika ATP, NADH dan *citrate* di dalam sel cukup tinggi. *Citrate* merupakan intermediat pertama dalam siklus Krebs. Inhibisi *phosphofruktokinase* oleh sitrat adalah contoh dari *feedback inhibition*. Aktivitas *Pyruvate kinase* dipertinggi jika kelebihan kadar *fructose-1,6-bisphosphate*, *glucose-6-phosphate* di dalam sel. Dengan demikian, *fructose-1,6-bisphosphate*, dan *glucose-6-phosphate* merupakan aktivator allosterik dari enzim *Pyruvate kinase*. Yang menarik disini adalah *fructose-1,6-bisphosphate* merupakan produk reaksi yang dikatalisis oleh *phosphofruktokinase*. Ini adalah contoh dari *feedforward activation* karena produk reaksi awal menyebabkan aktivasi dari enzim berikutnya di dalam jalur tersebut. Enzim ini dihambat oleh ATP, NADH dan alanin (Lehninger, 1975:630). Dengan demikian jalur glikolisis diatur pada tiga posisi ini sebagian besar oleh level senyawa berfosfat dan perubahan energi sistem ATP dan NADH.

Enzim yang diregulasi pada jalur glukoneogenesis adalah *pyruvate carboxylase*, yaitu enzim yang mengkatalisis perubahan *Pyruvate* menjadi *oxaloacetate*. Modulator allosterik enzim ini adalah *acetyl-CoA*. Sebagai konsekuensinya adalah jika *acetyl-CoA* mitokondria berlebih maka sintesis glukosa meningkat. Titik kontrol yang kedua adalah reaksi yang dikatalisis oleh *hexosediphosphatase* (*fructose-1,6-bisphosphatase*) yaitu enzim yang mengkatalisis *fructose-1,6-bisphosphate* menjadi *fructose-6-phosphate*.



Gambar 34. Pengendalian pada Jalur Glikolisis dan Glukoneogenesis (Lehninger, 1975: 630)

Enzim yang diregulasi pada jalur glukoneogenesis adalah *fructose 1,6 bisphosphatase*. Enzim ini distimulasi oleh sitrat, dan 3 fosfoglisarat, diinhibisi oleh AMP. Dengan demikian, jalur *pyruvate* ke glukosa diatur pada dua posisi ini oleh level bahan bakar respirasi seperti *acetyl-CoA* dan sitrat dan oleh perubahan energi dari sistem AMP. Posisi-posisi *regulatory enzyme* pada jalur glikolisis dan jalur glukoneogenesis dimuat pada Gambar 34.

G. Metabolisme Heksosa Selain Glukosa

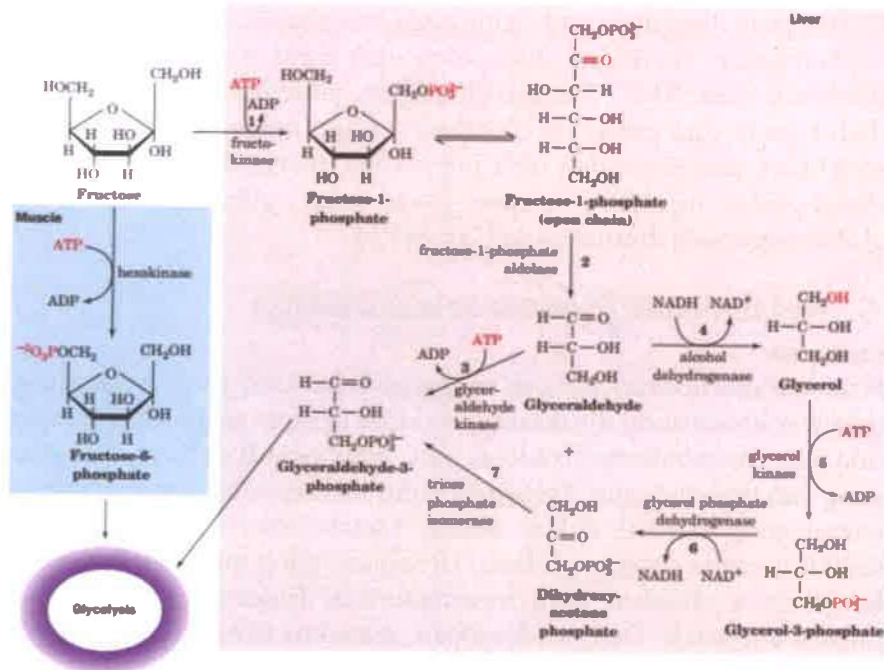
Fruktosa

Fruktosa merupakan sumber sebagian besar diet yang terkandung dalam sukrosa suatu disakarida (fruktosa dengan glukosa). Terdapat dua jalur metabolisme fruktosa. Satu jalur terjadi di liver dan jalur yang lain terjadi di otot. Perbedaan jalur ini menyebabkan perbedaan enzim yang terlibat dalam reaksi. Metabolisme fruktosa di otot sedikit berbeda dengan glukosa. *Hexokinase* yang mengubah glukosa ke *glucose-6-phosphate* juga memfosforilasi fruktosa menghasilkan *fructose-6-phosphate*. Dengan demikian, masuknya fruktosa pada jalur glikolisis di otot membutuhkan hanya satu reaksi.

Liver mengandung sedikit *hexokinase*, tetapi mengandung *glucokinase* yang memfosforilasi hanya glukosa. Pada kenyataan liver mengubah fruktosa ke intermediet glikolisis melalui jalur yang melibatkan tujuh enzim yaitu *fructokinase*, *fructose-1-phosphatase*, *aldolase*, *glyceraldehyde kinase*, *alcohol dehydrogenase*, *glycerol kinase*, *glycerol phosphate dehydrogenase* dan *triose phosphate isomerase* (Gambar 35).

Galaktosa

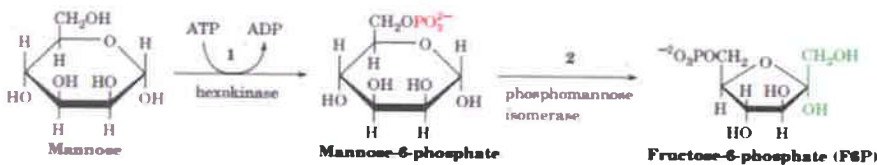
Galaktosa adalah hasil hidrolisis dari laktosa pada susu. Enzim jalur glikolisis tidak mengenal struktur galaktosa. Oleh sebab itu, reaksi epimerisasi dilibatkan sebelum galaktosa memasuki jalur glikolisis. Jalur keseluruhan konversi galaktosa ke intermediet glikolitik dielusidasi oleh Luis Leloir. Oleh sebab itu, jalur ini dikenal sebagai **jalur Leloir**. Pada jalur ini melibatkan empat enzim yang berperan untuk konversi galaktosa ke intermediet glikolitik yaitu *galactokinase*, *galactose-1-phosphateuridylyl transferase*, *UDP-galactose-4-epimerase* dan *phosphoglucomutase* (Gambar 37)



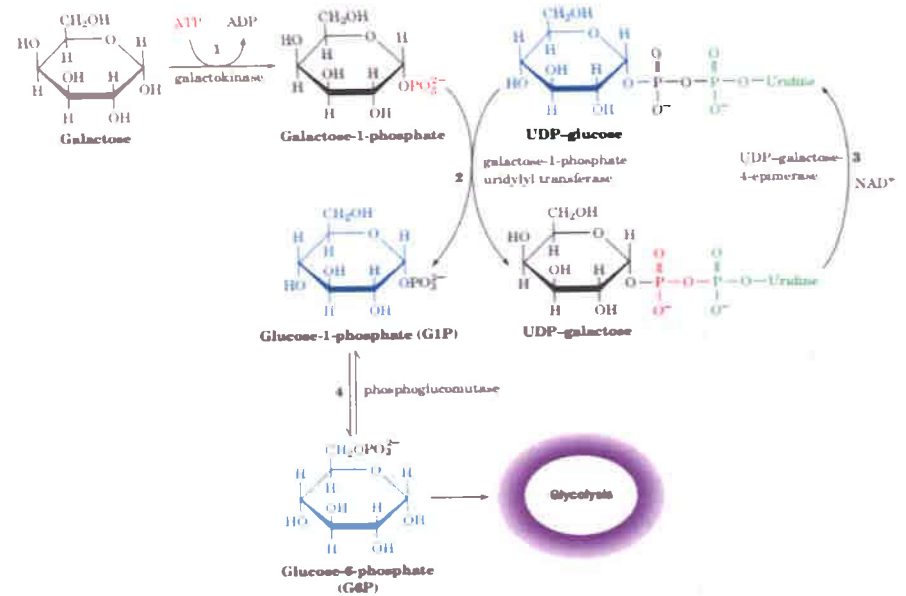
Gambar 35. Metabolisme Fruktosa (Voet et al., 2011: 631)

Mannosa

Mannosa adalah komponen umum glikoprotein. Mannosa memasuki jalur glikolitik setelah mannosa dikonversi menjadi *fructose-6-phosphate* melalui dua reaksi yang dikatalisis oleh *hexokinase* dan *phosphomannose isomerase* (Gambar 36).



Gambar 36. Metabolisme Mannosa (Voet et al., 2011: 633)

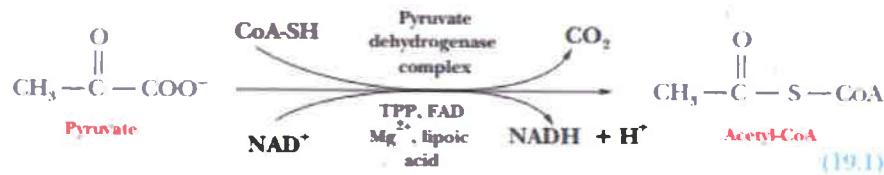


Gambar 37. Metabolisme Galaktosa (Voet et al., 2011: 632)

H. Perubahan Pyruvate ke Acetyl-CoA

Pyruvate dapat berasal dari beberapa metabolisme asam amino, produk glikolisis yang telah dijelaskan sebelum ini. *Pyruvate* di sitosol memasuki mitokondria melalui transport spesifik. Kemudian enzim *pyruvate dehydrogenase complex* mengkatalisis konversi *pyruvate* ke *acetyl-CoA* dan CO_2 di mitokondria (Gambar 38). Reaksi ini merupakan reaksi yang tidak dapat balik. Pada reaksi ini *pyruvate* mengalami dekarboksilasi dan dehidrogenasi. Reaksi ini, melibatkan pemindahan gugus karboksil sebagai molekul CO_2 dan gugus *acetyl* sebagai *acetyl-CoA*, kemudian atom hidrogen yang dilepaskan dari *pyruvate* mereduksi NAD^+ menjadi $NADH$ dan H^+ . Persamaan reaksi keseluruhan konversi *pyruvate* menjadi *acetyl-CoA* yang dikatalisis enzim ini adalah





Gambar 38. Perubahan Pyruvate Menjadi Acetyl-CoA
(Campbell et al., 2006:515)

Pyruvate dehydrogenase complex merupakan kompleks multi enzim. Pada umumnya kompleks multi enzim adalah kelompok enzim yang berasosiasi yang mengkatalisis dua atau lebih reaksi secara berurutan pada suatu jalur metabolik. Pada mamalia, enzim **pyruvate dehydrogenase complex dibangun dari lima enzim** yaitu *pyruvate dehydrogenase* (E1), *dihydrolipoyl transacetylase* (E2), *dihydrolipoyl dehydrogenase* (E3), *pyruvate dehydrogenase kinase*, dan *pyruvate dehydrogenase phosphatase*. Tiga enzim pertama dilibatkan dalam konversi *pyruvate* ke *acetyl-CoA*. *Pyruvate dehydrogenase kinase*, dan *pyruvate dehydrogenase phosphatase* merupakan enzim dengan polipeptida tunggal yang digunakan untuk mengontrol *pyruvate dehydrogenase* (Campbell et al., 2006:515). Deretan reaksi berurutan untuk mengkonversi *pyruvate* menjadi *acetyl-CoA* yang dikatalisis oleh *pyruvate dehydrogenase complex* dimuat pada Gambar 38. Gugus prostetik *lipoamide* merupakan ikatan *lipoic acid* dengan gugus *amide* rantai samping residu lisin (biru) dari E2. Gugus prostetik ini adalah sebagai lengan yang membawa unit dua karbon dari sisi aktif *pyruvate dehydrogenase* ke sisi aktif *dihydrolipoamide acetyltransferase*. Lengan ini kemudian membawa hidrogen ke *dihydrolipoamide dehydrogenase*.

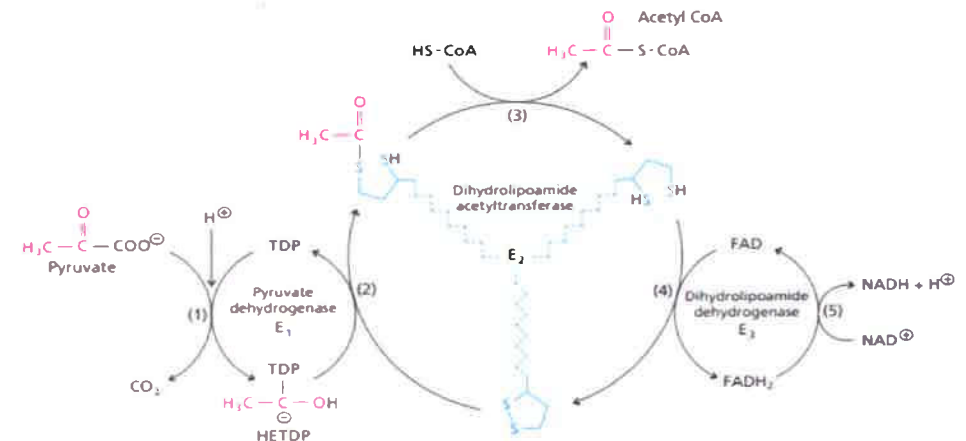
E1, E2 dan E3 merupakan enzim yang memiliki koenzim sebagai gugus prostetik. Koenzim dari enzim E1 adalah *Tiamine Pirophosphate* (TPP) (Gambar 39). TPP dinamakan juga *Tiamine diphosphate* (TDP) (Gambar 40). Pada TPP terikat tiamin (vitamin B1). Koenzim dari enzim E2 adalah *lipoamide* dan *CoA-SH* (koenzim A), (Gambar 41 dan 42). Gugus *lipoamide* terdiri dari asam lipoat yang berikatan kovalen dengan amida residu lisin (biru) dari E2 (Gambar 41). *CoA-SH*

mengandung gugus tiol yang reaktif (Gambar 42). Koenzim dari enzim E3 adalah *FAD* dan *NAD⁺*. Enzim E1, E2 dan E3 merupakan enzim yang terdiri dari banyak subunit (Tabel 6).

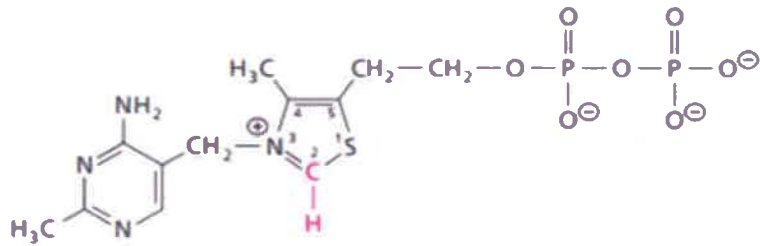
Tabel 6. Koenzim dan Jumlah Subunit Tiga Enzim pada *Pyruvate Dehydrogenase Complex*

Enzim	Simbol	Koenzim	Jumlah subunit pada prokariot	Jumlah subunit pada eukariot
<i>Pyruvate dehydrogenase</i> (EC. 1.2.4.1)	E1	TPP	24	30
<i>dihydrolipoyl transacetylase</i> (EC.2.3.1.12)	E2	Lipoamide CoA-SH	24	60
<i>dihydrolipoyl dehydrogenase</i> (EC.1.8.1.4)	E3	FAD NAD ⁺	12	12

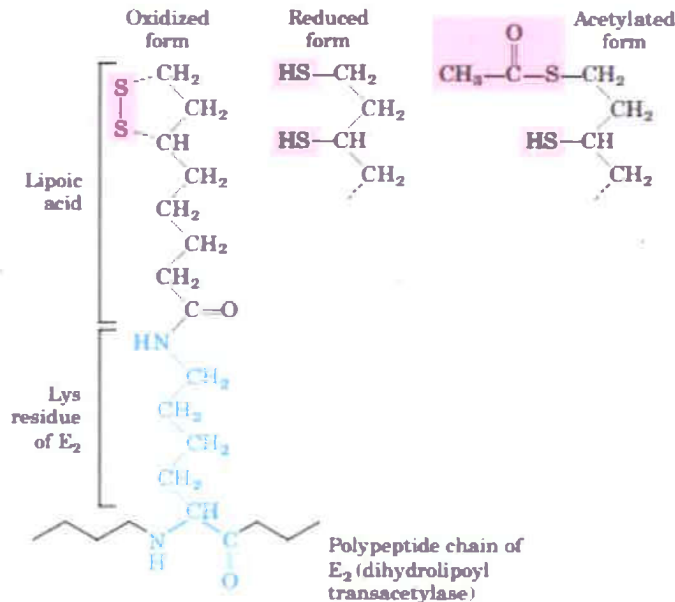
(http://en.wikipedia.org/wiki/Pyruvate_dehydrogenase_complex)



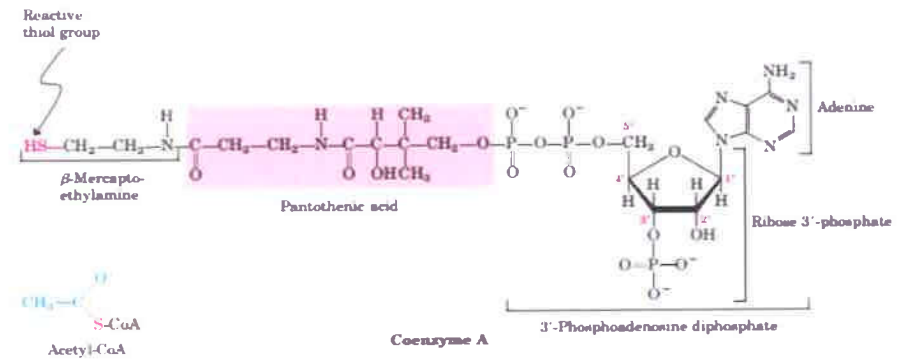
Gambar 39. Deretan Reaksi Konversi *Pyruvate* Menjadi *Acetyl-CoA*
(Moran et al., 2012:389)



Gambar 40. *Thiamine Diphosphate (TDP)*
(Moran et al., 2012:206)



Gambar 41. *Lipoamide*
(Nelson et al., 2013:603)

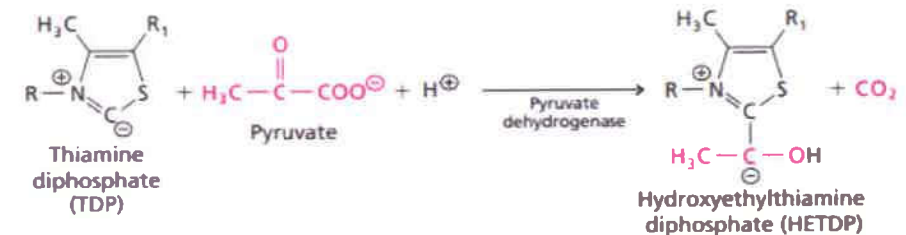


Gambar 42. *Coenzyme-A (CoA)*
(Nelson et al., 2013:603)

Enzim *pyruvate dehydrogenase complex* mengkatalisis 5 reaksi berturut-turut. Reaksi ke-1 dan ke-2 dikatalisis oleh enzim E1. Reaksi ke-3 dikatalisis oleh enzim E3, sedangkan reaksi ke-4 dan ke-5 dikatalisis oleh enzim E3. Deretan reaksi konversi *pyruvate* ke *acetyl-CoA* adalah sebagai berikut:

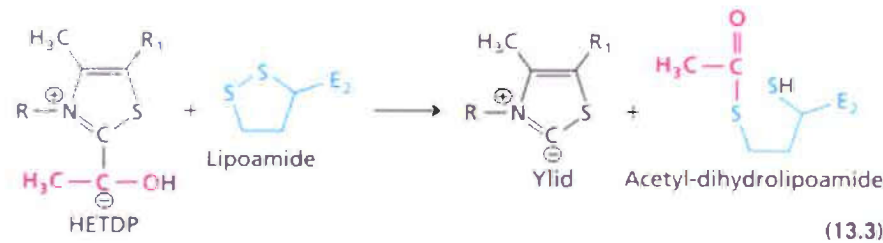
Reaksi ke-1. Pembentukan intermediet *hydroxyethyl-TDP*

Komponen enzim E1 mengandung TDP. TDP merupakan timin (vitamin B1) yang terikat dua gugus *phosphate*. TDP memainkan peran di dalam reaksi dekarboksilasi. Reaksi awal mengakibatkan pembentukan intermediet *hydroxyethyl-TDP* (HETDP) dan melepaskan CO_2 yang dikatalisis oleh enzim E1.



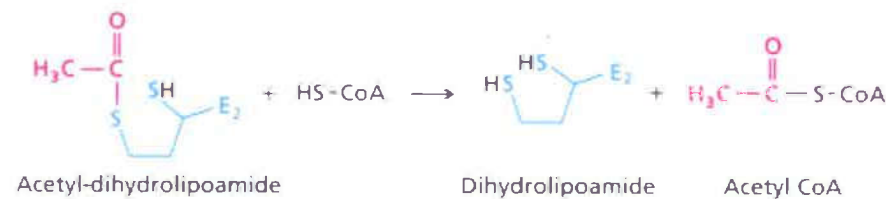
Reaksi ke-2. Gugus dua-karbon *hydroxyethyl* ditransfer ke gugus *lipoamide*

Pada reaksi kedua, gugus dua-karbon *hydroxyethyl* ditransfer ke gugus *lipoamide* dari enzim E2. Koenzim ini hanya ditemukan pada *pyruvate dehydrogenase*. Reaksi transfer ini dikatalisis oleh enzim E1. Pada reaksi ini, oksidasi *hydroxyethyl*-TDP dikopel dengan reduksi disulfida dari *lipoamide* dan gugus *acetyl* ditransfer ke salah satu gugus sulfhidril *lipoamide* dan koenzim TDP terbentuk kembali.



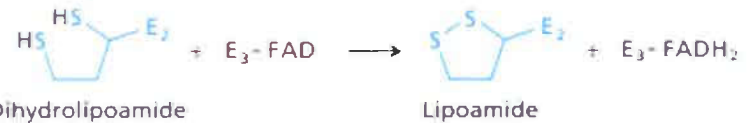
Reaksi ke-3. Transfer gugus *acetyl* ke *CoA-SH*

Reaksi ke tiga melibatkan transfer gugus *acetyl* ke *CoA-SH* membentuk *acetyl-CoA* dan meninggalkan *lipoamide* dalam bentuk ditiol tereduksi. Reaksi ini dikatalisis oleh E2.



Reaksi ke-4. Reduksi FAD

Pada reaksi ke-4, dua proton dan dua elektron dari ditiol *lipoamide* ditransfer ke FAD menghasilkan FADH_2 (koenzim tereduksi) yang dikatalisis oleh enzim E3 dan *lipoamide* terbentuk kembali.



Reaksi ke-5. Oksidasi FADH_2

Pada reaksi ke-5, $\text{E}_3\text{-FADH}_2$ direoksidasi membentuk FAD yang dikatalisis oleh enzim E3. Reaksi ini dikopel dengan reduksi NAD^+ . Oksidasi $\text{E}_3\text{-FADH}_2$ menghasilkan *pyruvate dehydrogenase complex* seperti keadaan semula dan siklus katalitik berjalan lengkap. Reaksi ke-5 menghasilkan NADH dan H^+ . Pada reaksi ke-1 dibutuhkan satu H^+ . Dengan demikian secara keseluruhan reaksi tidak ada kehilangan proton.

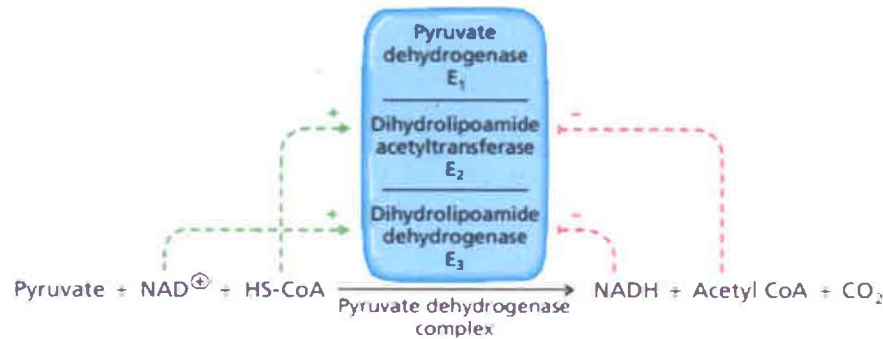


I. Pengendalian Konversi *Pyruvate* ke *Acetyl-CoA*

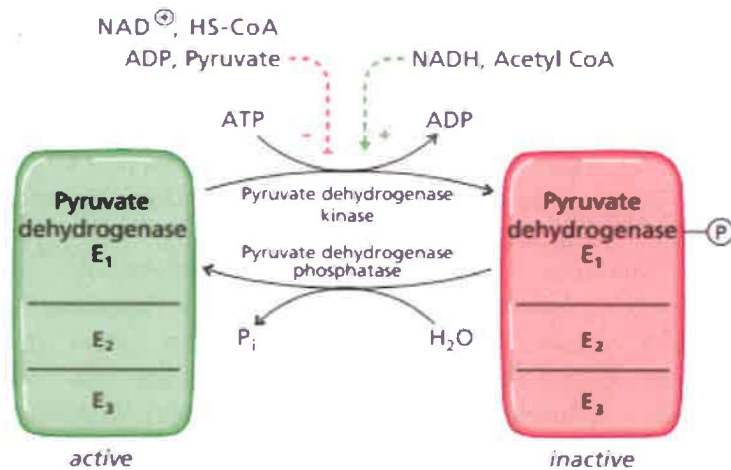
Regulasi konversi *pyruvate* ke *acetyl-CoA* dikontrol pada aktivitas *pyruvate dehydrogenase complex*. Regulasi *pyruvate dehydrogenase complex* dimediasi oleh modulator allosterik (E2 dan E3) dan modifikasi kovalen (E1). Pada umumnya substrat *pyruvate dehydrogenase complex* mengaktifkan enzim dan produknya menghambat enzim. Pada kebanyakan spesies aktivitas komponen E2 dan E3 dari *pyruvate dehydrogenase complex* dikontrol oleh produknya. Aktivitas *acetyltransferase* (E2) diinhibisi jika konsentrasi *acetyl-CoA* tinggi, sedangkan *dehydrogenase* (E3) diinhibisi oleh *ratio* NADH/NAD^+ yang tinggi (Gambar 43).

Pada mamalia, tetapi tidak pada prokariot, *pyruvate dehydrogenase complex* diregulasi melalui modifikasi kovalen. *Pyruvate dehydrogenase kinase* mengkatalisis fosforilasi dari *pyruvate dehydrogenase* (E1), dan menginaktifkan enzim ini. *Pyruvate dehydrogenase phosphatase* mengkatalisis defosforilasi dan mengaktifkan *pyruvate dehydrogenase*. *Pyruvate dehydrogenase kinase* dan *pyruvate dehydrogenase phosphatase* merupakan enzim yang diregulasi. Kinase diaktifkan secara allosterik oleh NADH dan *acetyl-CoA* yang merupakan produk oksidasi *pyruvate*. Akumulasi dari NADH dan *acetyl-CoA* menuntun menaikkan fosforilasi dari subunit

pyruvate dehydrogenase dan menghambat oksidasi pyruvate selanjutnya. Sebaliknya pyruvate, NAD⁺, CoA-SH dan ADP menghambat pyruvate dehydrogenase kinase dan menuntun aktivasi subunit pyruvate dehydrogenase (Gambar 44).



Gambar 43. Regulasi E2 dan E3 dari Pyruvate Dehydrogenase Complex (Moran et al., 2012: 406)



Gambar 44. Regulasi E1 dari Pyruvate Dehydrogenase Complex (Moran et al., 2012: 406)

J. Siklus Krebs

Acetyl-CoA sebagai produk metabolisme glukosa, asam lemak dan beberapa asam amino, dioksidasi selanjutnya pada siklus TCA (Gambar 45). Satu putaran siklus TCA dimulai dengan pemberian gugus acetyl dari acetyl-CoA ke senyawa empat-karbon oxaloacetate membentuk senyawa enam-karbon sitrat. Sitrat (tricarboxylic acid) merupakan metabolit awal siklus ini. Oleh sebab itu, siklus ini diberi nama tricarboxylic acid (TCA). Siklus TCA dinamakan juga siklus Krebs atau siklus asam sitrat.

Nama siklus "Krebs" berasal dari nama Sir Hans Krebs (1900-1981) yang berjasa pada riset siklus ini. Hans Krebs memperoleh hadiah nobel pada bidang physiology atau medicine pada tahun 1953 atas penemuan siklus TCA. Eugene Kennedy dan Albert Lehninger memperlihatkan pada tahun 1948 bahwa keseluruhan deretan reaksi siklus TCA terjadi di mitokondria. Pada mitokondria yang telah diisolasi ditemukan mengan-dung tidak hanya semua enzim dan koenzim yang dibutuhkan siklus TCA, tetapi juga semua enzim dan protein yang diperlukan pada tahap akhir respirasi yaitu transfer elektron dan fosforilasi oksidatif (sintesis ATP).

Siklus TCA merupakan "pusat" metabolisme jalur degradasi (katabolisme) dan jalur sintetik (anabolisme). Siklus TCA merupakan amphibolic yaitu siklus intermediet untuk katabolisme dan anabolisme. Metabolit siklus TCA yang merupakan hasil katabolisme glukosa, asam lemak dan asam amino dan dapat digunakan sebagai prekursor (zat pemula) untuk mensintesis berbagai macam produk metabolisme seperti glukosa, asam lemak dan asam amino nonessential, untuk selanjutnya menjadi glikogen, lipid dan protein (Gambar 5). Dengan demikian, siklus TCA merupakan jalur metabolik universal dari metabolisme karbohidrat, lipid dan protein. Siklus TCA merupakan sentral metabolisme yang menghasilkan energi. Siklus TCA merupakan deretan delapan reaksi yang mengoksidasi gugus acetyl dari acetyl-CoA dengan melepaskan molekul CO₂ dan menyimpan energi dalam bentuk GTP, FADH₂ dan NADH (Gambar 45, dan Tabel 7). Persamaan reaksi total siklus TCA



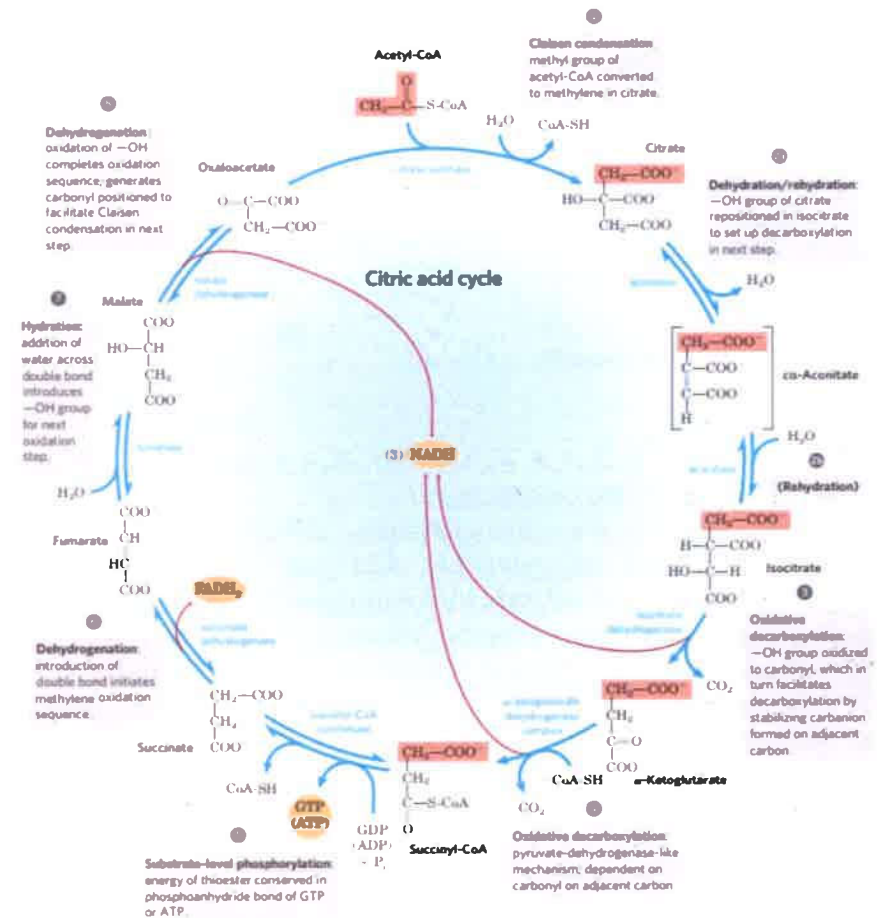
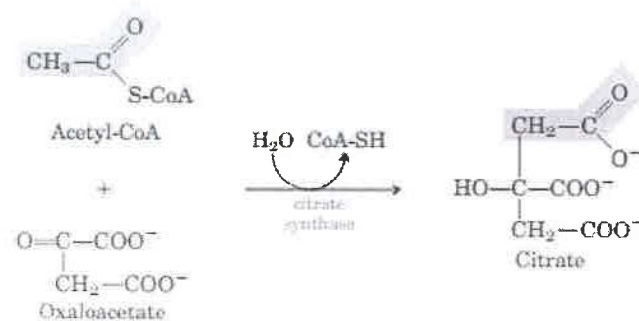
Tabel 7. Deretan Reaksi pada Siklus TCA

No.	Reaksi	Enzim
1.	Asetil-CoA + Oxaloacetate + H ₂ O → Sitrat + CoA-SH	Citrate synthase
2	Sitrat ⇌ Isocitrate	Aconitase
3	Isocitrate + NAD ⁺ → α-Ketoglutarat + NADH + CO ₂ + H ⁺	Isocitrate dehydrogenase
4	α-Ketoglutarat + NAD ⁺ + CoA-SH → Suksinil-CoA + NADH + CO ₂ + H ⁺	α-ketoglutarate dehydrogenase complex
5	Suksinil-CoA + GDP + Pi ⇌ Suksinat + GDP + CoA-SH	Succinyl-CoA synthetase
6	Suksinat + FAD ⇌ Fumarat + FADH ₂	Succinate dehydrogenase
7	Fumarat + H ₂ O ⇌ L-Malat	Fumarase
8	L-Malat + NAD ⁺ ⇌ Oxaloacetate + NADH + H ⁺	Malate dehydrogenase

Delapan deretan reaksi yang mengoksidasi gugus *acetyl* dari *acetyl-CoA* pada siklus TCA adalah sebagai berikut:

Reaksi ke-1. Pembentukan citrate

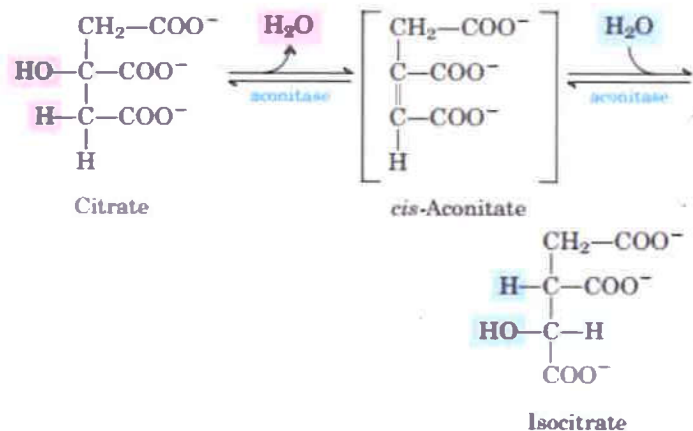
Reaksi pertama siklus Krebs adalah kondensasi *acetyl-CoA* dengan *oxaloacetate* untuk membentuk *citrate* yang dikatalisis oleh *citrate synthase*. Pada reaksi ini karbon metil dari gugus *acetyl* digabungkan dengan gugus karbonil (C-2) dari *oxaloacetate* membentuk *citrate*. Reaksi ini tidak dapat balik.



Gambar 45. Siklus TCA (Nelson et al., 2013:639)

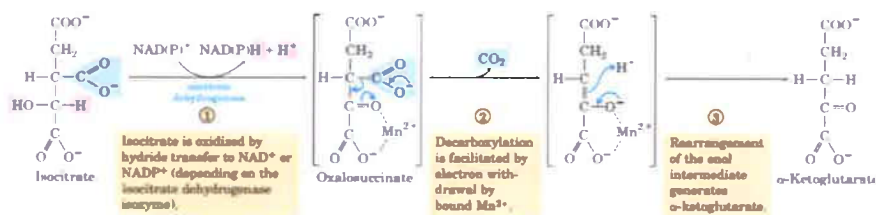
Reaksi ke-2. Isomerasi citrate ke isocitrate

Enzim *aconitase* mengkatalisis transformasi reversibel *citrate* ke *isocitrate* melalui intermediet *tricarboxylic acid cis-aconitate*.



Reaksi ke-3. Oksidasi isocitrate

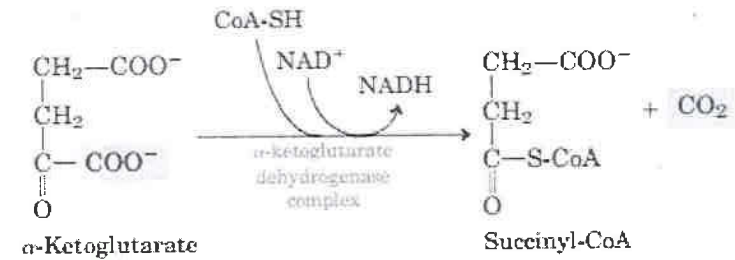
Isocitrate dehydrogenase mengkatalisis dekarboksilasi oksidatif *isocitrate* ke bentuk *α-ketoglutarate*. Ada dua tipe bentuk *isocitrate dehydrogenase* di dalam sel, satu membutuhkan NAD^+ sebagai aseptor elektron dan yang lain membutuhkan NADP^+ . Pada reaksi ini dihasilkan energi dalam bentuk NADH atau NADPH dan dilepaskan CO_2 . Mekanisme reaksi dekarboksilasi oksidatif *isocitrate* ke bentuk *α-ketoglutarate* adalah sebagai berikut:



Reaksi ke-4. Oksidasi α-ketoglutarate

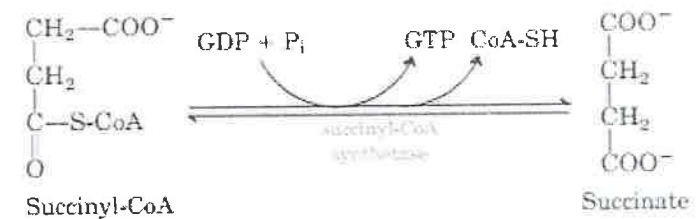
Reaksi ini adalah dekarboksilasi oksidatif dimana *α-ketoglutarate* dikonversi ke *succinyl-CoA* dan dilepaskan CO_2 . Reaksi ini dikatalisis oleh *α-ketoglutarate dehydrogenase complex*, dengan NAD^+ sebagai

septor elektron dan CoA sebagai pembawa gugus *succinyl*. Pada reaksi ini juga dilepaskan NADH dan CO_2 . Reaksi ini tidak dapat balik. Enzim *α-ketoglutarate dehydrogenase complex* mirip dengan *pyruvate dehydrogenase complex* dalam struktur dan fungsi



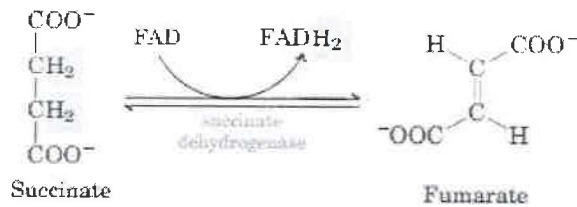
Reaksi ke-5. Konversi succinyl-CoA ke succinate

Succinyl-CoA seperti *acetyl-CoA* mempunyai ikatan *thioester* yang mempunyai energi-bebas yang tinggi. Energi yang dilepaskan akibat konversi *succinyl-CoA* ke suksinat digunakan untuk mensintesis ikatan *phosphoanhydride* pada GTP. Enzim yang mengkatalisis reaksi reversibel ini dinamakan *succinyl-CoA synthetase* atau *succinic thiokinase*. Nama enzim ini menunjukkan terlibatnya nukleosida trifosfat dalam reaksi.



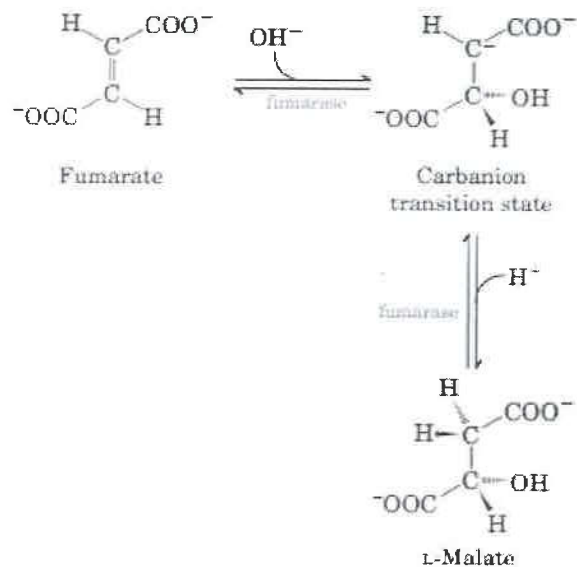
Reaksi ke-6. Oksidasi succinate

Succinate yang dibentuk dari *succinyl-CoA* dioksidasi ke *fumarate* oleh flavoprotein *succinate dehydrogenase*. FAD tereduksi menjadi FADH_2 . Pada eukariot, *succinate dehydrogenase* berikatan kuat pada membran dalam mitokondria, pada prokariot dengan membran plasma.



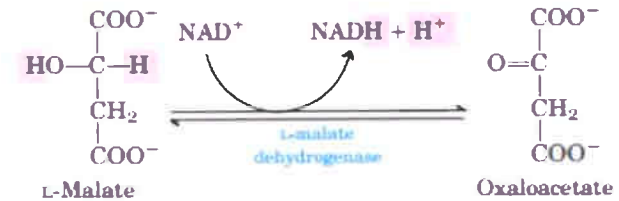
Reaksi ke-7. Hidrasi fumarate

Hidrasi fumarate ke *L*-Malate adalah reaksi reversibel yang dikatalisis oleh fumarase (*fumarase hydratase*). Keadaan transisi reaksi ini adalah suatu karbanion. Enzim fumarase mempunyai kespesifikan yang tinggi. Enzim ini mengkatalisis hidrasi dari ikatan ganda "trans" dari fumarate tetapi tidak ikatan ganda "cis" dari maleate (isomer cis fumarate). Pada reaksi kebalikannya (dari *L*-malate ke fumarate), fumarate mempunyai stereospesifik yang sama, tetapi tidak untuk *D*-Malate.



Reaksi ke-8. Oksidasi malate

Oksidasi *L*-Malate adalah reaksi terakhir dari siklus TCA yang merupakan reaksi reversibel. NAD^+ yang berikatan dengan *L*-malate *dehydrogenase* mengkatalisis oksidasi *L*-malate ke oxaloacetate. NAD^+ tereduksi menjadi NADH .

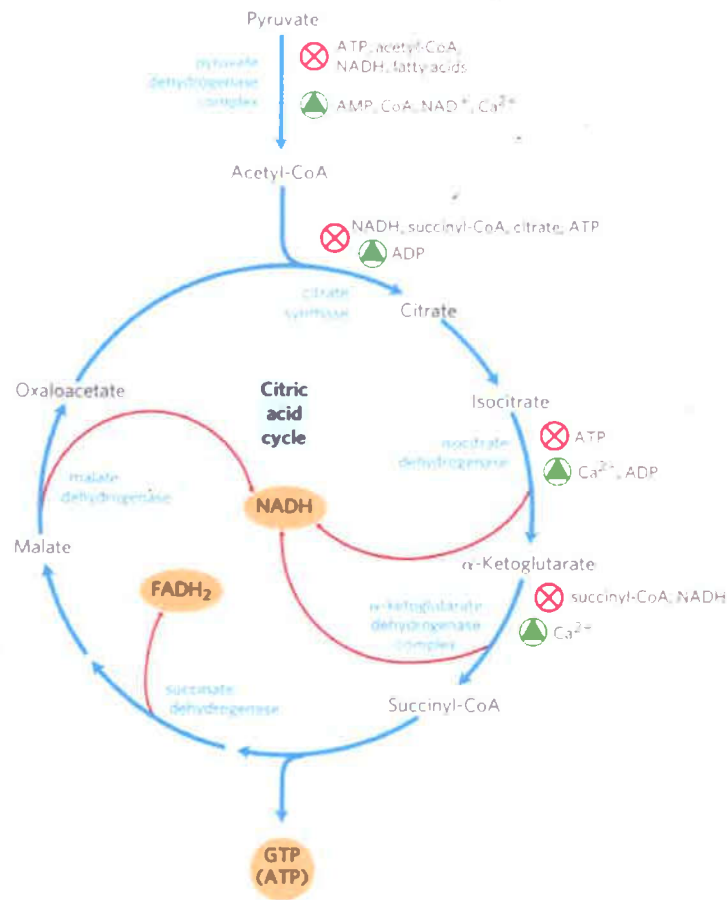


K. Pengendalian pada Siklus TCA

Tipe enzim kunci regulasi pada jalur metabolik adalah allosterik dan modifikasi kovalen. Tiga enzim pada siklus TCA yang diregulasi adalah *citrate synthase*, *isocitrate dehydrogenase*, dan *α-ketoglutarate dehydrogenase complex* (Gambar 46). *Citrate synthase* mengkatalisis reaksi pertama siklus TCA. Point ini adalah titik regulasi yang cocok untuk regulasi keseluruhan siklus TCA. ATP menghambat enzim ini secara *in vitro*. Beberapa *citrate synthase* bakteri diaktifkan oleh *α*-ketoglutarat dan diinhibisi oleh NADH (Moran *et al.*, 2012:407). *Citrate synthase* mamalia diinhibisi oleh NADH , *succinyl-CoA*, *citrate* dan ATP dan diaktifkan oleh ADP (Nelson *et al.*, 2008:636).

Isocitrate dehydrogenase mamalia adalah allosterik yang diaktifkan oleh Ca^{2+} dan ADP dan diinhibisi oleh ATP. Bagaimanapun juga *isocitrate dehydrogenase* bakteri diregulasi dengan fosforilasi. Meskipun *α-ketoglutarate dehydrogenase complex* mirip dengan *pyruvate dehydrogenase complex*, enzim ini mempunyai perbedaan dalam regulasi. Tidak ada kinase atau *phosphatase* yang digabungkan dengan *α-ketoglutarate dehydrogenase complex*. Sebagai penggantinya adalah ion Ca^{2+} berikatan dengan enzim E1 dari kompleks akibatnya menurunkan K_m *α-ketoglutarate* dan menaikkan kecepatan pembentukan *succinyl-CoA* (Nelson *et al.*, 2013:636). NADH dan

succinyl-CoA adalah inhibitor α -ketoglutarate dehydrogenase complex secara *in vitro*.



Gambar 46. Regulasi Siklus TCA
(Nelson *et al.*, 2013:654)

L. Fosforilasi Oksidatif

Fosforilasi oksidatif merupakan puncak dari metabolisme yang menghasilkan energi di dalam organisme aerob dan merupakan tahap final dari respirasi sel. Semua tahap oksidatif pada degradasi

karbohidrat, lemak dan asam amino di dalam sel aerobik menyatu pada tahap final ini (Gambar 50). Pada tahap ini energi oksidatif mendorong sintesis ATP.

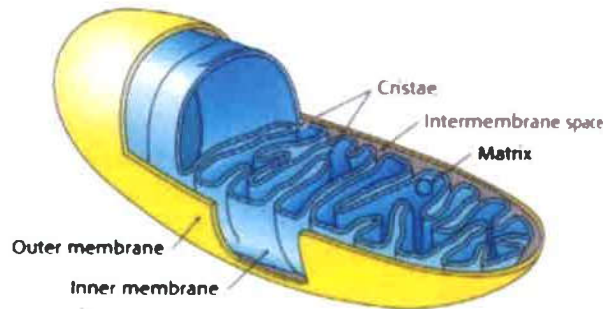
Fosforilasi oksidatif melibatkan reduksi molekul O_2 ke H_2O dengan elektron yang disumbangkan oleh NADH atau $FADH_2$. Pada tahap ini terjadi aliran elektron dari NADH dan $FADH_2$ menuju molekul oksigen dan menghasilkan energi berupa ATP. Aliran elektron (transfer elektron) dimulai dengan masuknya pasangan elektron atau ekuivalen hidrogennya ke dalam rantai transport elektron. Elektron tersebut selanjutnya dialirkan di sepanjang rantai transport elektron melalui molekul pembawa elektron yang akhirnya ditangkap oleh molekul O_2 membentuk molekul H_2O . Proses pengangkutan elektron ini dirangkaikan dengan fosforilasi oksidatif (*oxidative phosphorylation*) yaitu pembentukan ATP dari ADP dan P_i . Dengan demikian, fosforilasi oksidatif adalah proses pembentukan ATP dari ADP dan P_i yang energinya diperoleh dari proses transfer elektron dari O_2 .

Penemuan pada tahun 1948 oleh Eugene Kennedy dan Albert Lehninger menyatakan **mitokondria adalah tempat fosforilasi oksidatif pada eukariot** dan ini merupakan permulaan fase modern studi transduksi energi secara biologi. **Mitokondria merupakan organel sel penghasil energi.** Bentuk dan ukuran mitokondria bermacam-macam tergantung pada sumber dan keadaan metabolitnya. Pada umumnya mitokondria berbentuk bulat, tetapi beberapa sel tertentu mempunyai bentuk mitokondria yang bulat lonjong (dalam sel hati), bentuk tabung (dalam sel ginjal), bentuk batang atau benang (dalam fibroblas) dan kadang-kadang berbentuk kompleks tak teratur (dalam sel ragi). Mitokondria yang paling banyak diteliti adalah mitokondria sel hati tikus (berbentuk bulat lonjong) dengan panjang kira-kira $2\mu m$ dan diameter $1\mu m$ (kira-kira seukuran bakteri).

Mitokondria mempunyai dua membran yaitu membran-luar (*outer membrane*) dan membran-dalam (*inner membrane*). Kedua membran tersebut berbeda struktur, tugas serta enzim yang terkandung di dalamnya. Membran-luar halus, kenyal, sedangkan membran-dalam berlipat-lipat ke dalam. **Membran-luar permeabel** untuk molekul kecil ($M_r < 5000$) dan ion yang bergerak bebas melalui

channel transmembran yang terbentuk oleh protein membran integral yang dinamakan *porin*. Membran-dalam impermeabel untuk kebanyakan molekul kecil dan ion termasuk proton. Hanya senyawa tertentu yang dapat melewati membran-dalam melalui transporter spesifik.

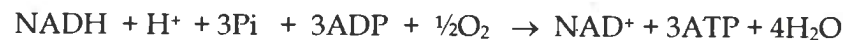
Membran-dalam mitokondria mengandung komponen-komponen rantai respirasi (*complex I* sampai *complex IV*) dan *ATP synthase* sebagai tempat berlangsungnya proses transport proton dan fosforilasi oksidatif. *Cristae* merupakan membran sebelah dalam berlipat-lipat, sedangkan *matrix* adalah ruang di dalam membran-dalam (Gambar 47). *Matrix* mitokondria dilingkupi oleh membran-dalam mengandung *pyruvate dehydrogenase*, enzim-enzim siklus TCA, enzim-enzim jalur oksidasi-β asam lemak dan enzim-enzim jalur oksidasi asam amino. Dengan demikian, *matrix* mitokondria mengandung enzim-enzim semua jalur oksidasi kecuali enzim-enzim jalur glikolisis yang terjadi di sitosol.



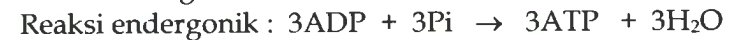
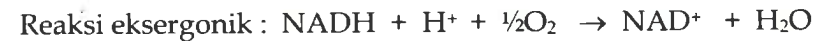
Gambar 47. Struktur Mitokondria (Berg et al., 2006:540)

Transfer elektron dari NADH ke molekul O₂

Persamaan reaksi total transfer elektron dari NADH ke molekul O₂ dan fosforilasi oksidatif pada mitokondria organisme aerobik adalah



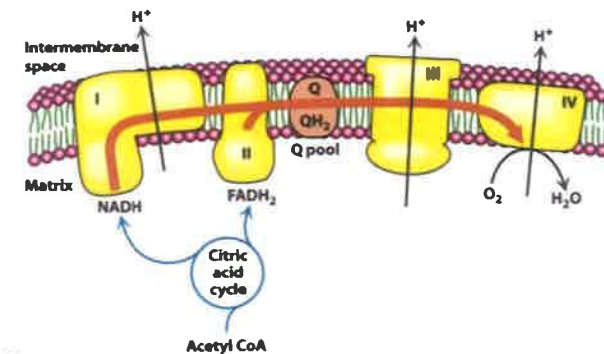
Persamaan reaksi total ini terdiri atas



Pada reaksi eksergonik elektron mengalir dari NADH ke molekul O₂ dirangkaikan dengan proses fosforilasi oksidatif yaitu pembentukan ATP dari ADP dan P_i. Reaksi eksergonik tidak lain adalah reaksi redoks

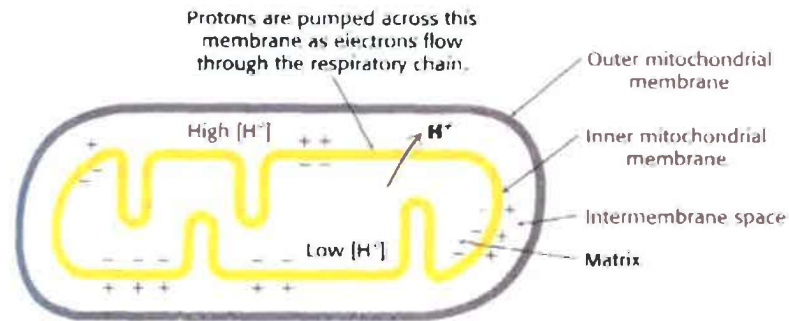


Proses mengalirnya elektron dari NADH ke molekul O₂ dikatalisis oleh empat enzim kompleks respirasi yaitu **Complex I: NADH reductase**, **Complex II: Succinate dehydrogenase**, **Complex III: Cytochrome reductase**, dan **Complex IV: Cytochrome oxidase**, sedangkan dari FADH₂ ke molekul O₂ dikatalisis oleh *Complex II*, *Complex III* dan *Complex IV* (Gambar 48). Masing-masing enzim *complex* ini merupakan sistem multi enzim yang analog dengan *pyruvate dehydrogenase complex* dan *α-ketoglutarate dehydrogenase complex* seperti yang telah dibicarakan sebelum ini. Masing-masing enzim *complex* pernafasan dapat mengkatalisis reaksi terpisah pada rantai transport elektron. Enzim kelima yang terlibat adalah *ATP synthase*. Enzim ini mengkatalisis pembentukan ATP dari ADP dan P_i pada fosforilasi oksidatif.



Gambar 48. Rantai Transport Elektron (Berg et al., 2006:517)

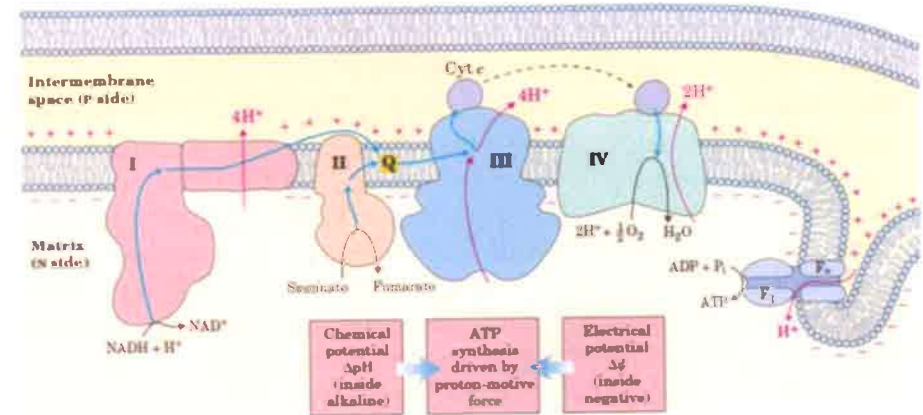
Proses mengalirnya elektron dari NADH dan dari FADH₂ ke molekul O₂ mengakibatkan H⁺ dipompa dari *matrix* mitokondria ke ruang intermembran melalui *Complex I*, *Complex III* dan *Complex IV*, tetapi bukan melalui *Complex II*. Pemompaan H⁺ ini menyebabkan terjadinya gradien proton antara *matrix* mitokondria dan ruang intermembran. *Matrix* mitokondria menjadi *low* (H⁺), sedangkan ruang intermembran menjadi *high* (H⁺) yang dihipotesiskan sebagai **Hipotesis chemiosmotic** (Gambar 49). Keadaan ini menyebabkan ion H⁺ mengalir melalui *ATP synthase* yang mengakibatkan ADP dan Pi bereaksi membentuk ATP (Gambar 50). Dengan demikian, rantai transport elektron menghasilkan gradien proton yang digunakan untuk mensintesis ATP. Animasi sistem transport elektron dan sintesis ATP dapat dilihat pada web <http://highered.mcgraw-hill.com/olc/dl/120071/bio11.swf>. Animasi gambar pada buku *Fundamental of Biochemistry* oleh Voet et al., 2011 dapat dilihat pada web <http://www.wiley.com/college/fob/anim/>.



Gambar 49. Hipotesis Chemiosmotic (Berg et al., 2006:521)

Pembawa elektron pada rantai transport elektron merupakan sistem **multienzim complex supramolekul**. Enzim ini terdiri dari sejumlah subunit dan mempunyai gugus *prosthetic* (Tabel 8). Enzim ini terbenam di membran-dalam mitokondria yang secara fisika dapat dipisahkan. Perlakuan lembut membran-dalam mitokondria dengan ditergen memungkinkan pemisahan empat *complex* multi enzim pembawa elektron yang unik dengan kromatografi penukar

ion. Masing-masing *complex* ini dapat mengkatalisis reaksi transfer elektron yang merupakan bagian/potongan dari rantai transport elektron. *Complex I* dan *Complex II* mengkatalisis transfer elektron ke *ubiquinone* dari dua donor elektron yang berbeda, NADH ke *Complex I* dan *succinate* ke *Complex II*. *Complex III* membawa elektron dari *ubiquinone* tereduksi ke *cytochrome c* dan *Complex IV* menyempurnakan transfer elektron dari *cytochrome c* ke molekul O₂. Kita akan melihat lebih detail struktur enzim *complex* ini.



Gambar 50. Fosforilasi Oksidatif (Nelson et al., 2013:723)

Tabel 8. Komponen Enzim Kompleks dari Rantai Transport Elektron pada Mitokondria

Enzim kompleks/Protein	Massa (kDa)	Jumlah subunit	Gugus prostetik
1. NADH <i>dehydrogenase</i>	850	43 (14)	FMN, Fe-S
2. <i>Succinate dehydrogenase</i>	140	4	FAD, Fe-S
3. <i>Ubiquinone: cytochrome oxidoreductase Cytochrome c</i>	250	11	Heme, Fe-S
4. <i>Cytochore oxidase</i>	160	13 (3-4)	Heme, Cu _A , Cu _B

(Nelson et al., 2013:713)

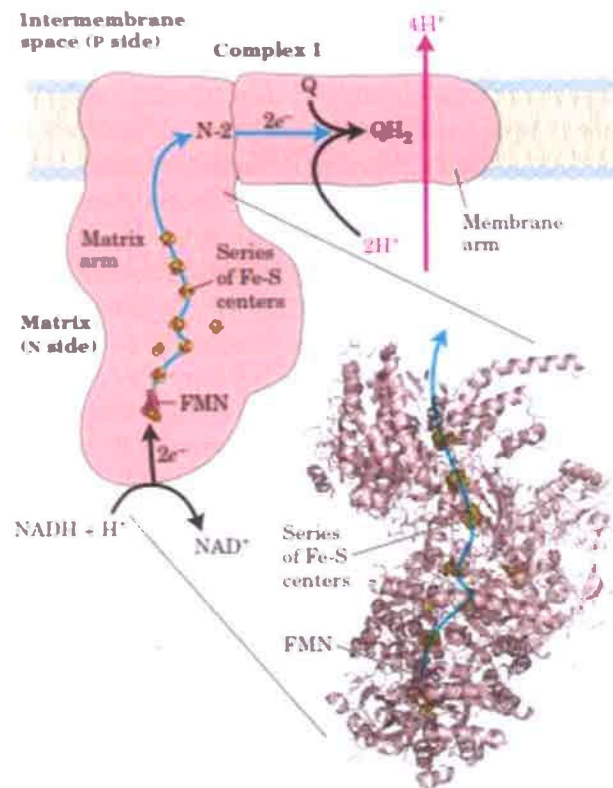
Keterangan:

Jumlah subunit pada bakteri dalam tanda kurung
Cytochrome c bukan bagian dari enzim kompleks, protein ini bergerak bebas antara *complex II* dan *IV* sebagai protein yang larut

1. Complex I: NADH-CoQ oxidoreductase

NADH-CoQ oxidoreductase dinamakan juga *NADH dehydrogenase*. Nama sistematis *NADH-CoQ oxidoreductase* adalah *NADH:ubiquinone oxidoreductase*. Enzim ini merupakan enzim yang kompleks yang belum sepenuhnya dimengerti. Pada prokariot, enzim ini mengandung 14 polipeptida yang berbeda. Pada eukariot, enzim ini mempunyai 14 subunit yang homolog ditambah 20-32 subunit tambahan tergantung spesies (Moran *et al.*, 2012:426). Struktur enzim ini adalah kompleks. Enzim ini berbentuk "L" jika dilihat di bawah mikroskop elektron resolusi tinggi. Bagian enzim yang mengarah ke *matrix* mitokondria disebut *lengan peripheral* atau *lengan matrix*. Lengan ini mengandung aktivitas *NADH dehydrogenase* dan FMN. Bagian yang merentang pada membran mengandung aktivitas pemindah proton disebut *lengan transmembran* atau *lengan membran*. Enzim ini mengkatalisis langkah pertama dari transfer elektron yaitu mentransfer elektron dari NADH ke *ubiquinone* melalui FMN dan sederetan kluster Fe-S. *Ubiquinone* dinamakan juga *coenzyme Q* disingkat CoQ atau Q. Reduksi Q ke QH₂ (*ubiquinol*) membutuhkan dua proton. Empat proton ditranslokasi (dipompa) melewati membran untuk setiap pasangan elektron yang ditransfer. Aktivitas *Complex I* dimuat pada Gambar 51.

Complex I mengkatalisis dua reaksi secara simultan yaitu (1) transfer *exergonic ion hydride* dari NADH ke Q dan sebuah proton dari *matrix* membentuk QH₂; (2) transfer endergonik empat proton dari *matrix* mitokondria (bermuatan negatif, N) ke ruang intermembran (bermuatan positif, P). Oleh sebab itu, *Complex I* adalah pompa proton yang didorong oleh energi transfer elektron. QH₂ berdifusi di membran-dalam mitokondria dari *Complex I* ke *Complex III* dimana dioksidasi ke Q di dalam proses yang melibatkan pergerakan ke arah luar H⁺.



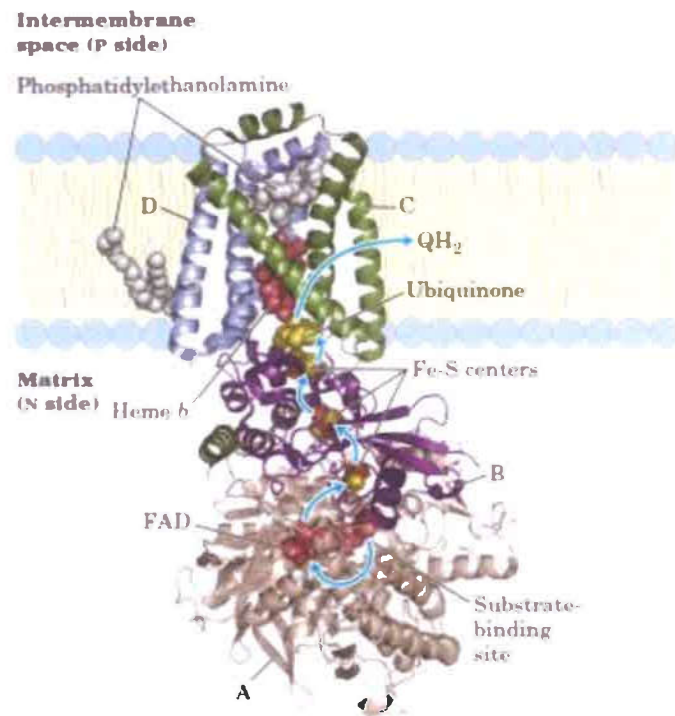
Gambar 51. Struktur NADH: Ubiquinone Oxidoreductase dan Aliran Elektron (Nelson *et al.*, 2013:714)

Amytal (sejenis obat bius), *rotenone* (produk tumbuhan yang umum digunakan sebagai insektisida), dan *piericidin A* (sebuah antibiotik) menghambat aliran elektron dari pusat *Fe-S Complex I* ke *ubiquinone*, akibatnya akan memblokir proses rantai transport elektron secara keseluruhan.

2. Complex II: Succinate-CoQ oxidoreductase

Nama lain *succinate-Coenzyme Q oxidoreductase* (SQR) adalah *complex succinate dehydrogenase*. Enzim ini berikatan kovalen dengan

FAD, tiga kluster Fe-S yaitu kluster [2Fe-2S], kluster [4Fe-4S], kluster [3Fe-4S] dan satu heme b_{560} . *Complex II* adalah penting karena *Complex* ini menginjeksi potensial tinggi elektron masuk ke rantai transport elektron. Bentuk keseluruhan enzim ini seperti sebuah *mushroom* dengan kepala mengarah ke interior dari membran. Enzim *succinate dehydrogenase* mempunyai dua subunit (sub unit A dan B) pembentuk kepala dan satu atau dua subunit tergantung spesies (subunit C dan D) pembentuk tangkai yang berikatan dengan membran (Gambar 52). Antara subunit C dan D terdapat heme b_{560} . Heme b bukan merupakan jalur utama transfer elektron tetapi berfungsi melindungi pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) *hydrogen peroxide* H_2O_2 dan *superoxide radical* (O_2^-) akibat elektron tersesat.



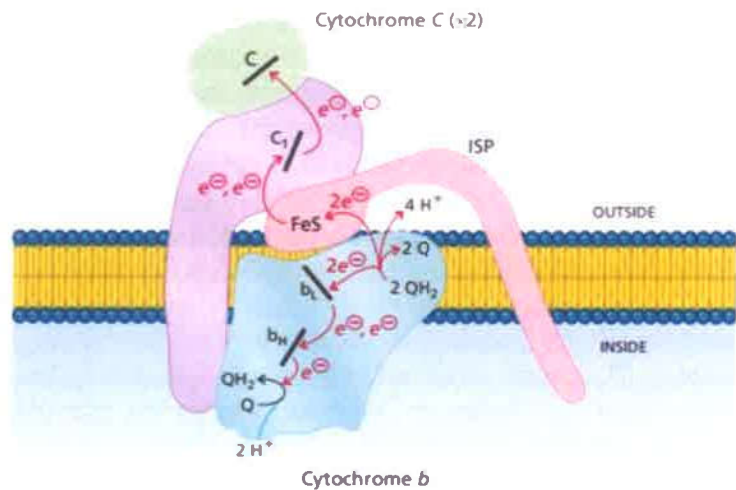
Gambar 52. Struktur *Succinate Dehydrogenase* (*Complex II*) dan Aliran Elektron (Nelson et al., 2013:715)

Sub unit A dari kepala mengandung sisi pengikat substrat dan berikatan kovalen dengan *flavin adenine dinucleotide* (FAD). Subunit B mengandung tiga kluster Fe-S. Enzim ini melewati sepasang elektron dari suksinat ke FAD membentuk $FADH_2$, kemudian elektron ditransfer dari $FADH_2$ ke tiga kluster Fe-S selanjutnya pada Q untuk menghasilkan fumarat dan QH_2 (Gambar 52). Konversi suksinat ke fumarat merupakan reaksi ke-6 pada siklus Krebs. QH_2 yang dihasilkan pada reaksi ini direoksidasi oleh *Complex III*.

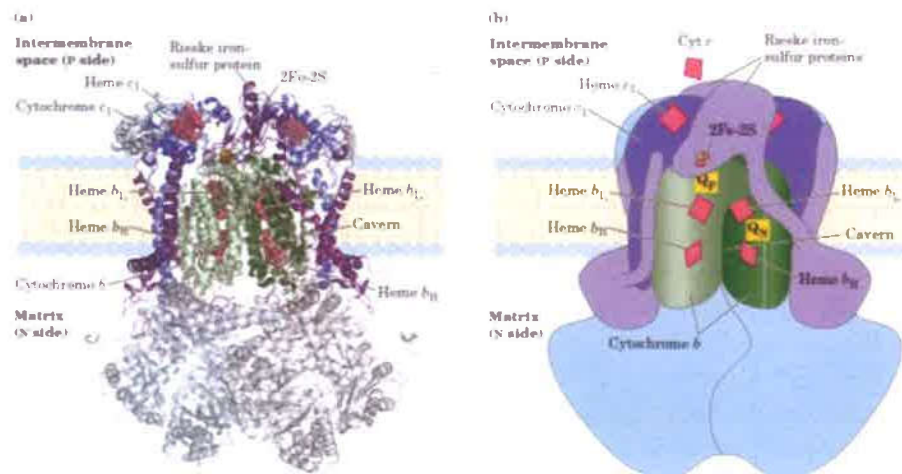
3. *Complex III: CoQ-cytochrome c oxidoreductase*

Complex III adalah *ubiquinol:cytochrome c oxidoreductase* yang dinamakan juga *cytochrome bc_1 complex*. Enzim ini mengkatalisis oksidasi molekul *ubiquinol* (QH_2) di dalam membran dan mereduksi molekul *cytochrome c* pada permukaan eksterior. Transfer elektron melalui *Complex III* dikopel dengan transfer H^+ melewati membran oleh proses yang dikenal sebagai siklus Q. Struktur dari *cytochrome bc_1 complex* dari spesies bakteri dan eukariot telah diketahui dengan kristalografi sinar X. Enzim fungsional terdiri dari tiga subunit utama yaitu *cytochrome c_1* , *cytochrome b* dan *Rieske iron sulfur protein* (ISP). Subunit lainnya berada pada permukaan dalam tetapi tidak memainkan peranan langsung pada reaksi *ubiquinol: cytochrome c oxidoreductase*.

Aliran elektron melalui *Complex III* diperlihatkan pada Gambar 53, sedangkan strukturnya pada Gambar.54. Reaksi ini dimulai ketika QH_2 (dari *Complex I* atau *Complex II*) berikatan dengan sisi Q_0 pada subunit *cytochrome b*. QH_2 dioksidasi ke *semiquinone* dan elektron tunggal dilewatkan ke *complex Fe-S* berdekatan pada subunit ISP. Dari sini elektron ditransfer ke gugus heme pada *cytochrome c_1* . Pemindahan elektron ini difasilitasi oleh pergerakan gugus kepala dari ISP. *Cytochrome c* dioksidasi oleh transfer elektron dari subunit *cytochrome c_1* yang berikatan dengan membran pada *Complex III*. Pada reaksi ini penerima elektron terminal adalah *cytochrome c*. Molekul ini merupakan pembawa elektron yang *mobile* untuk mentransfer elektron ke *Complex IV*, yang merupakan komponen berikutnya pada rantai transport elektron. Peranan *cytochrome c* tereduksi mirip dengan QH_2 yang membawa elektron dari *Complex I* ke *Complex III*.



Gambar 53. Aliran Transfer Elektron dan Proton pada Complex III (Moran *et al.*, 2012:429)

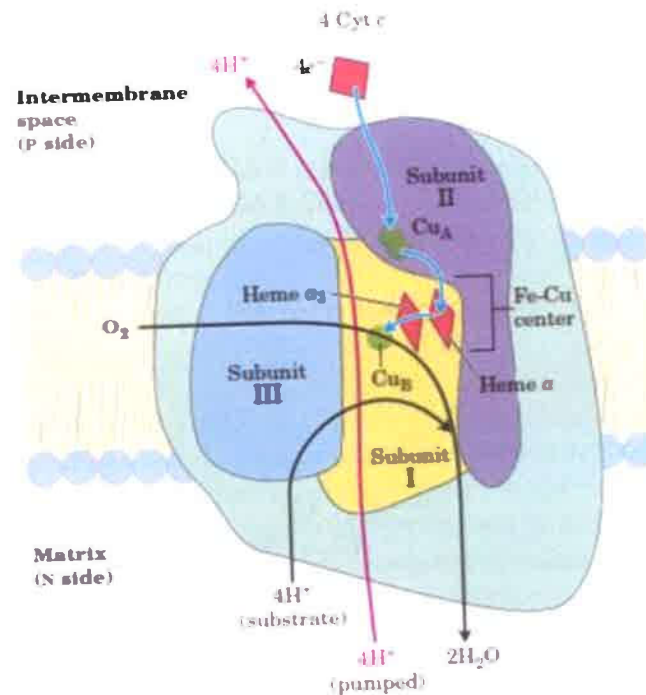


Gambar 54. Struktur Complex III (Nelson *et al.*, 2013:716)

4. Complex IV: Cytochrome c oxidase

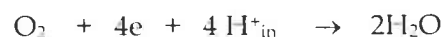
Complex IV adalah Cytochrome c oxidase. Complex ini mengkatalisis oksidasi molekul cytochrome c yang tereduksi yang dihasilkan oleh Complex III. Reaksi ini termasuk reduksi empat elektron dari molekul oksigen (O_2) ke molekul air (H_2O) dan translokasi dua proton melewati membran.

Complex IV mengandung dua unit fungsional dari Cytochrome c oxidase. Setiap Cytochrome c oxidase mengandung kopi tunggal dari subunit I, II dan III (Gambar 55). Enzim bakteri mengandung hanya satu subunit tambahan pada masing-masing unit fungsional tetapi enzim mitokondria eukariot mempunyai lebih dari sepuluh subunit tambahan. Subunit tambahan pada kompleks eukariot memainkan peranan menstabilkan struktur Complex IV.

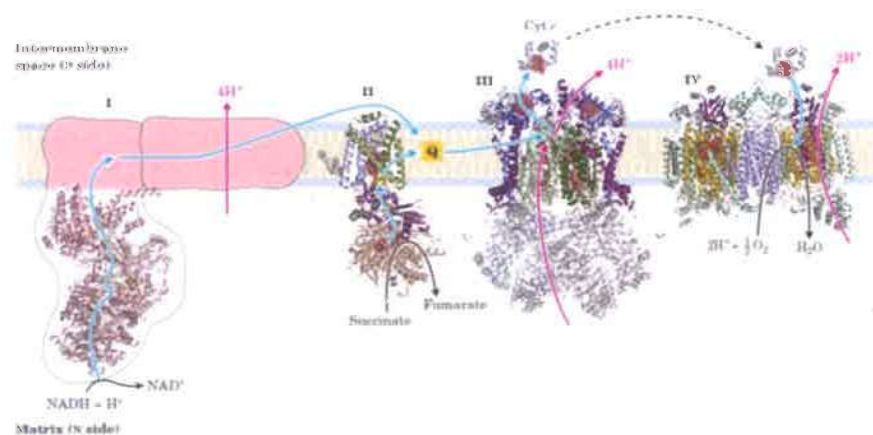
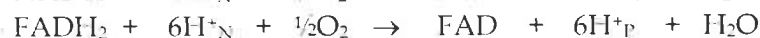


Gambar 55. Struktur Complex IV, Aliran Elektron dan Proton (Nelson *et al.*, 2013:718)

Ada tiga pusat redoks dalam sub unit I, dua diantaranya adalah tipe *heme a* yaitu *heme a* dan *heme a₃* dan yang ke tiga adalah *ion copper* (CuB). *Ion copper* ini berdekatan dengan ion besi dari *heme a₃* membentuk pusat binuclear dimana reduksi molekul oksigen terjadi. Ion besi pada gugus *heme* di *cytochrome* dan *ion copper* keduanya dioksidasi dan direduksi sebagai aliran elektron dari *cytochrome c* ke oksigen. Transfer elektron melalui *Complex IV* dikopel dengan transfer 2 proton melewati membran. Reaksi sesungguhnya melibatkan transfer empat elektron ke molekul O₂ untuk membentuk dua molekul air.



Transfer elektron dari NADH berturut-turut melalui *Complex I*, dan dari FAD melalui *Complex II*, selanjutnya diteruskan ke *Complex III* dan *Complex IV* dan diterima oleh molekul oksigen serta aliran proton dimuat pada Gambar 56. Dengan demikian, total proton dipompa dari *matrix* mitokondria ke ruang intermembran adalah 10, jika elektron diterima dari 1 molekul NADH dan 6 proton jika dari FADH₂.

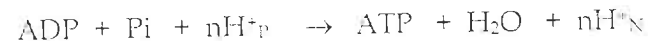


Gambar 56. Aliran Elektron dan Proton pada Empat Complex Rantai Respirasi (Nelson *et al.*, 2013:744)

Sintesis ATP

Bagaimana gradien konsentrasi proton dirubah ke ATP? Transfer elektron dilepaskan energi sekitar 200 kJ per mol pasangan elektron untuk mendorong pembentukan satu mol ATP yang membutuhkan energi sekitar 50 kJ. Bagaimanakah mekanisme kimia yang mengkopel aliran proton dengan pembentukan ATP dari ADP dan Pi (fosforilasi oksidatif)?

Model **chemiosmotic** yang diperkenalkan oleh Peter Mitchell adalah paradigma untuk mekanisme ini. Menurut model ini energi elektrokimia tidak dapat dipisahkan dengan perbedaan konsentrasi proton. Pemisahan muatan melewati membran-dalam mitokondria menyebabkan tenaga *proton-motive* mendorong sintesis ATP sebagai aliran pasif proton kembali ke *matrix* mitokondria. Aliran pasif proton ini melalui lubang proton pada *ATP synthase*. Untuk menekankan peranan tenaga *proton-motive* yang sangat penting ini, maka persamaan sintesis ATP kadang-kadang ditulis



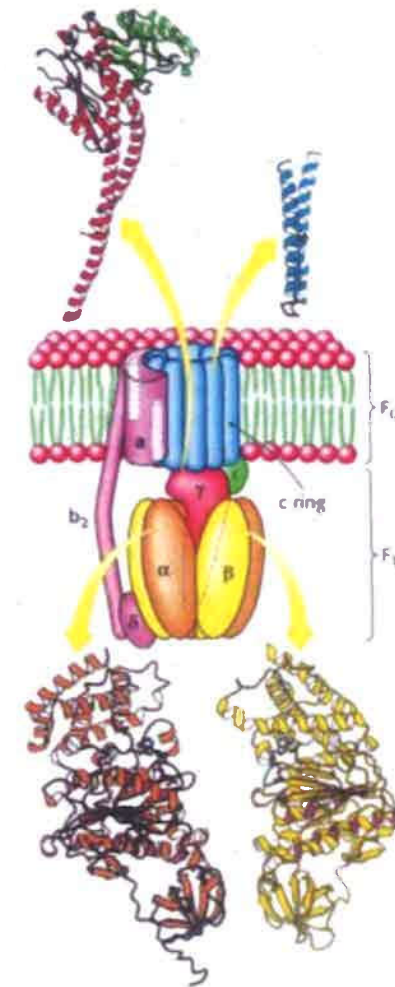
Mitchell menggunakan *chemiosmotic* untuk menggambarkan reaksi enzimatik yang melibatkan reaksi kimia dan proses transfer elektron yang serempak. Model *chemiosmotic* digunakan untuk mitokondria. Elektron dari NADH dan substrat lain yang mudah teroksidasi melewati pembawa elektron yang ditata asimetri di dalam membran-dalam mitokondria. Aliran elektron disertai transfer proton melewati pembawa elektron membran ini mengakibatkan dihasilkan gradien kimia (ΔpH) dan gradien elektrik ($\Delta\psi$). Membran-dalam mitokondria adalah impermiabel untuk proton. Proton dapat masuk kembali ke *matrix* mitokondria hanya melalui *channel* proton spesifik (F_0). Tenaga *proton-motive* mendorong proton kembali ke *matrix* mitokondria yang menyediakan energi untuk sintesis ATP yang dikatalisis oleh F_1 yang berasosiasi dengan F_0 pada *ATP synthase*.

ATP synthase adalah enzim yang mengkatalisis reaksi sintesis ATP dari ADP dan Pi. Reaksi ini didorong oleh gradien proton selama transfer elektron. *ATP synthase* adalah **ATPase tipe-F** spesifik yang dinamakan F_0F_1 ATPase. ATPase tipe-F merespon sintesis ATP

dan tidak menghidrolisisnya. Enzim ini tertanam di membran-dalam mitokondria dan mempunyai karakteristik struktur "kepala dan tangkai" (*knob and stalk*) yang telah diamati di bawah mikroskop elektron lebih dari setengah abad yang lalu. *ATP synthase* mempunyai dua domain fungsional yaitu F_1 dan F_0 . Komponen F_1 (*knob*) mengandung subunit katalitik, ketika dilepaskan dari membran komponen ini mengkatalisis reaksi hidrolisis ATP. Komponen F_1 mengarah ke *matrix* mitokondria pada eukariot dan mengarah ke sitoplasma pada bakteri. Komponen F_0 (*stalk*) terbenam di dalam membran. Komponen F_0 mempunyai *channel proton* yang terbentang pada membran dan melewati proton melalui *channel* ini dari ruang antar membran mitokondria (*interspace membrane*) ke *matrix* mitokondria yang dikopel dengan pembentukan ATP oleh komponen F_1 . Struktur *ATP synthase* telah diketahui (Gambar 57).

Komposisi subunit dari komponen F_1 (*knob*) adalah $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\epsilon$ dan komponen F_0 membran adalah $a_1b_2c_{10-14}$. Sub unit *c* dari F_0 berinteraksi membentuk selinder dalam membran. Inti (*core*) dari struktur F_1 (*knob*) dibentuk dari tiga bentuk yang identik (kopi) yang setiapnya ditata oleh subunit α dan β membentuk sebuah heksamer berbentuk silinder (*cylindrical hexamer*). Sisi pengikatan nukleotida terletak dalam celah antara subunit α dan β yang berdekatan. Dengan demikian, sisi pengikatan adalah ruang 120° pada permukaan selinder $\alpha_3\beta_3$. Sisi katalitik sintesis ATP berhubungan dengan residu asam amino dari subunit β .

Oligomer $\alpha_3\beta_3$ pada F_1 dihubungkan dengan subunit *c* transmembran oleh tangkai multi-subunit yang terdiri dari subunit γ dan ϵ . Unit c - ϵ - γ membentuk sebuah "rotor" yang berputar di dalam membran. Rotasi dari subunit γ di dalam *hexamer* $\alpha_3\beta_3$ merubah konformasi dari subunit β , membuka dan menutup sisi aktif. Subunit α , b dan δ membentuk sebuah lengan yang melekatkan komponen F_0 ke oligomer $\alpha_3\beta_3$. Unit a - b - δ - $\alpha_3\beta_3$ diistilahkan dengan "*stator*". Jalan lintasan proton melewati *channel* pada *interface* antara subunit a dan c menyebabkan perakitan rotor berputar satu arah relatif terhadap rotor. Struktur keseluruhan sering dinamakan "rotor molekular".



Gambar 57. Struktur *ATP Synthase* (Berg *et al.*, 2006:522)

Terdapat 10-14 subunit *c* di dalam membran yang berasosiasi dengan cincin-*c* pada dasar rotor. Jumlah subunit tergantung pada spesies. Ragi dan *E.coli* mempunyai 10 subunit tetapi tumbuhan dan binatang terdiri dari 14 subunit. Bukti yang baik menunjukkan bahwa rotasi dari masing-masing subunit *c* melewati *stator* didorong oleh translokasi dari proton tunggal. Rotasi dari subunit γ di dalam

komponen F_1 berlangsung bertahap dengan cara tersentak dimana setiap tahap "rotor" berputar 120° . Jika cincin-c mempunyai 10 subunit kemudian rotasi komplet membutuhkan translokasi dari 10 proton dan menghasilkan tiga molekul ATP tetapi stoikiometrinya masih sedang dipelajari. Hasil dari banyak eksperimen menunjukkan bahwa rata-rata tiga proton harus ditranslokasi untuk setiap molekul ATP yang disintesis. Hal ini mengusulkan bahwa hanya translokasi 9 proton dibutuhkan untuk rotasi komplet dari cincin-c.

Mekanisme sintesis ATP dari ADP dan P_i telah menjadi target riset selama beberapa dekade. Pada tahun 1979 Paul Boyer mengusulkan *binding change mechanism* yang didasarkan observasi bahwa sifat-sifat pengikatan substrat dan produk pada sisi aktif dapat merubah pergerakan proton melewati membran. Oligomer $\alpha_3\beta_3$ dari F_1 pada ATP synthase mengandung **tiga sisi katalitik** yang mempunyai konformasi yang berbeda yaitu (1). **Terbuka (open)**: ATP yang baru disintesis dilepaskan dan ADP dan P_i dapat diikat; (2). **Longgar (loose)**: ADP dan P_i yang terikat tidak dapat dilepaskan; (3) **Ketat (tight)**: ATP sangat kuat berikatan dan kondensasi dari ADP dan P_i disukai. Perubahan ketiga konformasi ini sebagai akibat perputaran subunit γ pada kepala (*knob*). **"Rotor" berputar 10 revolusi perdetik menghasilkan 30 molekul ATP perdetik.**

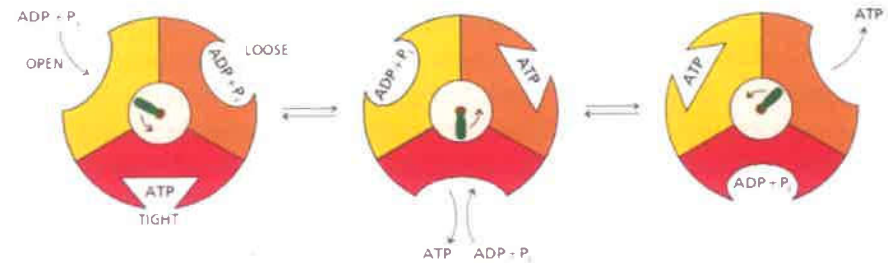
Pembentukan dan pelepasan ATP dipercayai terjadi mengikuti langkah-langkah seperti dimuat pada Gambar 58.

1. Satu molekul ADP dan satu molekul P_i berikatan ke sisi "open"
2. Rotasi dari tangkai γ menyebabkan masing-masing dari tiga sisi katalitik berubah konformasi. Konformasi "open" menjadi sisi "loose". Sisi "loose" diisi dengan ADP dan P_i menjadi terikat kuat. Sisi yang mengandung ATP menjadi sisi "open"
3. ATP dilepaskan dari sisi "open" dan ADP dan P_i berkondensasi membentuk ATP pada sisi "tight"

Nilai *ratio P/O*

Sebelum teori *chemiosmotic* diusulkan kebanyakan peneliti mencari intermediet "berenergi tinggi" yang mampu membentuk ATP dengan cara mentransfer gugus fosforil secara langsung. Mereka

mengasumsikan bahwa *Complex I, III dan IV* masing-masing berkontribusi pada pembentukan ATP dengan stoikiometri "satu banding satu". Kita telah mengetahui sekarang bahwa transduksi energi terjadi karena perubahan gradien konsentrasi proton antara *matrix* dan intermembran.



Gambar 58. Pembentukan dan Pelepasan ATP pada Sisi Aktif ATP Synthase (Moran et al., 2012:434)

mengasumsikan bahwa *Complex I, III dan IV* masing-masing berkontribusi pada pembentukan ATP dengan stoikiometri "satu banding satu". Kita telah mengetahui sekarang bahwa transduksi energi terjadi karena perubahan gradien konsentrasi proton antara *matrix* dan intermembran.

Asumsi reaksi keseluruhan model *chemiosmotic* untuk fosforilasi oksidatif adalah sebagai berikut:



Nilai x kadang-kadang dinamakan **ratio P/O** atau **ratio $P/2e^-$** . Apakah sebenarnya makna dari **ratio P/O**? Ketika mitokondria utuh disuspensikan ke dalam larutan yang mengandung substrat yang dapat dioksidasi seperti *succinate* atau NADH dan disediakan O_2 maka ATP yang disintesis ternyata diukur sebagai penurunan konsentrasi O_2 . Dengan demikian terdapat hubungan antara sintesis ATP dan penurunan konsentrasi O_2

Hubungan ini dinyatakan sebagai **ratio P/O**. **Ratio P/O** adalah perbandingan molekul ADP terfosforilasi dengan atom oksigen yang tereduksi. Oksigen mengambil dua elektron untuk mereduksi atom

oksigen tunggal ($\frac{1}{2} O_2$). Oleh sebab itu yang menarik diketahui adalah berapa jumlah proton yang ditranslokasi untuk setiap pasang elektron yang ditransfer melalui *Complex I, II, III* dan *IV* dan akhirnya diterima oleh atom Oksigen tunggal. Empat proton ditranslokasi oleh *Complex I*, empat proton oleh *Complex II* dan dua proton oleh *Complex IV*.

Dengan **paradigma chemiosmotic** untuk kopling sintesis ATP sebagai akibat transfer elektron, maka **tidak ada teori yang menyatakan bahwa P/O adalah bilangan bulat**. Berapa banyak proton yang dipompa ke luar *matrix* menuju intermembran akibat transfer elektron dari NADH melalui *Complex I, II, III* dan *IV* dan akhirnya diterima oleh atom Oksigen tunggal? Berapa banyak proton harus mengalir melalui kompleks *ATP synthase* menuju *matrix* untuk mendorong sintesis satu molekul ATP? Empat proton ditranslokasi oleh *Complex I*, empat proton oleh *Complex II* dan dua proton oleh *Complex IV*. Dengan demikian, total 10 proton yang dipompa untuk setiap pasang elektron yang melewati *Complex* ini dari NADH ke $\frac{1}{2}O_2$ dan total 6 proton yang dipompa untuk setiap pasang elektron yang melewati *Complex* ini dari *succinate* ke $\frac{1}{2}O_2$.

Nilai eksperimen yang paling banyak diterima untuk jumlah proton yang dibutuhkan mendorong sintesis satu molekul ATP adalah 4, yang mana 1 digunakan untuk transfer P_i , ATP dan ADP melewati membran mitokondria. Jika 10 proton dipompa per molekul NADH, maka 4 proton mengalir melalui F_0 *ATP synthase* untuk menghasilkan 1 molekul ATP. Berdasarkan hal ini, **ratio P/O adalah 2,5 (10/4) untuk NADH** sebagai donor elektron dan **1,5 (6/4) untuk succinate** sebagai donor elektron. Nilai perhitungan ini dekat dengan *ratio P/O* yang telah diamati pada eksperimen pengukuran jumlah O_2 tereduksi ketika diberikan sejumlah ADP untuk difosforilasi. Pada buku ini digunakan nilai *ratio P/O* tersebut. Walaupun demikian, nilai 3 dan 2 masih digunakan pada beberapa buku biokimia lain dengan alasan tertentu.

M. NADH Shuttle

NADH dihasilkan oleh reaksi yang berbeda, khususnya reaksi yang dikatalisis oleh *glyceraldehyde-3-phosphate* selama glikolisis dan siklus TCA. NADH dapat digunakan secara langsung untuk reaksi

biosintesis seperti biosintesis asam amino dan pada jalur glukoneogenesis (dimana *glyceraldehyde-3-phosphate* dapat mengkatalisis reaksi kebalikannya). NADH yang berlebih digunakan untuk memproduksi ATP. Pada bakteri, oksidasi NADH dari semua sumber di dalam sel yang di kelilingi membran plasma, sistem transport elektron yang berasosiasi dengan membran tertanam pada membran plasma yang permukaan-dalam membran tersebut adalah sitosol. Lain halnya pada sel eukariot, hanya molekul NADH yang berada pada *matrix* mitokondria yang dapat secara langsung memberikan elektronnya pada *Complex I* yang berada pada membran-dalam mitokondria. Hal ini tidak masalah bagi NADH yang dihasilkan pada siklus TCA karena siklus ini terjadi pada *matrix* mitokondria. Bagaimanakah untuk NADH yang dihasilkan pada jalur glikolisis, sedangkan glikolisis terjadi di sitosol?

NADH dan NAD^+ di sitosol tidak dapat melewati membran-dalam mitokondria agar sampai di *matrix* mitokondria untuk memasuki rantai transport elektron. Bagaimana NADH sitosol memasuki rantai transport elektron? Agar NADH sitosol tersebut dapat memasuki rantai transport elektron digunakanlah sistem *shuttle*. Jumlah molekul ATP yang dihasilkan tergantung pada tipe sistem *shuttle* dari sel dimana NADH terbentuk. Dikenal dua tipe sistem *shuttle* yaitu *malate-aspartate shuttle* dan *glycerol 3-phosphate shuttle*.

Sistem *shuttle* secara tidak langsung menyampaikan/mengantarkan NADH masuk ke mitokondria untuk dioksidasi. NADH *dehydrogenase (Complex I)* membran-dalam mitokondria dari sel binatang dapat menerima elektron hanya dari NADH di dalam *matrix* mitokondria. Membran-dalam mitokondria tidak permeabel untuk NADH. Bagaimana NADH hasil glikolisis dalam sitosol direoksidasi ke NAD^+ oleh O_2 melalui rantai respirasi? Sistem *shuttle* khusus untuk membawa ekuivalen pereduksi dari NADH sitosol masuk ke mitokondria dengan rute tidak langsung. *Shuttle* NADH yang paling aktif yang berfungsi di mitokondria hati, ginjal dan jantung adalah *malate-aspartate shuttle*.

Pada *malate-aspartate shuttle* ekuivalen pereduksi NADH sitosol pertama kali ditransfer ke *oxaloacetate* sitosol menghasilkan *malate* yang dikatalisis oleh *malate dehydrogenase*. *Malate* yang terbentuk

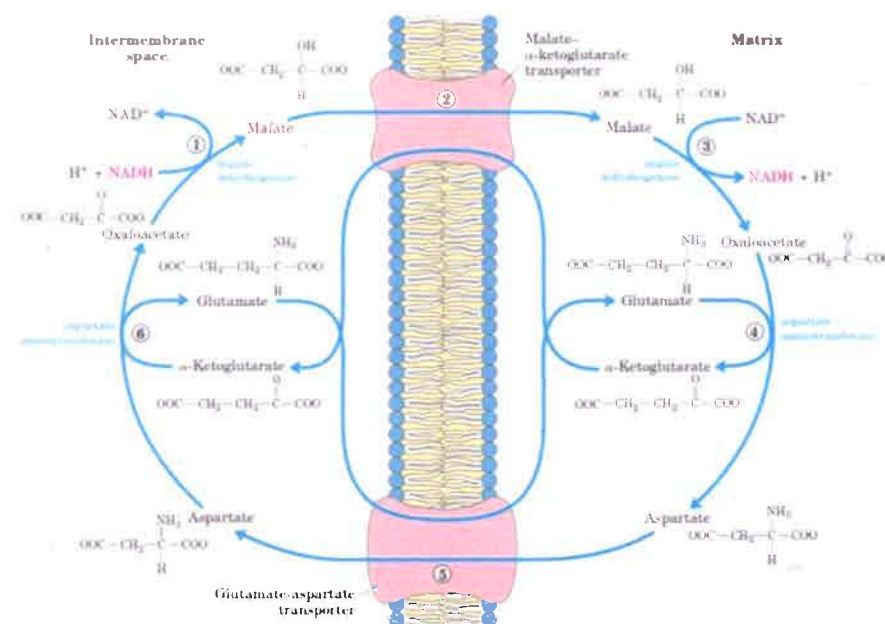
melewati membran-dalam mitokondria melalui transporter *malate- α -ketoglutarate*. Dalam *matrix* mitokondria, malat mereduksi NAD^+ menjadi NADH oleh aksi *malate dehydrogenase matrix*. Dengan demikian, NADH dapat secara langsung memberikan elektron ke rantai respirasi. Sekitar 2,5 molekul ATP yang dihasilkan akibat sepasang elektron yang diberikan ke molekul O_2 . *Oxaloacetate* sitosol dihasilkan oleh reaksi transaminasi (dibahas pada metabolisme asam amino).

Malate-aspartate shuttle untuk mentransfer ekuivalen pereduksi dari NADH sitosol masuk ke dalam *matrix* mitokondria dan digunakan di liver, ginjal dan jantung melalui beberapa tahap (Gambar 59). Tahap-tahapnya adalah sebagai berikut: (1) NADH di sitosol memasuki ruang intermembran, melewati ekuivalen pereduksi *oxaloacetate* menghasilkan *malate*; (2). Malat melintasi membran-dalam melalui transporter *malate- α -ketoglutarate*; (3). Di dalam *matrix* mitokondria, *malate* melewati ekuivalen pereduksi NAD^+ menghasilkan NADH yang dapat dioksidasi pada rantai pernafasan. *Oxaloacetate* yang dibentuk dari *malate* tidak dapat secara langsung masuk ke ruang intermembran; (4) *Oxaloacetate* diubah terlebih dulu ke *aspartate*; (5) *Aspartate* dapat meninggalkan *matrix* mitokondria melalui transporter *glutamate-aspartate* (6) *Oxaloacetate* dihasilkan kembali di dalam sitosol.

Rangka otot dan otak menggunakan NADH shuttle "*glycerol 3-phosphate shuttle*" (Gambar 60). Shuttle ini berbeda dibandingkan *malate-aspartate shuttle* dimana ekuivalen pereduksi dari NADH ditransfer ke *ubiquinone*. Dengan demikian elektron masuk ke *Complex III*, tidak ke *Complex I*. Proses ini, menyediakan cukup energi untuk mensintesis 1,5 molekul ATP setiap sepasang elektron yang ditransfer ke molekul O_2 .

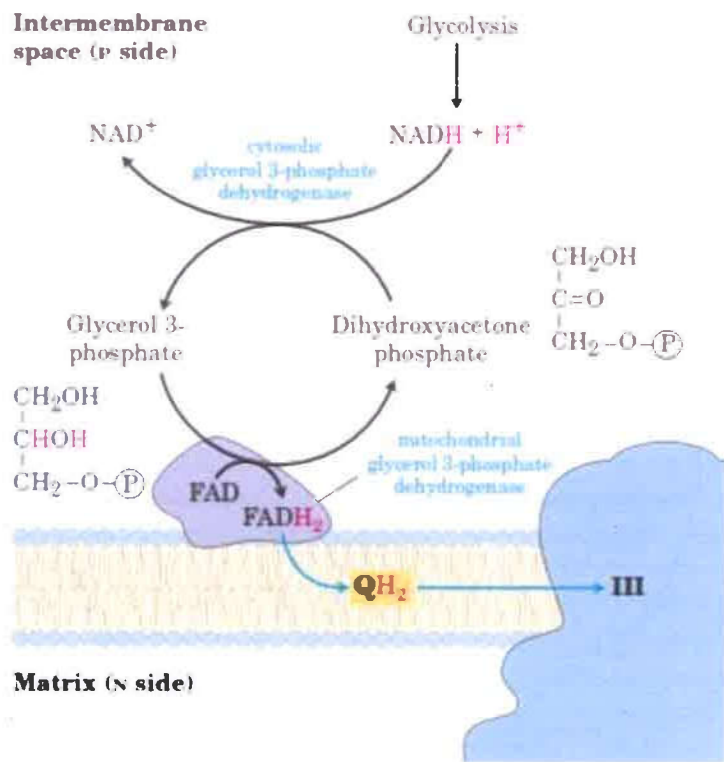
Glycerol-3-phosphate shuttle merupakan alternatif pergerakan ekuivalen pereduksi dari sitosol ke *matrix* mitokondria yang terjadi di otot rangka dan otak. Di dalam sitosol *dihydroacetone phosphate* menerima dua ekuivalen pereduksi dari NADH yang dikatalisis oleh *glycerol-3-phosphate dehydrogenase* sitosol. Isoenzim *glycerol-3-phosphate dehydrogenase* berikatan dengan permukaan luar membran-dalam mitokondria kemudian mentransfer dua ekuivalen pereduksi dari *glycerol-3-phosphate* di dalam ruang antar membran ke *ubiquinone*.

Sebagai catatan adalah *glycerol-3-phosphate shuttle* tidak melibatkan sistem transport.

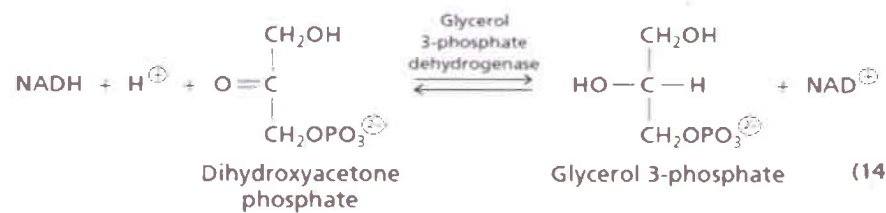


Gambar 59. *Malate-aspartate Shuttle* (Nelson et al., 2013:731)

Glycerol-3-phosphate shuttle menonjol pada otot serangga yang menopang pembentukan ATP dengan kecepatan yang sangat tinggi. Dua *glycerol-3-phosphate dehydrogenase* dibutuhkan pada shuttle ini yaitu *glycerol-3-phosphate dehydrogenase* yang berada di sitosol dan *complex glycerol 3-phosphate dehydrogenase* yang terbenam di membran-dalam yang mengandung gugus prostetik FAD. *Complex* enzim ini mempunyai sisi pengikatan substrat pada permukaan luar membran-dalam mitokondria. Pada sitosol, NADH mereduksi *dihydroxyacetone phosphate* dalam reaksi yang dikatalisis oleh *glycerol 3-phosphate dehydrogenase* sitosol.



Gambar 60. *Glycerol 3-phosphate Shuttle*
(Nelson et al., 2013:732)



Glycerol-3-phosphate kemudian dikonversi kembali ke *dihydroxyacetone phosphate* oleh *complex dehydrogenase* membran dan

dua elektron ditransfer ke gugus prostetik FAD enzim. FADH_2 mentransfer dua elektron ke pembawa elektron *mobile Q*, kemudian membawa elektron ke *ubiquinol:cytochrome c oxidoreductase (Complex III)*. Oksidasi NADH sitosol melalui *glycerol-3-phosphate shuttle* ekuivalen dengan jalur yang menghasilkan kurang energi (1,5 ATP permolekul NADH sitosol) dibandingkan *Malate-aspartate shuttle* yang elektron dari NADH diberikan ke *Complex I*.

Perhitungan jumlah ATP pada respirasi aerobik

Fosforilasi oksidatif menghasilkan paling banyak ATP pada sel aerobik. Jalur oksidatif aerobik yang menghasilkan transfer elektron ke molekul O_2 disertai oleh fosforilasi oksidatif merupakan produksi ATP paling besar pada katabolisme. Oksidasi sempurna satu molekul glukosa ke molekul CO_2 menghasilkan 30 atau 32 ATP (Tabel 9). Glikolisis pada kondisi anaerob (fermentasi laktat) menghasilkan hanya 2 molekul ATP setiap molekul glukosa. Oksidasi sempurna koenzim A palmitat (16:0) ke CO_2 mana terjadi di *matrix* mitokondria menghasilkan 108 ATP setiap *palmitoyl-CoA*. Perhitungan yang mirip dapat dilakukan pada oksidasi setiap asam amino.

Bagaimana kaitan dan regulasi antara jalur metabolik? Jalur katabolik utama mempunyai saling keterkaitan dan mekanisme regulasi yang saling berhubungan. Hal ini memungkinkan jalur tersebut berfungsi bersama secara ekonomis dan mengatur sendiri cara memproduksi ATP dan prekursor biosintetiknya. Konsentrasi relatif ATP dan ADP mengontrol tidak hanya kecepatan transfer elektron dan fosforilasi oksidatif tetapi juga kecepatan siklus TCA, oksidasi *Pyruvate* dan jalur glikolisis.

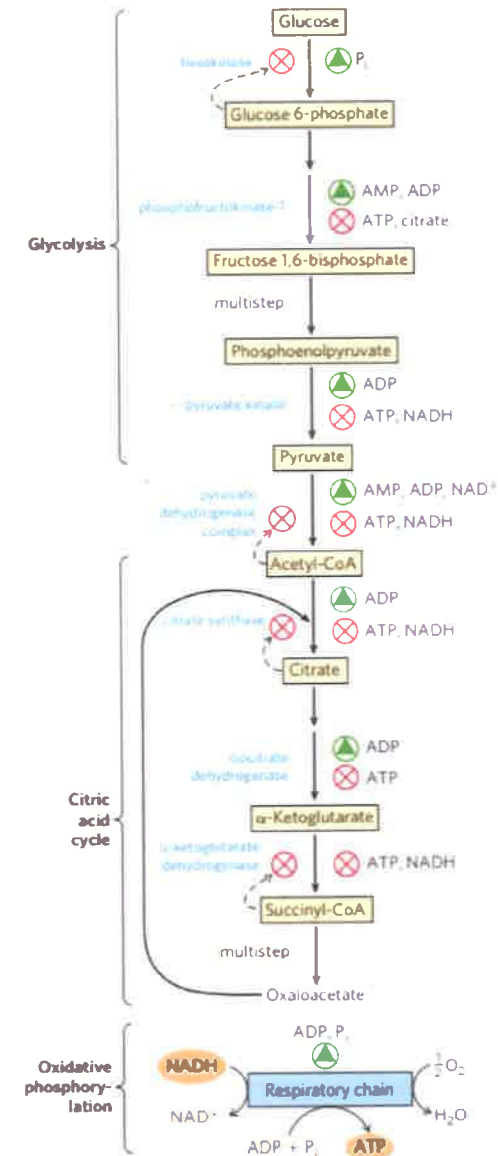
Regulasi saling terkait dari jalur glikolisis, oksidasi *pyruvate*, siklus TCA dan fosforilasi oksidatif oleh konsentrasi relatif ATP, ADP, AMP dan oleh NADH dimuat pada Gambar 61. Jika ATP tinggi atau ADP dan AMP rendah akan menghasilkan kecepatan yang rendah pada jalur glikolisis, oksidasi *pyruvate*, oksidasi asetat melalui siklus TCA dan fosforilasi oksidatif. Semua jalur dipercepat jika penggunaan ATP dan pembentukan ADP, AMP dan P_i naik. Keterkaitan jalur glikolisis dan siklus TCA adalah pada *citrate*. *Citrate* dapat menghambat jalur glikolisis. Kenaikan level NADH dan *acetyl-CoA* juga menghambat oksidasi *pyruvate* ke *acetyl-CoA*. *Ratio*

NADH/NAD⁺ yang tinggi menginhibisi reaksi dehidrogenasi siklus TCA.

Tabel 9. Oksidasi Sempurna Satu Molekul Glukosa

Jalur	ATP per glukosa		NADH	FADH ₂
	1*	2*		
Glikolisis: glukosa ke Pyruvate (sitosol)				
Fosforilasi glukosa	-1	-1		
Fosforilasi fruktosa 6-fosfat	-1	-1		
Defosforilasi 2 molekul 1,3-BPG	+2	+2		
Defosforilasi 2 molekul PEP	+2	+2		
Oksidasi 2 molekul gliseraldehid 3-fosfat menghasilkan 2NADH			+2	
Konversi Pyruvate ke asetil-CoA				
Menghasilkan 2 NADH			+2	
Siklus Asam sitrat (mitokondria)				
2 molekul GTP dari 2 molekul suksinil-CoA	+2	+2		
Oksidasi 2 molekul isositrat, α -ketoglutarat, dan malat menghasilkan 6 NADH			+6	
Oksidasi 2 molekul suksinat menghasilkan 2FADH ₂				+2
Fosforilasi oksidatif (mitokondria)				
2 NADH dari glikolisis.	+3	+5	-2	
Oksidasi dekarboksilasi 2 Pyruvate ke asetil-CoA: dihasilkan 2 NADH, setiap NADH menghasilkan 2,5 ATP	+5	+5	-2	
2 FADH ₂ dari setiap siklus TCA menghasilkan 1,5 ATP masing-masingnya	+3	+3		-2
6 NADH dari siklus TCA menghasilkan 2,5ATP masing-masingnya	+15	+15	-6	
Hasil total	+30	+32	0	0

1* Glycerol-phosphate shuttle ; 2* Malate-Aspartate Shuttle



Gambar 61. Regulasi Jalur Produksi ATP

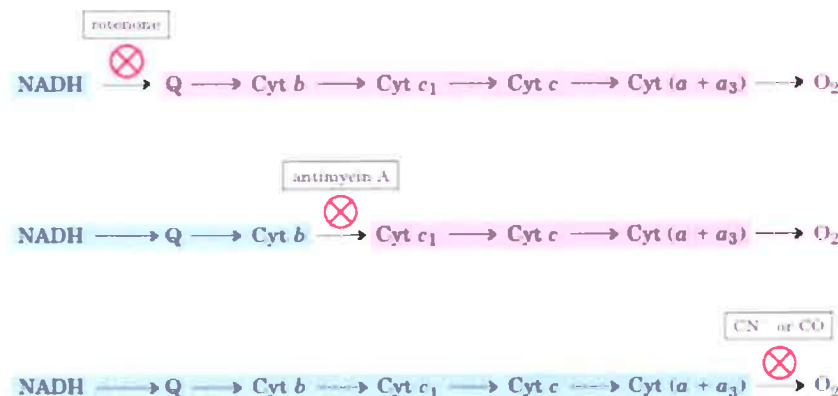
\otimes Inhibisi, \otimes Aktivasi
(Nelson et al., 2013:762)

Ketika pemakaian ATP naik, kecepatan transfer elektron dan fosforilasi oksidatif naik. Secara serempak kecepatan oksidasi *pyruvate* melalui siklus TCA menaik, dan akan menaikkan pula aliran elektron memasuki rantai respirasi. Peristiwa ini pada gilirannya membangkitkan kenaikan kecepatan jalur glikolisis, menaikkan kecepatan pembentukan *pyruvate*. Ketika konversi ADP ke ATP merendahkan konsentrasi ADP, kontrol aseptor melambatkan tranfer elektron dan demikian pula fosforilasi oksidatif. Jalur glikolisis dan siklus TCA juga diperlambat karena ATP adalah inhibitor allosterik enzim glikolitik *phosphofructokinase-1* dan *pyruvate dehidrogenase*. *Phosphofructokinase-1* juga diinhibisi oleh sitrat yang merupakan intermediet pertama siklus TCA. Ketika siklus TCA tidak jalan *citrate* terakumulasi dalam mitokondria, kemudian ditransfer masuk ke sitosol. Ketika konsentrasi ATP dan *citrate* naik, akan menghasilkan inhibisi allosterik terpadu dari *phosphofructokinase-1* adalah lebih besar dari pada efek individual, akibatnya memperlambat jalur glikolisis.

Inhibitor rantai pernafasan

Tiga lokasi penghambatan oleh inhibitor yang bekerja pada proses pengangkutan elektron dari NADH ke molekul O₂ telah diketahui Gambar 62. Lokasi pertama adalah dari NADH ke *ubiquinone*. Inhibitor pada lokasi ini adalah **rotenon**, suatu senyawa racun dari tumbuhan yang digunakan sebagai insektisida; **amitol**, senyawa obat kelompok barbiturat; dan **piersidin**, suatu senyawa antibiotik yang strukturnya serupa ubikuinon. Ketiga zat ini berperan sebagai inhibitor pada *NADH dehidrogenase*. Inhibisi pada lokasi ini menyebabkan tidak terjadi transfer elektron dari NADH ke Q dan selanjutnya ke molekul O₂. Lokasi kedua adalah antara sitokrom *b* dan sitokrom *c*. Inhibitornya **antimisin-A**, suatu antibiotik yang diperoleh dari *Streptomyces griseus*. Inhibisi pada lokasi ke dua mengakibatkan tidak terjadi transfer elektron dari Cyt *b* ke Cyt *c*₁ dan selanjutnya sampai ke molekul O₂. Lokasi ketiga adalah antara sitokrom *aa*₃ ke molekul O₂. Inhibitor pada lokasi ini adalah **sianida, sulfida dan karbon monoksida**. Inhibisi pada lokasi ke tiga mengakibatkan tidak terjadi transfer elektron dari Cyt (*a* + *a*₃) ke molekul O₂.

Kerja sianida sebagai inhibitor pada rantai pernafasan dengan cara berikatan dengan ion Fe²⁺ yang terdapat pada enzim sitokrom oksidase membentuk kompleks yang sangat stabil. Pengikatan sianida tersebut menyebabkan ion Fe²⁺ tidak dapat teroksidasi menjadi Fe³⁺ dan secara tidak langsung mencegah sitokrom oksidase mengikat molekul O₂. Dengan demikian tidak terjadi transfer elektron dari sitokrom oksidase ke molekul O₂.



Gambar 62. Inhibitor Rantai Transfer Elektron
(Nelson *et al.*, 2013:712)

N. Metabolisme Glikogen

Glukosa merupakan sumber energi satu-satunya sel darah merah mamalia dan merupakan sumber energi utama otak. **Sel darah merah dan otak tidak dapat menyimpan glukosa**. Dengan demikian, suplai glukosa harus tersedia dalam bentuk glukosa darah. Total jumlah glukosa darah manusia dewasa (70 kg) adalah 20 g, tetapi otak menghabiskan 5-6 g glukosa perjam. Ini berarti, glukosa harus berasal dari makanan, diproduksi melalui jalur **glukoneogenesis** atau didegradasi dari glikogen (**glycogenolysis**).

Glikogen merupakan polimer glukosa. Glikogen merupakan penyimpan polisakarida yang penting pada bakteri, protoplast, fungi dan binatang. Glikogen vertebrata paling banyak ditemukan dalam

sitoplasma hati dan otot rangka. Granula-granula glikogen dapat dengan mudah dilihat di sitoplasma. Ukuran diameter granula glikogen 10-40 nm, sekitar seukuran ribosom. Partikel glikogen di sitosol sel hati kira-kira tiga kali lebih besar. Degradasi glikogen di hati menghasilkan glukosa. Degradasi glikogen terjadi ketika sinyal hormonal menunjukkan perlunya menaikkan level glukosa darah. Otot rangka juga mengandung glikogen yang menyediakan energi untuk kontraksi otot dengan cepat. Glikogen otot tidak dapat berkontribusi pada glukosa darah karena sel otot tidak mempunyai enzim *glucose-6-phosphatase*. Oleh sebab itu, glukosa tidak dapat dibentuk dari *glucose-6-phosphate* pada otot. *Glucose-6-phosphate* tidak dapat memasuki aliran darah.

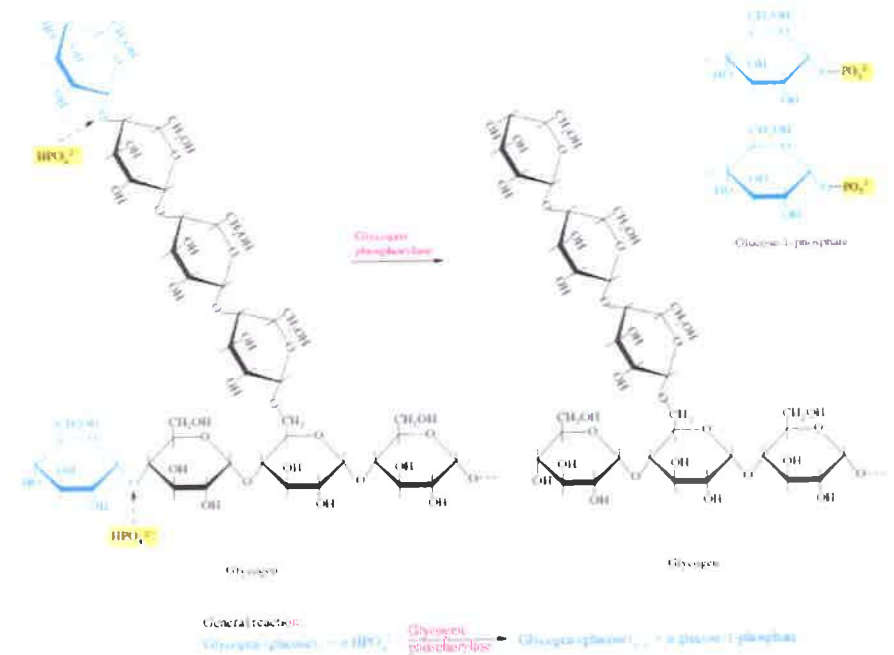
Glikogenolisis (Degradasi glikogen)

Degradasi glikogen mempunyai jalur yang berbeda dengan sintesis glikogen. Aktivitas jalur keduanya dipengaruhi oleh hormon. Terdapat dua hormon yang mengontrol degradasi glikogen yaitu **glucagon**, suatu hormon peptida yang disintesis di *pancreas* dan **epinephrine** yang dihasilkan dalam kelenjar adrenal. *Glucagon* dilepas dari *pancreas* untuk merespon glukosa darah yang rendah, sedangkan *epinephrine* dilepas dari kelenjar adrenal untuk merespon terhadap ancaman atau stress. Kedua situasi ini membutuhkan kenaikan glukosa darah. Kedua hormon ini berfungsi mengubah aktivitas dua enzim yaitu *glycogen phosphorylase* dan *glycogen synthase*. Pada saat degradasi glikogen, *glycogen phosphorylase* diaktifkan, sedangkan *glycogen synthase* terlibat pada sintesis glikogen dan diinaktifkan (Gambar 63). Langkah-langkah degradasi glikogen sebagai berikut:

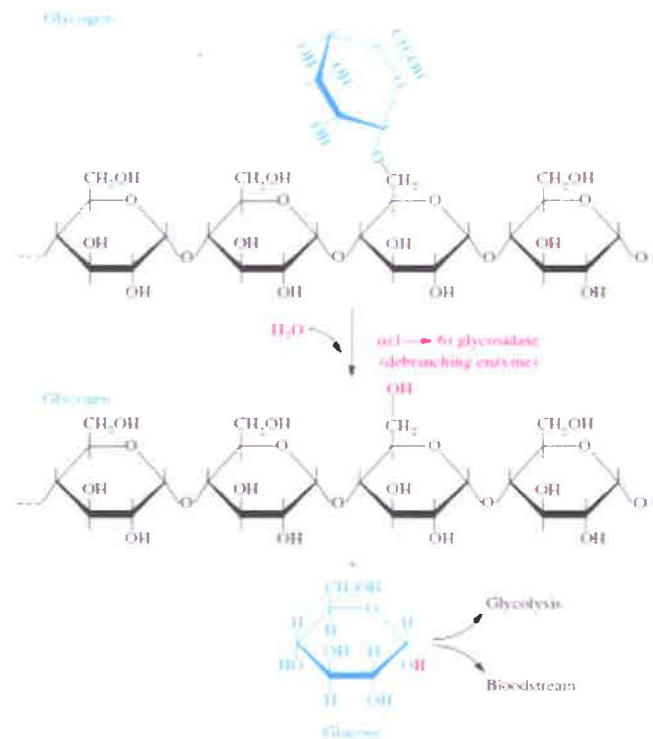
1. Enzim *glycogen phosphorylase* mengkatalisis degradasi glikogen pada ujung pereduksi polimer glikogen. Reaksi melibatkan pemindahan satu unit glukosa dari glikogen oleh sebuah gugus fosfat. *Glucose-1-phosphate* sebagai hasil fosforilasi, dihasilkan tanpa menggunakan ATP sebagai donor gugus fosforil (Gambar 63).
2. Glikogen mengandung banyak cabang, $\alpha(1\rightarrow6)$ glycosidic. Cabang ini harus dipindahkan untuk menyempurnakan degradasi glikogen. Enzim $\alpha(1\rightarrow6)$ glycosidase yang

dinamakan juga *debranching enzyme* menghidrolisis ikatan $\alpha(1\rightarrow6)$ glycosidic pada titik cabang menghasilkan satu molekul glukosa (Gambar 64). Molekul glukosa ini dapat difosforilasi dan dimanfaatkan pada jalur glikolisis atau glukosa memasuki aliran darah untuk digunakan di tempat lain.

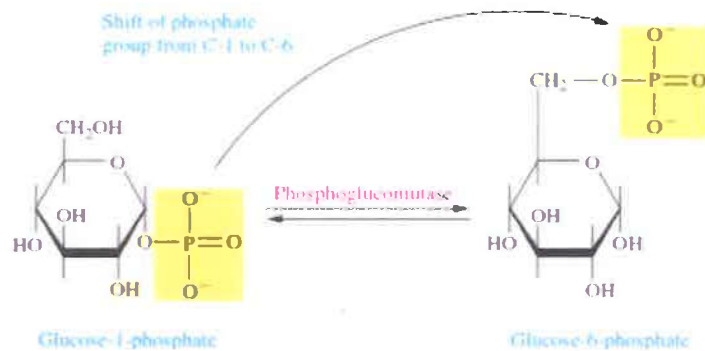
3. *Glucose-1-phosphate* dikonversi ke *glucose-6-phosphate* oleh *phosphoglucomutase* (Gambar 65). *Glucose-6-phosphate* dapat memasuki jalur glikolisis. Sebagai alternatif, pada hati dan ginjal *glucose-1-phosphate* didefosforilasi untuk ditransport memasuki aliran darah.



Gambar 63. Aksi *Glycogen Phosphorylase* pada Glikogenolisis (Denniston et al., 2008:753)



Gambar 64. Aksi Enzim $\alpha(1 \rightarrow 6)$ Glycosidase (Debranching Enzyme) (Denniston et al., 2008:754)

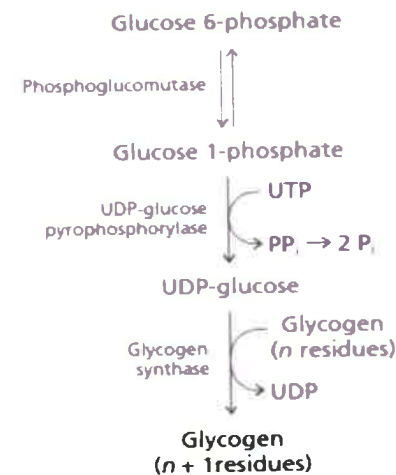


Gambar 65. Aksi Phosphoglucomutase pada Degradasi Glikogen (Denniston et al., 2008:754)

Glikogenesis (Sintesis glikogen)

Hormon **insulin** yang dihasilkan oleh *pancreas* merespon glukosa darah yang tinggi, mendorong sintesis glikogen. Insulin adalah salah satu hormon yang paling mempengaruhi glukosa darah. Ketika glukosa darah naik seperti setelah makan, maka sel β pankreas mengeluarkan insulin. Insulin segera mempercepat pengambilan glukosa semua sel kecuali pada otak dan sel darah tertentu. Dengan demikian, keberadaan glukosa pada semua sel kecuali pada otak dan sel darah tertentu tergantung insulin.

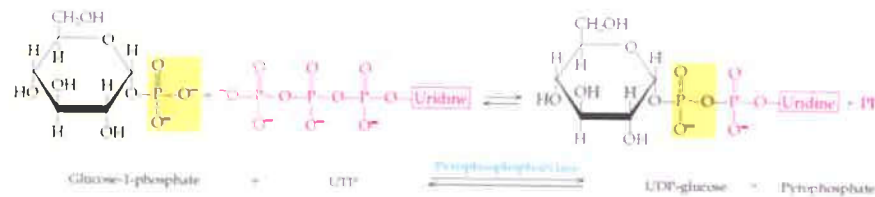
Pada liver, insulin mempromosikan sintesis glikogen dan menyimpan glukosa dengan menginhibisi *glicogen phosphorilase*. Dengan demikian, insulin secara tidak langsung menginhibisi degradasi glikogen, mengaktifkan *glycogen synthase* dan *glucokinase*, dua enzim yang terlibat pada sintesis glikogen. Meskipun glikogenesis dan glikogenolisis mempunyai beberapa reaksi umum, dua jalur ini tidak sederhana dan bukan reaksi kebalikan satu sama lainnya. Glikogenesis melibatkan beberapa reaksi yang tidak biasanya. Skema pembentukan glikogen dari *glucose-6-phosphate* dimuat pada Gambar 66.



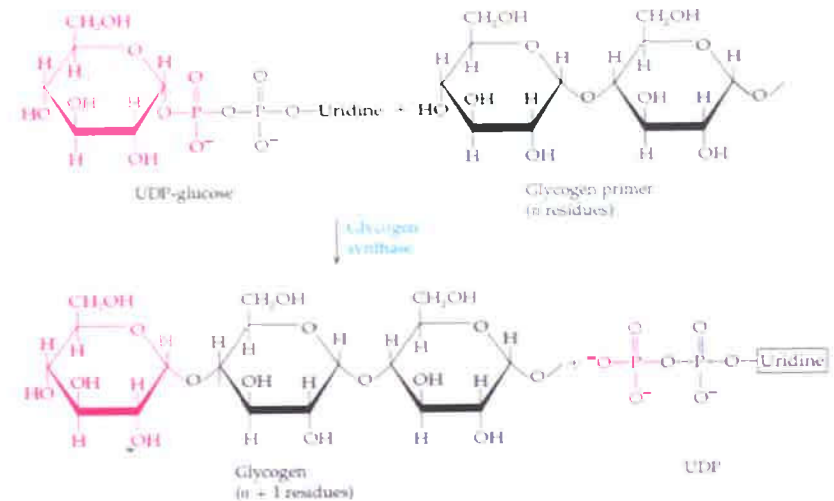
Gambar 66. Sintesis Glikogen pada Eukariot (Moran et al., 2012:370)

Langkah-langkah sintesis glikogen diringkaskan sebagai berikut:

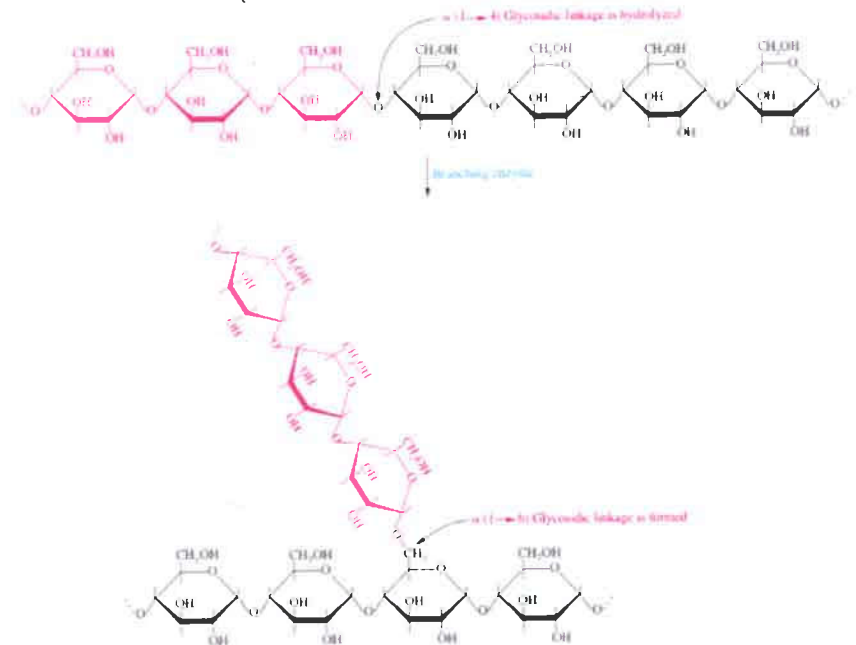
1. Glukosa difosforilasi yang dikatalisis oleh *glucokinase*. ATP sebagai donor *phosphoryl* dan terbentuk *glucose-6-phosphate*.
2. *Glucose-6-phosphate* diisomerasi ke *glucose-1-phosphate* yang dikatalisis oleh *phosphoglucomutase*.
3. *Glucose-1-phosphate* sekarang diaktifkan dengan cara bereaksi dengan *uridine triphosphate* (UTP) sebelum ditambahkan pada rantai glikogen yang sedang bertumbuh. Reaksi ini dikatalisis oleh enzim *pyrophosphorylase*. Gugus *phosphoryl* pada C-1 glukosa berikatan dengan gugus *α-phosphoryl* dari UTP menghasilkan *UDP-glucose* dan gugus *pyrophosphate* (PPi) (Gambar 65)
4. *UDP-glucose* sekarang dapat digunakan untuk memperpanjang rantai glikogen. Enzim *glycogen synthase* memutus ikatan *phosphoester* pada *UDP-glucose* dan membentuk ikatan α -(1→4) glikosidik antara glukosa dan rantai glikogen yang sedang tumbuh. UDP dilepaskan pada proses ini (Gambar 66).
5. Akhirnya dibentuk ikatan α -(1→6) glikosidik untuk membentuk cabang. Cabang ini adalah penting untuk pemanfaatan *glycogen* yang tepat. *Branching enzymes* memindahkan bagian linear ikatan α -(1→4) glikosidik glikogen dan diikatkan pada posisi ikatan α -(1→6) glikosidik (Gambar 67)



Gambar 67. Konversi *Glucose-1-phosphate* ke *UDP-glucose*
(Denniston et al., 2008:755)



Gambar 68. Penambahan *UDP-glucose* pada Glikogen Utama
(Denniston et al., 2008:757)



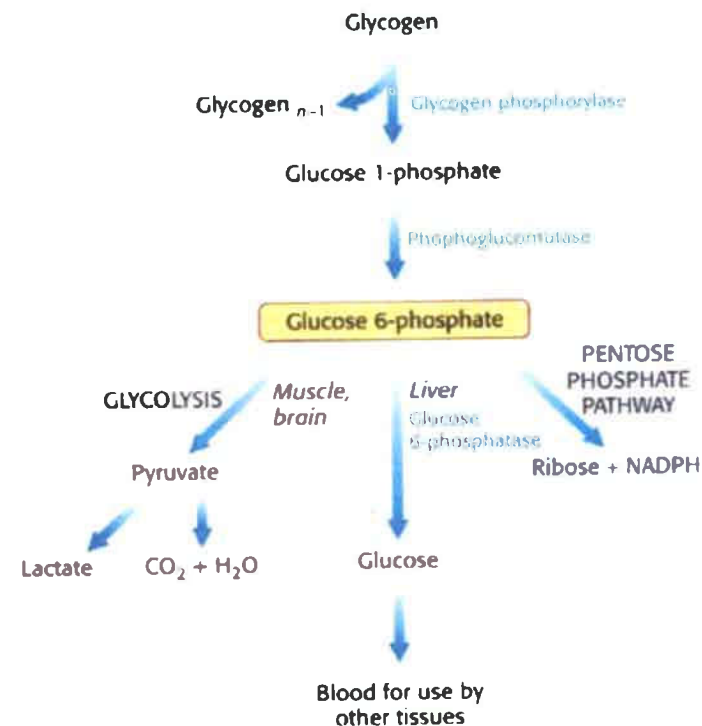
Gambar 69. Aksi *Branching Enzyme* pada Sintesis Glikogen
(Denniston et al., 2008:758)

O. Regulasi Metabolik Glikogen pada Mamalia

Pada mamalia, glukosa disimpan dalam bentuk glikogen ketika jumlah glukosa banyak yaitu pada saat setelah makan (level glukosa darah tinggi). Glikogen akan menyuplai glukosa ketika dibutuhkan yaitu selama berpuasa dan berkerja aktif. Pada otot, glikogen menyediakan bahan bakar untuk kontraksi otot. Lain halnya pada liver, sebagian besar glikogen diubah ke glukosa di sel liver dan memasuki aliran darah untuk ditransfer ke jaringan lain yang membutuhkan. Degradasi glikogen akibat aktivitas *glycogen phosphorylase* dan sintesis glikogen akibat aktivitas *glycogen synthase* diatur oleh hormon. Pada buku ini dijelaskan *glycogen phosphorylase* dan regulasinya.

Glycogen phosphorylase mendegradasi glikogen menghasilkan *glucose-1-phosphate*. Pada sel otot dan otak, *glucose-1-phosphate* dikonversi ke *glucose-6-phosphate* oleh *phospho-glucomutase*. Enzim ini dapat mengkatalisis reaksi sebaliknya. Pada otot, *glucose-6-phosphate* dapat digunakan sebagai bahan bakar pada metabolisme aerob atau anaerob untuk menghasilkan ATP atau pada jalur pentosa fosfat untuk menghasilkan NADPH atau ribosa. Pada sel liver, *glucose 6-phosphate* dihidrolisis untuk menghasilkan glukosa bebas yang dikatalisis oleh *glucose-6-phosphatase*. Glukosa ke luar sel hati untuk memasuki aliran darah dimana glukosa dapat diambil oleh jaringan lain. Aliran metabolit *glucose-6-phosphate* pada sel hati, otot dan otak dimuat pada Gambar 70.

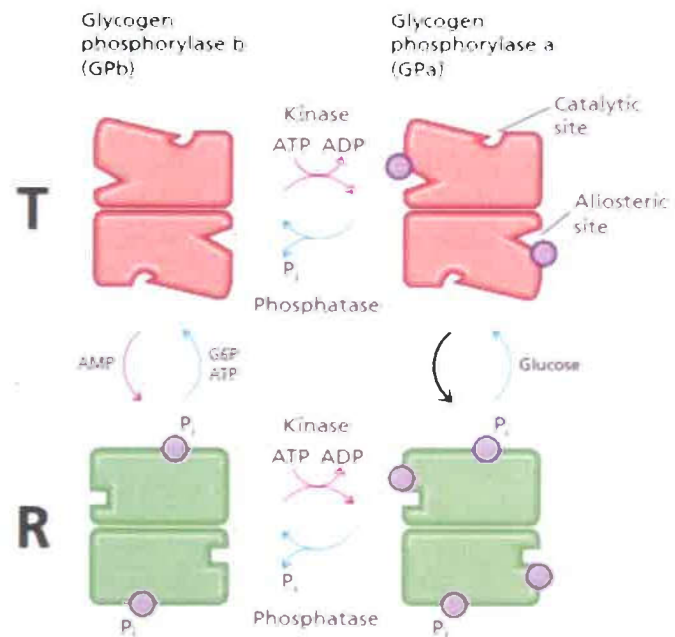
Aktivitas *glycogen phosphorylase* diregulasi oleh beberapa efektor allosterik dan oleh modifikasi kovalen (*phosphorylation*). Sisi allosterik enzim mengikat beberapa efektor yang dapat menyebabkan perubahan konformasi enzim. Sisi allosterik berdekatan dengan interface dimer antara dua monomer. Regulasi enzim ini sangat menarik untuk dipelajari. Enzim *glycogen phosphorylase* terdiri dari empat bentuk yang berbeda seperti yang dimuat pada Gambar 71. Bentuk *glycogen phosphorylase* yang tidak terfosforilasi dinamakan *glycogen phosphorylase b* dan bentuk *glycogen phosphorylase* terfosforilasi dinamakan *glycogen phosphorylase a*. Enzim ini difosforilasi oleh enzim *kinase* dan didefosforilasi oleh *phosphatase*. *Glycogen phosphorylase a* difosforilasi dekat sisi allosterik.



Gambar 70. Nasib *Glucose 6-phosphate*
(Berg et al., 2006:593)

Seperti enzim regulasi allosterik lainnya, *glycogen phosphorylase* memiliki dua konformasi yaitu konformasi R merupakan konformasi aktif dan konformasi T merupakan konformasi kurang aktif. Perbedaan kedua konformasi ini adalah perubahan bentuk sisi katalitiknya. Pada konformasi R, *phosphate inorganic* dapat berikatan dan pada konformasi T pengikatan *phosphate inorganic* diinhibisi. Dengan demikian, *glycogen phosphorylase* yang tidak terfosforilasi (GPb) dapat berada dalam konformasi T (inaktif) dan konformasi R (aktif), begitu juga untuk GPa. Struktur GPa dan GPb yang merupakan ilustrasi perubahan struktur yang terjadi jika enzim ini difosforilasi dan didefosforilasi dimuat pada Gambar 69. Gugus fosforil berikatan kovalen pada residu serin 14 (Ser-14) dekat ujung-N terminal enzim.

Ketika ATP diikat aktivitas enzim diinhibisi (keadaan T). Ketika konsentrasi AMP naik, AMP menggantikan ATP dari sisi allosterik menyebabkan enzim bergeser ke konformasi R (aktif) dan mengaktifkan enzim untuk mendegradasi glikogen. Pada sel otot kenaikan konsentrasi AMP akibat dari aktivitas otot merupakan sinyal dibutuhkan lebih *glucose-1-phosphate* untuk mensuplai produksi ATP pada jalur glikolisis. Enzim ini diinhibisi oleh *glucose-6-phosphate* (*feedback inhibition*), akibatnya, tidak perlu dilanjutkan degradasi glikogen jika konsentrasi *glucose-6-phosphate* cukup untuk glikolisis.



Gambar 71. Regulasi Glycogen Phosphorylase
 Phosphoril ditunjukkan oleh bola ungu.
 Konformasi T (merah) adalah inaktif
 Konformasi R (hijau) adalah aktif
 (Moran et al., 2012:374)

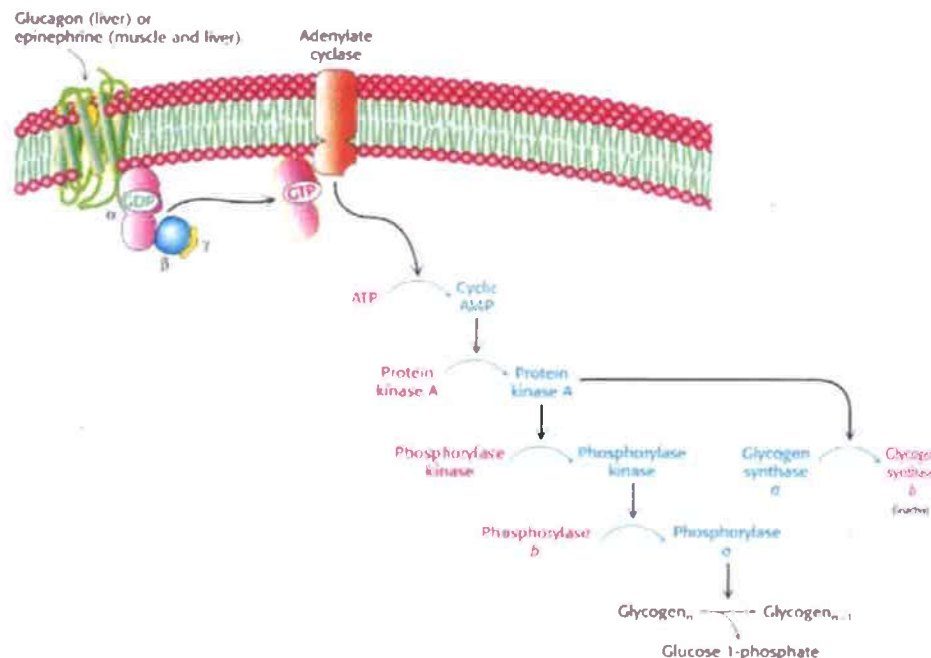
Kesetimbangan antara konformasi T dan R berubah besar ke konformasi R (aktif) ketika *glycogen phosphorylase* difosforilasi (GPa). GPa tidak sensitif pada ATP, AMP dan *glucose 6-phosphate*. Pada sel

otot, GPa akan terbentuk akibat respon hormon yang menandakan glukosa diperlukan akibat aktivitas otot berat. Pada sel liver, *glycogen phosphorylase* liver merespon hormon yang sama tetapi pada kasus ini glikogen didegradasi untuk menghasilkan glukosa yang dapat digunakan oleh sel otot. *Glycogen phosphorylase a* liver diinhibisi oleh glukosa akibatnya mengubah GPa ke konformasi T, selanjutnya enzim ini tidak dapat mendegradasi glikogen. *Glycogen phosphorylase* otot tidak diinhibisi oleh glukosa. Sel otot tidak mengkonversi *glucose 6-phosphate* ke glukosa. Glukosa yang diambil dari aliran darah dengan cepat difosforilasi oleh *hexokinase* ke *glucose 6-phosphate* di dalam otot.

Sekarang kita mengetahui bahwa fosforilasi adalah bentuk yang sangat umum dari regulasi di eukariot dan paling penting pada jalur *signal transduction* (pemindahan isyarat). Jalur *signal transduction* merupakan jalur yang menggunakan *signal "hormon"*. **Insulin, glucagon, dan epinephrine adalah hormon yang mengatur metabolisme glikogen pada mamalia.** Insulin merupakan protein yang terdiri dari 51-residu asam amino disintesis oleh sel β *pancreas* dan disekresi jika konsentrasi glukosa darah naik. Insulin menaikkan kecepatan transport glukosa memasuki otot dan jaringan adiposa melalui transporter glukosa GLUT4. Insulin juga menstimulasi sintesis glikogen pada liver. *Glucagon*, suatu hormon peptida yang mengandung 29 residu asam amino disekresi oleh sel α pankreas dan merespon konsentrasi glukosa darah yang rendah. *Glucagon* mengembalikan konsentrasi glukosa darah sampai ke level seimbang dengan mendegradasi glikogen. *Epinephrine* (adrenalin) merespon disaat sel dalam keadaan stress. Keadaan stress memerlukan glukosa lebih banyak. Dengan demikian, ketiga hormon ini mempengaruhi metabolisme glikogen. Bagaimana hormon *glucagon*, *epinephrine* memicu degradasi glikogen? Perhatikanlah Gambar 72.

1. Molekul signal *epinephrine* dan *glucagon* berikatan dengan reseptor spesifik *seven-transmembrane (7TM)* pada membran plasma dari sel target. *Epinephrine* mengikat reseptor β -adrenergic di otot dimana *glucagon* berikatan dengan reseptor *glucagon* di liver. Pengikatan ini mengaktifkan protein G_s (reseptor pertama) menghasilkan GTP.

- GTP mengikat subunit dari protein transmembran teraktifkan *Gs adenylate cyclase*. Enzim ini mengkatalisis pembentukan messenger kedua *cyclic AMP* dari ATP
- Cyclic AMP* mengaktifkan protein kinase A.
- Protein kinase A memfosforilasi *phosphorylase kinase*, kemudian mengaktifkan *glycogen phosphorylase* dan secara tidak langsung menginaktifkan *glycogen synthase*.



Gambar 72. Regulasi Cascade untuk Degradasi Glikogen (Berg et al., 2006: 608)

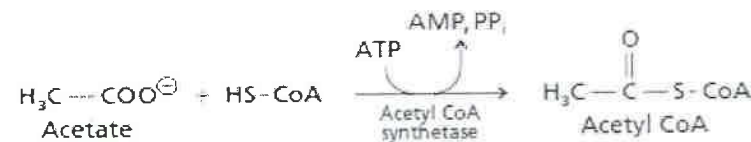
P. Jalur Lain Metabolisme Karbohidrat

Jalur *glyoxylate* (*glyoxylate pathway*)

Nama jalur ini disesuaikan dengan nama molekul dua-karbon *glyoxylate*, suatu intermediet esensial pada jalur ini. Jalur *glyoxylate* adalah rute *bypass* dua reaksi pada siklus TCA, yaitu: reaksi pertama

adalah enam-karbon *tricarboxylic acid* (*isocitrate*) diurai menjadi molekul dua-karbon (*glyoxylate*) dan empat-karbon *dicarboxylic acid* (*succinate*). Reaksi ini dikatalisis oleh *isocitrate lyase*. Reaksi ke dua, molekul dua-karbon *glyoxylate* berkombinasi dengan molekul dua-karbon *acetyl-CoA* membentuk senyawa empat-karbon *dicarboxylic acid* (*malate*) yang dikatalisis oleh *malate synthase* (Gambar 73).

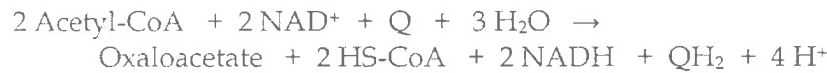
Jalur *glyoxylate* pertamakali ditemukan pada bakteri, selanjutnya ditemukan pada tumbuh-tumbuhan, kemudian pada fungi, protoplast dan beberapa binatang. Jalur ini sering dinamakan pengalihan *glyoxylate* (*glyoxylate shunt*), *glyoxylate bypass*, atau siklus *glyoxylate*. Jalur *glyoxylate* menyediakan alternatif anabolik metabolisme *acetyl-CoA* yang mengarah ke pembentukan glukosa dari *acetyl-CoA* melalui senyawa empat-karbon. Sel yang mengandung enzim jalur *glyoxylate* dapat mensintesis semua kebutuhan karbohidrat-nya dari prekursor *acetyl-CoA*. Sebagai contoh adalah ragi dapat tumbuh pada etanol karena sel ragi dapat mengoksidasi etanol membentuk *acetyl-CoA* yang dapat dimetabolisme melalui jalur *glyoxylate* membentuk *malate*. Hal serupa juga ditemui pada kebanyakan bakteri menggunakan jalur *glyoxylate* untuk tumbuh pada asetat yang dapat diubah ke *acetyl-CoA* pada reaksi yang dikatalisis oleh *acetyl-CoA synthetase*.



Jalur *glyoxylate* adalah jalur metabolik fundamental pada bakteri, protoplast, fungi dan tumbuhan. Jalur ini khususnya aktif pada biji tumbuhan berminyak. Pada tumbuhan ini, minyak yang tersimpan pada biji dikonversi ke karbohidrat yang menyediakan bahan bakar selama perkecambahan. Kontrasnya, gen untuk dua enzim jalur ini terdapat pada kebanyakan binatang, tetapi jalur ini tidak aktif digunakan. Sebagai akibatnya, *acetyl-CoA* manusia bukan sebagai prekursor untuk pembentukan *pyruvate* atau *oxaloacetate*. Oleh karena itu, *acetyl-CoA* bukan sebagai sumber karbon untuk produksi

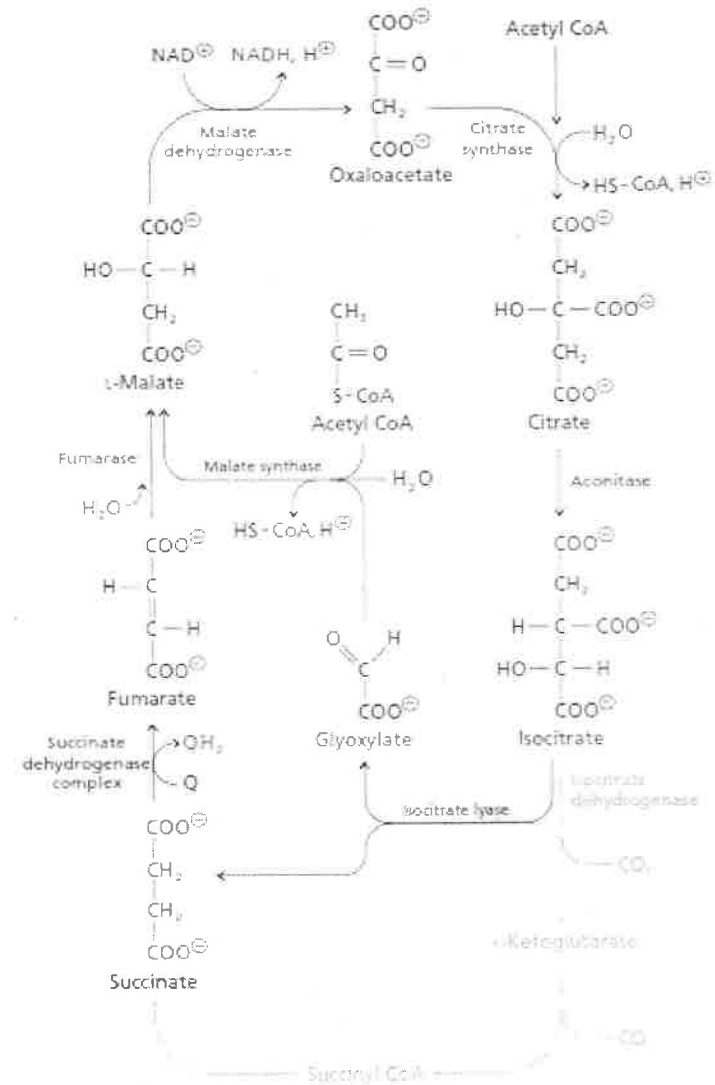
glukosa. Karbon dari *acetyl-CoA* diubah ke *oxaloacetate* pada siklus TCA, karbon lainnya dilepaskan sebagai CO_2 .

Jalur *glyoxylate* dapat dianggap sebagai sebuah "pengalihan" siklus TCA (Gambar 73). Dua reaksi merupakan "reaksi bypass". Tidak ada atom karbon dari gugus *acetyl* pada *acetyl-CoA* dilepaskan sebagai CO_2 selama proses pada jalur *glyoxylate*. Pembentukan molekul empat-karbon (*oxaloacetate*) dari molekul dua-karbon *acetyl-CoA* menyediakan prekursor yang dapat diubah ke glukosa melalui jalur glukoneogenesis. Suksinat dioksidasi ke malat dan *oxaloacetate* pada siklus TCA untuk memelihara jumlah intermediet siklus TCA. Anda dapat berfikir bahwa jalur *glyoxylate* merupakan bagian dari siklus TCA. Dua molekul *acetyl-CoA* dapat diubah ke oxaloasetat menurut reaksi berikut :



Pada eukariot, jalur *glyoxylate* berlangsung membutuhkan transfer metabolit antara mitokondria (lokasi enzim-enzim siklus TCA) dan sitosol (ditemukan *isocitrate lyase*, *malate synthase*). Dengan demikian, jalur *glyoxylate* sesungguhnya lebih kompleks dari pada yang dimuat pada Gambar 73. Pada tumbuhan, enzim-enzim jalur *glyoxylate* terikat pada membran organel yang dinamakan *glyoxysome*.

Pada bakteri, jalur *glyoxylate* sering digunakan untuk melengkapi metabolit siklus TCA yang dialihkan masuk ke sejumlah jalur biosintesis. Karena semua reaksi bertempat di sitosol bakteri, adalah penting untuk meregulasi aliran metabolit tersebut. Enzim kunci regulasi jalur *glyoxylate* dan siklus TCA adalah *isocitrate dehydrogenase*. Aktivitas enzim ini diatur melalui modifikasi kovalen oleh fosforilasi. Dengan demikian, jika konsentrasi intermediet glikolitik dan siklus TCA dalam *E.coli* tinggi, *isocitrate dehydrogenase* aktif. Dengan kata lain, *isocitrate* dikonversi ke *α-ketoglutarat* pada siklus TCA. Ketika *isocitrate dehydrogenase* difosforilasi (tidak aktif) maka *isocitrate* dialihkan ke jalur *glyoxylate* membentuk *glyoxylate* dan *succinate* dengan katalis *isocitrate lyase*.



Gambar 73. Jalur *Glyoxylate*
(Moran et al., 2012:411)

Jalur pentosa fosfat (*pentose phosphate pathway*)

Jalur pentosa fosfat merupakan jalur alternatif oksidasi glukosa. Jalur ini menyediakan sel energi dalam bentuk energi pereduksi NADPH.

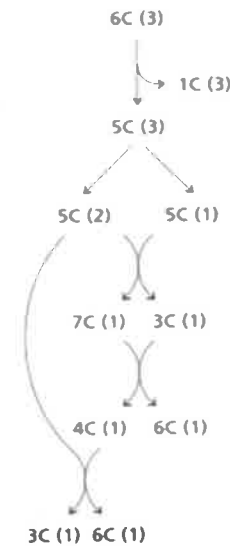
NADPH adalah zat pereduksi yang dibutuhkan untuk banyak jalur biosintesis. Jalur pentosa fosfat adalah jalur yang paling aktif pada jaringan yang melibatkan biosintesis kolesterol dan asam lemak. Proses ini membutuhkan NADPH yang melimpah. Dengan demikian liver, tempat sintesis kolesterol dan tempat sebagian besar biosintesis asam lemak dan jaringan adiposa (fat) dimana sintesis aktif asam lemak juga terjadi memiliki jalur pentosa fosfat yang aktif. Selain itu, beberapa metabolit pada jalur pentosa fosfat adalah prekursor asam amino *phenialanine*, *tyrosine* dan *tryptophan*. Dengan demikian, reaksi-reaksi pada jalur ini adalah penting.

Pada banyak jaringan binatang, hasil katabolik utama *glucose-6-phosphate* pada jalur glikolisis adalah *pyruvate* yang kemudian dioksidasi selanjutnya pada siklus TCA untuk menghasilkan energi. *Glucose-6-phosphate* mempunyai jalur katabolik lain selain jalur glikolisis untuk menghasilkan produk khusus yang diperlukan sel. Pada bagian penting dari beberapa jaringan, *glucose-6-phosphate* dioksidasi ke *pentose phosphate* melalui **jalur pentose phosphate**. Jalur ini dinamakan juga **jalur phosphogluconate** atau **jalur hexose monophosphate**. Pada jalur ini, NADP⁺ merupakan penerima elektron menghasilkan NADPH. Pada pembelahan sel yang cepat seperti pada sumsum tulang, kulit, mukosa usus halus, dan tumor menggunakan *ribose 5-phosphate* untuk membuat RNA, DNA dan koenzim seperti ATP, NADH, FADH₂ dan *coenzyme A*. Jalur pentosa fosfat dan jalur glikolisis dihubungkan oleh *transketolase* dan *transaldolase*.

Jalur pentosa fosfat merupakan jalur yang mensintesis tiga pentosa fosfat yaitu *ribulose-5-phosphate*, *ribose-5-phosphate* dan *xylulose-5-phosphate*. *Ribose-5-phosphate* diperlukan untuk sintesis RNA dan DNA. Jalur lengkap pentosa fosfat mempunyai dua tahap yaitu **tahap oksidatif** dan **tahap nonoksidatif**. Pada tahap oksidatif, jalur ini dihasilkan gula fosfat lima-karbon (*ribulose 5 phosphate*) dengan menghasilkan NADPH. Pada tahap non-oksidatif dihasilkan intermediet glikolitik yaitu *glyceraldehyde-3-phosphate* dan *fructose-6-phosphate*. Jika sel membutuhkan NADPH dan nukleotida, maka semua *ribulose-5-phosphate* diisomerisasi ke *ribose-5-phosphate* dan jalur ini dikomplitkan pada tahap ini. Pada beberapa kasus NADPH

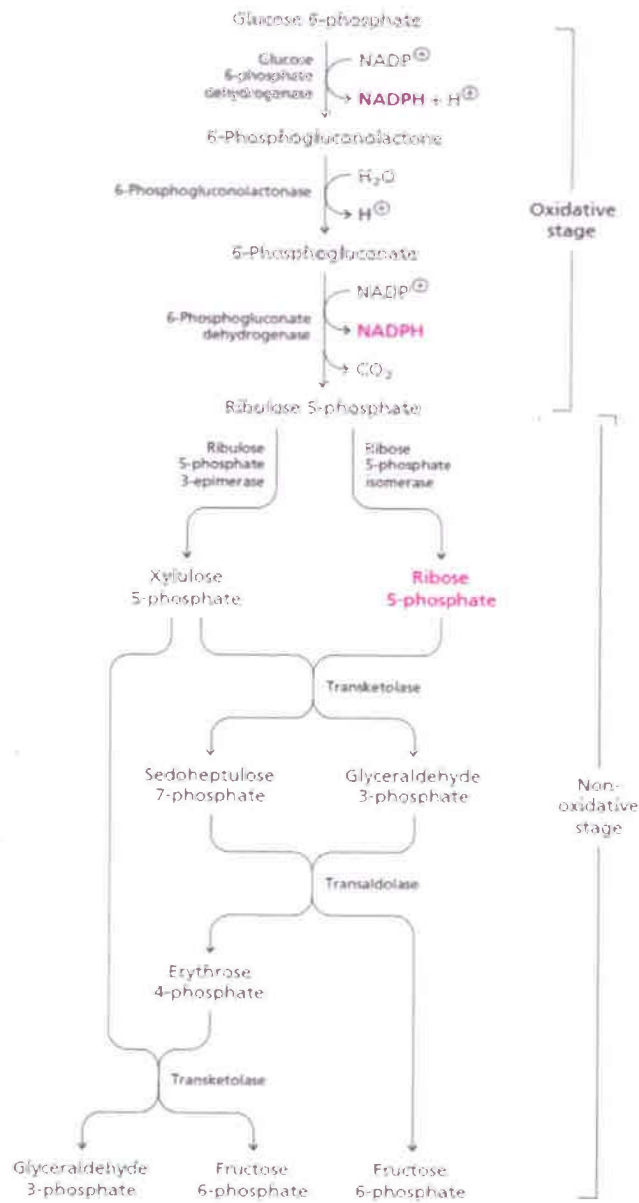
lebih diperlukan dibandingkan *ribose 5-phosphate* dan paling banyak *pentose phosphate* di ubah ke intermediet jalur glukoneogenesis.

Skema pemotongan rangka karbon pada jalur pentosa fosfat dimuat pada Gambar 74. Pada tahap oksidatif tiga molekul dari senyawa enam-karbon dikonversi ke tiga molekul gula lima-karbon (*ribulose-5-phosphate*) dengan melepaskan tiga molekul CO₂. Pada tahap non-oksidatif, tiga molekul gula lima-karbon diinterkonversi untuk menghasilkan dua molekul gula enam-karbon (*fructose-6-phosphate*) dan satu molekul senyawa 3-karbon (*glyceraldehyde-3-phosphate*).



Gambar 74. Skema Pemotongan Rangka Karbon pada Jalur Pentosa Fosfat (Moran et al., 2012:365)

Jalur pentosa fosfat merupakan jalur yang mensintesis tiga pentosa fosfat yaitu *ribulose-5-phosphate*, *ribose-5-phosphate* dan *xylulose-5-phosphate*. *Ribose-5-phosphate* diperlukan untuk sintesis RNA dan DNA. Jalur lengkap pentosa mempunyai dua tahap yaitu **tahap oksidatif** dan **tahap non-oksidatif** (Gambar 75).



Gambar 75. Jalur Pentosa Fosfat
(Moran et al., 2012:365)

Pada tahap oksidatif dari jalur ini dihasilkan gula fosfat lima-karbon (*ribulose-5-phosphate*) dan NADPH. Pada tahap non-oksidatif dihasilkan intermediet glikolitik yaitu *glyceraldehyd-3-phosphate* dan *fructose-6-phosphate*. Jika sel membutuhkan NADPH dan nukleotida, maka semua *ribulose-5-phosphate* diisomerisasi ke *ribose-5-phosphate* dan jalur ini dikompletkan pada tahap ini. Pada beberapa kasus lebih diperlukan NADPH dibandingkan *ribose-5-phosphate* dan paling banyak *pentose phosphate* diubah ke intermediet jalur glikolisis dan jalur glukoneogenesis.

Tahap Oksidatif

Tiga reaksi pada tahap oksidatif pada jalur pentosa fosfat diperlihatkan pada Gambar 75. Reaksi pertama dikatalisis oleh *glucose-6-phosphate dehydrogenase* (G6PDH) yang merupakan oksidasi *glucose-6-phosphate* ke *6-phosphogluconolactone*. Reaksi ini merupakan sisi regulasi utama untuk keseluruhan jalur pentosa fosfat. *Glucose-6-phosphate dehydrogenase* merupakan enzim allosterik yang diinhibisi oleh NADPH (*feedback inhibition*). Gambaran regulasi sederhana ini melindungi produksi NADPH pada jalur *pentose phosphate* oleh NADPH sendiri.

Enzim berikutnya pada tahap oksidatif adalah *6-phosphogluconolactonase* yang mengkatalisis hidrolisis *6-phosphogluconolactone* ke gula asam *6-phosphogluconate*. Akhirnya *6-phosphogluconate dehydrogenase* mengkatalisis dekarboksilasi oksidatif dari *6-phosphogluconate*. Reaksi ini menghasilkan molekul NADPH yang kedua, *ribulose 5-phosphate* dan CO_2 . Pada langkah oksidatif gula 6-karbon dioksidasi ke gula lima-karbon dan CO_2 , dua molekul NADP^+ direduksi ke dua molekul NADPH.

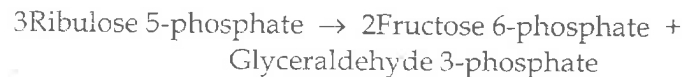


Tahap Non-oksidatif

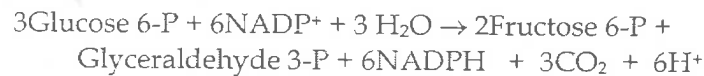
Tahap non-oksidatif pada jalur pentosa fosfat menyediakan gula lima-karbon untuk biosintesis dan mengantarkan gula fosfat masuk ke jalur glikolisis atau glukoneogenesis. *Ribulose-5-phosphate* mempunyai dua jalur : *epimerase* dapat mengkatalisis pembentukan

xylulose-5-phosphate atau isomerase dapat mengkatalisis pembentukan *ribose-5-phosphate*. *Ribose-5-phosphate* adalah prekursor sintesis *ribose* atau *deoxyribose* yang merupakan bagian dari nukleotida. Langkah sisa dari jalur mengkonversi gula lima-karbon ke intermediet glikolitik. Pembelahan sel yang cepat yang membutuhkan *ribose-5-phosphate* (sebagai prekursor ribonukleotida dan deoksiribonukleotida) dan NADPH (untuk reduksi ribonukleotida ke deoksiribonukleotida) pada umumnya mempunyai aktivitas jalur pentosa fosfat yang tinggi.

Pada tahap non-oksidatif jalur pentosa fosfat, pentosa fosfat yang terbentuk pada tahap oksidatif menyediakan rute ke glukoneogenesis atau glukolisis. Pada tahap ini, *ribulose-5-phosphate* diubah ke intermediet *fructose-6-phosphate* dan *glyceraldehyde-3-phosphate*. Jika semua pentosa fosfat diubah ke intermediet ini, jumlah reaksi non-oksidatif akan mengkonversi tiga molekul pentosa ke dua molekul *hexose* ditambah molekul *triose*. *Fructose-6-phosphate* dan *glyceraldehyde-3-phosphate* dapat dimetabolisme selanjutnya oleh jalur glikolisis atau glukoneogenesis.



Jalur keseluruhan pentosa fosfat memperlihatkan bahwa pada tahap non-oksidatif dua molekul *xylulose-5-phosphate* dan satu molekul *ribose-5-phosphate* dirubah ke produk umum satu molekul tiga karbon (*glyceraldehyde-3-phosphate*) dan dua molekul enam-karbon (*fructose-6-phosphate*). Dengan demikian, produk yang mengandung karbon dari tiga molekul glukosa melalui jalur pentosa fosfat adalah *glyceraldehyde-3-phosphate*, *fructose-6-phosphate* dan CO_2 . Persamaan reaksi keseluruhan jalur pentosa fosfat adalah



Q. Penyakit Genetik Metabolisme Karbohidrat

Metabolisme glikogen merupakan metabolisme dengan sistem pengontrolan yang baik. Metabolisme ini secara genetik ditentukan oleh enzim dan hormon. Defisiensi enzim atau hormon yang terlibat pada metabolisme glikogen dapat mengakibatkan penyakit genetik. Banyak penyakit yang telah dikarakterisasi sebagai penyakit genetik (penyakit menurun) yang diakibatkan oleh defisiensi enzim yang terlibat pada metabolisme glikogen. Penyakit-penyakit genetik yang berkaitan dengan metabolisme glikogen akibat defisiensi enzim pada manusia dimuat pada Tabel 10. Carl dan Gerty Cori adalah pionir metabolisme glikogen dan penyakitnya.

Tipe I: Defisiensi *Glucose-6-Phosphatase* (Penyakit von Gierke's)

G6Pase mengkatalisis langkah akhir pelepasan glukosa masuk ke aliran darah oleh liver. Kekurangan enzim ini mengakibatkan kenaikan [G6P] intraseluler, yang mengarah ke akumulasi glikogen struktur normal yang besar di dalam hati dan ginjal (dapat dikatakan G6P menghambat *glycogen phosphorylase* dan mengaktifkan *glycogen synthase*) dan ketidakmampuan menaikkan konsentrasi glukosa darah yang direspon oleh *glucagon* atau *epinephrine*. Kesulitan yang mirip terjadi ketika ada cacat pada protein yang mentransfer glukosa melewati membran plasma sel hati atau protein yang mentransfer glukosa, G6P atau Pi melewati membran *endoplasmic reticulum*.

Gejala penyakit Tipe I penyimpanan glikogen termasuk pembesaran liver, *hypoglycemia* parah (gula darah rendah) setelah beberapa jam puasa dan kegagalan umum perkembangan. Pengobatan penyakit ini adalah menghambat pengambilan glukosa oleh hati untuk menaikkan [glukosa] darah. Transplantasi liver telah sukses dilakukan pada beberapa pasien. Terapi gen telah dikembangkan untuk membetulkan penyakit tipe I penyimpan glikogen. Defisiensi G6Pase pada tikus telah diobati dengan vektor virus yang mengandung gen G6Pase tikus.

Tipe II: Defisiensi *α-1,4-Glucosidase* (Penyakit Pompe's)

Penyakit Pompe's merupakan penyakit penyimpanan glikogen yang paling menghancurkan. Sebagai akibatnya adalah akumulasi gliko-

Tabel 10. Penyakit Turunan Penyimpanan Glikogen pada Manusia

Tipe (nama)	Enzim yang cacat	Organ utama yang dipengaruhi	Gejala
Tipe 0	<i>Glycogen synthase</i>	Liver	Glukosa darah rendah, tinggi keton bodi, kematian awal
Tipe Ia (von Gierke's)	<i>Glucose 6-phosphatase</i>	Liver	Liver membesar, kegagalan ginjal
Tipe Ib	<i>Microsomal glukose 6-phosphate translocase</i>	Liver	Seperti Ia; juga sangat mudah terserang penyakit, terinfeksi bakteri
Tipe Ic	<i>Microsomal Pi transporter</i>	Liver	Seperti Ia
Tipe II (Pompe's)	<i>Lysosomal glucosidase</i>	Rangka dan otot jantung	Bentuk kekanak-kanakan: meninggal umur 2 tahun, otor cacat
Tipe IIIa (Cori's atau Forbes's)	Enzim pendegradasi cabang	Liver, Rangka dan otot jantung	Liver membesar
Tipe IIIb	Enzim pendegrasi cabang liver (enzim otot normal)	Liver	Liver membesar
Tipe IV (Andersen's)	Enzim branching	Liver, otot rangka	Liver membesar dan limpa kecil, myoglobin di urin
Tipe V (McArdle's)	<i>Phosphorylase otot</i>	Otot rangka	Kejang dan nyeri, myoglobin di urin
Tipe VI (Hers's)	<i>Phosphorylase liver</i>	Liver	Liver membesar
Tipe VII (Tarui's)	PFK-1 otot	Otot, eritrosit	Seperti tipe V, anemia hemolitik
Tipe Vib, VIII atau IX	<i>Phosphorylase kinase</i>	Liver, leukosit dan otot	Liver membesar
Tipe XI (Fanconi-Bickel)	Glucose transporter (GLUT2)	Liver	Kegagalan untuk tumbuh, liver membesar, disfungsi ginjal

(Nelson *et al.*, 2013:599)

gen struktur normal yang besar di dalam *lysosome* sel dan menyebabkan kematian oleh kegagalan *cardiorespiratory*. Biasanya hal ini terjadi sebelum umur 1 tahun. Enzim *α-1,4-Glucosidase* berfungsi mengkatalisis reaksi hidrolisis disakarida maltosa dan oligosakarida linear di *lysosome*.

Tipe III: Defisiensi *amylo-1,6-glucosidase* (Penyakit Cori's)

Pada penyakit ini, struktur glikogen abnormal mengandung akumulasi untai luar sangat pendek pada liver dan otot karena tidak adanya enzim penghilang cabang (*debranching enzyme*), akibatnya glikogen tidak dapat didegradasi selanjutnya. Kadar gula yang rendah, pada kasus ini sebagai akibat penurunan efisiensi degradasi glikogen. Pengobatan penyakit ini adalah sering diet tinggi protein dalam merespon glukosa darah yang rendah di liver melalui glukoneogenesis, mensintesis glukosa dari asam amino. Untuk alasan yang belum diketahui penyakit Cori's sering hilang pada masa pubertas.

Tipe IV : Defisiensi *amylo-(1,4→1,6)-transglycosylase* (Penyakit Andersen's)

Penyakit Tipe V merupakan penyakit penyimpan glikogen yang paling parah. Korban jarang yang bisa mencapai umur 5 tahun karena penyimpangan fungsi liver. Konsentrasi glikogen pada liver tidak naik dan struktur glikogen tidak normal. Glikogen ini mempunyai rantai tidak bercabang yang sangat panjang sebagai akibat tidak adanya enzim glikogen branching. Penurunan cabang yang besar dapat menurunkan kelarutan glikogen.

Tipe V: Defisiensi glikogen *phosphorylase* otot (Penyakit McArdle's)

Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya bahwa sintesis glikogen dan degradasi glikogen terjadi pada jalur yang berbeda. Pada kebanyakan gejala penyakit Tipe V yang paling parah adalah kram otot yang menyakitkan pada latihan yang menguras tenaga. Situasi ini sebagai akibat ketidakmampuan sistem degradasi glikogen untuk menyediakan bahan bakar yang cukup pada jalur glikolisis

untuk menghasilkan ATP. Pada penyakit McArdle's terjadi penyimpanan level ADP dibanding individu normal.

Type VI: Defisiensi *glycogen phosphorylase liver* (Penyakit Her's)

Pasien dengan defisiensi *phosphorylase liver* mempunyai gejala yang mirip dengan penyakit Tipe I penyimpanan glikogen. Hipoglisemia pada kasus ini sebagai akibat ketidakmampuan *glycogen phosphorylase* merespon keperluan produksi glukosa oleh liver.

Type VII: Defisiensi *phosphofructokinase otot* (Penyakit Tarui's)

Akibat defisiensi enzim glikolitik PFK-1 dalam otot adalah keabnormalan penumpukan metabolit glikolitik G6P dan F6P. Konsentrasi yang tinggi dari G6P menaikkan aktivitas *glycogen synthase* (G6P mengaktifkan *glycogen synthase* dan menginaktifkan *glycogen phosphorylase*) dan *UDP-glucose pyrophosphorylase* (G6P dalam kesetimbangan dengan G1P, substrat enzim) agar glikogen terakumulasi di otot. Gejala lainnya adalah mirip penyakit Tipe V penyimpanan glikogen. Defisiensi *phosphorylase* otot karena defisiensi PFK mencegah glikolisis untuk menghasilkan ATP pada kontraksi otot.

Type VIII : Defisiensi *phosphorylase kinase liver* (Defisiensi *X-linked phosphorylase kinase*)

Beberapa individu dengan gejala tipe VI penyakit penyimpanan glikogen mempunyai struktur normal *phosphorylase liver*. Bagaimanapun juga individu tersebut mempunyai *phosphorylase kinase* yang cacat, yang mengakibatkan ketidakmampuan mengkonversi *phosphorylase b* ke *phosphorylase a*.

Type IX : Defisiensi *Phosphorylase Kinase*

Defisiensi *phosphorylase kinase*, ketika autosomal resesif disebabkan oleh mutasi pada satu dari gen yang mengkode subunit β , γ , atau δ dari *phosphorylase kinase*. Karena organ yang berbeda mengandung isoenzim *phosphorylase kinase* yang berbeda, gejala penyakit Tipe IX bervariasi tergantung organ yang dipengaruhi.

Type 0: Defisiensi *glycogen synthase liver*

Aktivitas *glycogen synthase liver* ekstrim rendah pada individu dengan penyakit ini dan mereka terbukti *hyperglycemia* setelah makan dan *hypoglycemia* pada waktu lainnya. Akar penyebab penyakit Tipe 0 penyimpanan glikogen masih dalam penyelidikan. Kebanyakan penyakit penyimpanan glikogen mempunyai gejala klinik yang mirip. Oleh sebab itu, diagnosa yang paling baik adalah melalui pengujian genetik. Penderita Tipe 0 mudah sekali lelah dan mempunyai perkembangan jantung yang abnormal.

R. Kesimpulan

Tahap utama oksidasi glukosa

Oksidasi sempurna glukosa menghasilkan karbondioksida dan air serta disertai sejumlah energi. Oksidasi sempurna glukosa sesungguhnya merupakan reaksi total dari sederetan tiga tahap utama oksidasi glukosa yaitu (1) Tahap pertama, molekul bahan organik seperti glukosa, asam lemak dan sebagian asam amino dioksidasi menghasilkan *acetyl-CoA*; (2) Tahap kedua, gugus *acetyl* pada *acetyl-CoA* memasuki siklus Krebs untuk dioksidasi selanjutnya. Pada siklus ini, gugus *acetyl* dikonversi melalui sederetan reaksi enzimatik sehingga selama proses reaksi dihasilkan CO_2 , elektron dan molekul-molekul berenergi tinggi; (3). Tahap ketiga, elektron yang dihasilkan pada siklus Krebs dipindahkan melalui molekul pembawa elektron pada *rantai respirasi* menuju molekul O_2 dan tereduksi menjadi H_2O . Selama proses *transport elektron* dibentuk ATP di dalam proses yang disebut *fosforilasi oksidatif*.

Jalur glikolisis dan glukoneogenesis

Glikolisis merupakan lintas pusat katabolisme glukosa pada hampir semua organisme. Jalur glikolisis merupakan sederetan reaksi (10 reaksi enzimatik) yang mengubah glukosa ke *pyruvate* pada waktu bersamaan menghasilkan energi dalam bentuk ATP dan NADH. Sintesis glukosa dari prekursor nonkarbohidrat merupakan jalur glukoneogenesis. Prekursor penting sintesis glukosa pada binatang adalah senyawa tiga karbon seperti laktat, *pyruvate*, gliserol dan semua asam amino kecuali leusin dan lisin. Asam amino dan gliserol umumnya digunakan pada kondisi sangat lapar.

Metabolisme heksosa selain glukosa

Fruktosa

Terdapat dua jalur metabolisme fruktosa. Satu jalur terjadi di liver dan jalur yang lain terjadi di otot. Metabolisme fruktosa di otot sedikit berbeda dengan glukosa. *Hexokinase* yang mengubah glukosa ke *glucose-6-phosphate* juga memfosforilasi fruktosa menghasilkan *fructose-6-phosphate*. *Fructose-6-phosphate* memasuki jalur glikolisis.

Liver mengandung sedikit *hexokinase*, tetapi mengandung glukokinase yang memfosforilasi hanya glukosa. Pada kenyataan liver mengubah fruktosa ke intermediet glikolitik melalui jalur yang melibatkan tujuh enzim yaitu *fructokinase*, *fructose-1-phosphatase*, *aldolase*, *glyceraldehyde kinase*, *alcohol dehydrogenase*, *glycerol kinase*, *glycerol phosphate dehydrogenase* dan *triose phosphate isomerase*.

Galaktosa

Enzim glikolisis tidak mengenal struktur galaktosa. Oleh sebab itu, reaksi epimerisasi dilibatkan sebelum galaktosa memasuki jalur glikolisis. Jalur keseluruhan konversi galaktosa ke intermediet glikolitik dikenal sebagai **Jalur Leloir**. Jalur ini melibatkan empat enzim yang berperan untuk konversi galaktosa ke intermediet glikolitik yaitu *galactokinase*, *galactose-1-phosphateuridylyl transferase*, *UDP-galactose-4-epimerase* dan *phosphoglucomutase*

Mannosa

Mannosa adalah komponen umum glikoprotein. Mannosa memasuki jalur glikolitik setelah Mannosa dikonversi menjadi *fructose-6-phosphate* melalui dua reaksi yang dikatalisis oleh *hexokinase* dan *phosphomanose isomerase*

Siklus TCA

Siklus TCA merupakan *amphibolic* yaitu siklus intermediet untuk katabolisme dan anabolisme. Metabolit siklus TCA yang merupakan hasil katabolisme glukosa, asam lemak dan asam amino dan dapat digunakan sebagai zat pemula untuk mensintesis berbagai macam produk metabolisme seperti glukosa, asam lemak dan asam amino, untuk selanjutnya menjadi glikogen, lipid dan protein. Siklus TCA

merupakan jalur metabolik universal dari metabolisme karbohidrat, lipid dan protein.

Siklus TCA merupakan deretan delapan reaksi yang mengoksidasi gugus *acetyl* dari *acetyl-CoA* dengan melepaskan molekul CO_2 dan menyimpan energi dalam bentuk GTP, FADH_2 dan NADH. Persamaan reaksi keseluruhan siklus TCA adalah sebagai berikut:



Fosforilasi oksidatif

Semua tahap oksidatif pada degradasi karbohidrat, lemak dan asam amino di dalam sel aerobik menyatu pada tahap fosforilasi oksidatif yang merupakan tahap final respirasi sel. Proses mengalirnya elektron dari NADH ke molekul O_2 dikatalisis oleh empat enzim kompleks respirasi yaitu **Complex I: NADH reductase**, **Complex II: Succinate dehydrogenase**, **Complex III: Cytochrome reductase**, dan **Complex IV: Cytochrome oxidase**, sedangkan dari FADH_2 ke molekul O_2 dikatalisis oleh *Complex II*, *Complex III* dan *Complex IV*. Proses pengangkutan elektron ini dirangkaikan dengan fosforilasi oksidatif (*oxidative phosphorylation*) yaitu pembentukan ATP dari ADP dan P_i .

Glikogenolisis

Langkah-langkah glikogenolisis: (1) Enzim *glycogen phosphorylase* mengkatalisis degradasi glikogen pada ujung pereduksi polimer glikogen. Reaksi melibatkan pemindahan satu unit glukosa dari glikogen oleh sebuah gugus fosfat. *Glucose-1-phosphate* sebagai hasil fosforolisis, dihasilkan tanpa menggunakan ATP sebagai donor gugus *phosphoryl*; (2) Glikogen mengandung banyak cabang, *a(1→6) glycosidic*. Cabang ini harus dipindahkan untuk menyempurnakan degradasi glikogen. Enzim *a(1→6) glycosidase* yang dinamakan juga *debranching enzyme* menghidrolisis ikatan *a(1→6) glycosidic* pada titik cabang menghasilkan satu molekul glukosa. Molekul glukosa ini dapat difosforilasi dan dimanfaatkan pada jalur glikolisis atau glukosa memasuki aliran darah untuk digunakan di tempat lain; (3). *Glucose-1-phosphate* dikonversi ke *glucose-6-phosphate* oleh *phospho-*

glucomutase. *Glucose-6-phosphate* memasuki jalur glikolisis. Sebagai alternatif, pada hati dan ginjal *glucose-1-phosphate* didephosphorilasi untuk ditransport memasuki aliran darah.

Glikogenesis

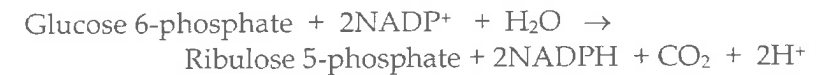
Langkah-langkah glikogenesis: (1). Glukosa difosforilasi yang dikatalisis oleh *glucokinase*. ATP sebagai donor *phosphoryl* dan terbentuk *glucose-6-phosphate*; (2). *Glucose-6-phosphate* diisomerasi ke *glucose-1-phosphate* yang dikatalisis oleh *phosphoglucomutase*; (3). *Glucose-1-phosphate* sekarang diaktifkan dengan cara bereaksi dengan *uridine triphosphate* (UTP) sebelum ditambahkan pada rantai glikogen yang sedang bertumbuh. Reaksi ini dikatalisis oleh enzim *pyrophosphorylase*. Gugus phosphoril pada C-1 glukosa berikatan dengan gugus *a-phosphoril* dari UTP menghasilkan *UDP-glucose* dan gugus *pyrophosphate* (PPi); (4). *UDP-glucose* sekarang dapat digunakan untuk memperpanjang rantai glikogen. Enzim *glycogen synthase* memutus ikatan *phosphoester* pada *UDP-glucose* dan membentuk ikatan *a-(1→4)* glikosidik antara glukosa dan rantai glikogen yang sedang tumbuh. UDP dilepaskan pada proses ini; (5). Akhirnya dibentuk ikatan *a-(1→6)* glikosidik untuk membentuk cabang. Cabang ini adalah penting untuk pemanfaatan *glycogen* yang tepat. *Branching enzymes* memindahkan bagian linear ikatan *a-(1→4)* glikosidik glikogen dan diikatkan pada posisi ikatan *a-(1→6)* glikosidik.

Jalur *glyoxylate* (*glyoxylate pathway*)

Jalur ini dinamakan sesuai nama molekul dua-karbon *glyoxylate*, suatu intermediet esensial pada jalur ini. Hanya ada dua reaksi "bypass" yaitu, reaksi pertama adalah enam-karbon *tricarboxylic acid* (*isocitrate*) diurai menjadi molekul dua-karbon (*glyoxylate*) dan empat-karbon *dicarboxylic acid* (*succinate*). Reaksi ini dikatalisis oleh *isocitrate lyase*. Reaksi ke dua, molekul dua-karbon *glyoxylate* berkombinasi dengan molekul dua-karbon *acetyl-CoA* membentuk senyawa empat-karbon *dicarboxylic acid* (*malate*) yang dikatalisis oleh *malate synthase*.

Jalur pentosa fosfat

Jalur pentosa fosfat merupakan jalur yang mensintesis tiga pentosa fosfat yaitu *ribulose-5-phosphate*, *ribose-5-phosphate* dan *xylulose-5-phosphate*. *Ribose-5-phosphate* diperlukan untuk sintesis RNA dan DNA. Jalur lengkap pentosa fosfat mempunyai dua tahap yaitu tahap oksidatif dan tahap non-oksidatif. Pada langkah oksidatif gula 6-karbon dioksidasi ke gula lima-karbon dan CO_2 , dua molekul NADP^+ direduksi ke dua molekul NADPH .



Pada tahap non-oksidatif jalur pentosa fosfat, *ribulose-5-phosphate* diubah ke intermediet *fructose-6-phosphate* dan *glyceraldehyde-3-phosphate*. *Fructose-6-phosphate* dan *glyceraldehyde-3-phosphate* dapat dimetabolisme selanjutnya pada jalur glikolisis atau jalur glukoneogenesis.



Penyakit genetik metabolisme karbohidrat

Penyakit-penyakit genetik yang berkaitan dengan metabolisme karbohidrat adalah akibat defisiensi enzim atau hormon. Dikenal beberapa tipe penyakit genetik pada metabolisme glikogen yaitu pompe's, von Gierke's, Cori's atau Forbes's, Andersen's, McArdle's, Her's, Tarui's.

S.Latihan dan Kasus

Latihan

Tahap utama oksidasi glukosa

1. Hitunglah jumlah energi dalam bentuk ATP yang terbentuk pada oksidasi sempurna glukosa!
2. Bandingkanlah jumlah energi yang diperoleh (dihitung dalam bentuk ATP) jika :
 - a. glukosa dioksidasi sempurna menjadi CO_2 dan H_2O
 - b. glukosa ditransformasi menjadi laktat (fermentasi laktat)
 - c. glukosa ditransformasi menjadi etanol (fermentasi alkohol).

3. Apakah kaitan metabolit *acetyl-CoA*, *pyruvate* dengan jalur metabolisme lainnya ?
4. Apakah kaitan metabolit siklus Krebs dengan jalur metabolisme karbohidrat lain ?

Jalur glikolisis dan glukoneogenesis

1. Bandingkanlah biokonversi metabolit-metabolit pada jalur glikolisis dan jalur glukoneogenesis !
2. Bagaimana regulasi metabolit pada jalur glikolisis dan jalur glukoneogenesis ?
3. Jika seseorang beraktivitas dalam keadaan puasa, jalur manakah yang lebih dominan? Mengapa demikian ?

Metabolisme heksosa selain glukosa

1. Jika Anda mengonsumsi susu yang mengandung laktosa, bagaimana metabolisme laktosa tersebut di tubuh Anda ?
2. Jika Anda mengonsumsi larutan sukrosa (gula tebu), bagaimanakah metabolisme sukrosa tersebut di tubuh Anda ?

Siklus Krebs

1. Bagaimanakah peranan siklus TCA di dalam katabolisme dan anabolisme ?
2. Bagaimana metabolit pada siklus TCA diregulasi?

Fosforilasi oksidatif

1. Bagaimana proses transfer elektron dari NADH ke molekul O_2 ?
2. Bagaimana proses transfer elektron dari $FADH_2$ ke molekul O_2 ?
3. Apa yang Anda ketahui tentang hipotesis *chemiosmotic* ?

Glikogenolisis dan glikogenesis

1. Bandingkanlah jalur glikogenolisis dan jalur glikogenesis. Lihatlah persamaan dan perbedaannya
2. Jika seseorang beraktivitas dalam keadaan puasa, jalur manakah yang lebih dominan? Mengapa demikian ?

Jalur *glyoxylate* dan Jalur pentosa fosfat

1. Apakah kaitan jalur *glyoxylate* dengan siklus TCA ?

2. Tunjukkan dua reaksi "bypass" pada jalur *glyoxylate* !
3. Tunjukkan tahap oksidatif dan tahap non-oksidatif jalur pentosa fosfat ?
4. Bagaimana kaitan antara jalur pentosa fosfat dengan jalur glikolisis dan jalur glukoneogenesis ?

Penyakit genetik metabolisme karbohidrat

1. Tulislah penyakit genetika yang berhubungan dengan metabolisme glikogen !
2. Kumpulkanlah ciri-ciri fisik penyakit genetik yang berhubungan dengan metabolisme karbohidrat dan kaitkan dengan metabolisme yang terlibat !

Kasus

1. Pemecahan Glikogen pada Burung yang Bermigrasi

Berbeda dengan kelinci yang larinya pendek, burung yang bermigrasi membutuhkan energi untuk waktu yang lama. Misalnya, flamingo umumnya terbang beberapa ribu mil selama migrasi tahunannya. Otot terbang burung yang bermigrasi memiliki kapasitas oksidatif yang tinggi dan memperoleh ATP yang diperlukan melalui oksidasi *acetyl-CoA* (diperoleh dari lemak) melalui siklus asam sitrat. Bandingkan proses glikolisis otot selama aktivitas intens jangka pendek, seperti pada kelinci yang melarikan diri, dan selama aktivitas yang diperpanjang, seperti pada flamingo yang bermigrasi. Mengapa proses glikolisis di kedua keadaan ini harus berbeda? Jelaskanlah.

2. Pengambilan O_2 berlebih selama Glukoneogenesis

Laktat yang diserap oleh hati diubah menjadi glukosa, dengan memerlukan 6 mol ATP untuk setiap mol glukosa yang diproduksi. Proses ini dalam hati tikus dapat dipantau dengan pemberian laktat [^{14}C] dan mengukur jumlah glukosa [^{14}C] yang dihasilkan. Karena stoikiometri kebutuhan O_2 dan produksi ATP diketahui (sekitar 5 ATP per O_2), kita dapat memperkirakan kebutuhan O_2 berlebih di atas laju normal bila sejumlah laktat

diberikan. Namun, ketika O₂ berlebih yang digunakan dalam sintesis glukosa dari laktat sebenarnya diukur hasilnya selalu lebih tinggi dari yang diperkirakan oleh persamaan stoikiometri yang diketahui. Sarankan penjelasan yang mungkin untuk pengamatan ini.

3. Jalur Atom dalam Glukoneogenesis

Ekstrak hati normal yang mampu melakukan semua reaksi metabolisme hati diinkubasi dalam percobaan terpisah dengan prekursor berlabel ¹⁴C berikut.



Lacak jalur masing-masing prekursor melalui glukoneogenesis. Tunjukkan lokasi ¹⁴C di semua zat antara dan dalam produk, glukosa.

4. Fase *Payoff* Glikolisis pada Otot Rangka

Pada otot rangka yang bekerja dalam kondisi anaerobik, gliseraldehida 3-fosfat diubah menjadi *pyruvate* (fase *payoff* glikolisis) dan *pyruvate* direduksi menjadi laktat. Tulis persamaan biokimia seimbang untuk semua reaksi dalam proses ini, dengan perubahan energi bebas standar untuk setiap reaksi. Kemudian tulislah persamaan keseluruhan untuk fase *payoff* glikolisis (dengan laktat sebagai produk akhir), termasuk perubahan energi bebas standar.

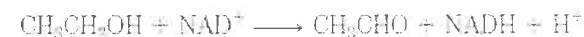
5. Regulasi Kompleks *Pyruvate Dehydrogenase*

Dalam jaringan hewan, laju konversi *Pyruvate* menjadi asetil-KoA diatur oleh rasio kompleks PDH aktif, terfosforilasi menjadi tidak aktif, dan tidak terfosforilasi. Tentukan apa yang terjadi pada laju reaksi ini ketika preparat mitokondria otot kelinci yang mengandung kompleks PDH ditambahkan dengan (a) *Pyruvate*

dehidrogenase kinase, ATP, dan NADH; (b) *Pyruvate dehydrogenase phosphatase* dan Ca²⁺; (c) malonat.

6. Etanol Mempengaruhi Kadar Glukosa Darah

Konsumsi alkohol (etanol), terutama setelah aktivitas berat atau setelah tidak makan selama beberapa jam, menyebabkan kekurangan glukosa dalam darah, suatu kondisi yang dikenal sebagai hipoglikemia. Langkah pertama dalam metabolisme etanol oleh hati adalah oksidasi menjadi asetaldehida, dikatalisis oleh alkohol dehidrogenase hati:



Jelaskan bagaimana reaksi ini menghambat transformasi laktat menjadi *pyruvate*. Mengapa ini menyebabkan hipoglikemia?

7. Peran Vitamin Tiamin

Orang dengan beri-beri, sebuah penyakit yang disebabkan oleh defisiensi tiamin, mengalami peningkatan kadar *Pyruvate* darah dan α -ketoglutarat, terutama setelah mengonsumsi makanan yang kaya glukosa. Bagaimana efek ini berhubungan dengan defisiensi tiamin?

Referensi

- Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L (2012). *Biochemistry* 7th ed. WH Freeman and Company, New York
- Campbell MK., Farrell SO. (2006). *Biochemistry*, 5th ed. USA: Thomson Books/Cole.
- Denniston KJ, Topping JJ, Caret RL. (2008). *General, Organic, and Biochemistry*, 6th ed. New York: McGraw-Hill.
- Madigan MT, Martinko JM, Stahl DA, Clark DP. (2012). *Brock Biology of Microorganisms*, 13th ed. San Francisco: Benjamin Cumming.
- Moran LA, Horton HR, Scringour KG, Perry MD. (2012). *Principle of Biochemistry*, 5th ed. USA: Pearson Education, Inc.
- Nelson DL, Cox MM. (2013). *Lehninger Principles of Biochemistry*. 6th ed, New York: WH Freeman and Company.
- Voet D, Voet JG. (2011). *Biochemistry*. 4th edition .USA: John Wiley & Sons Inc

BAB V FOTOSINTESIS

Pada bab metabolisme karbohidrat telah dijelaskan metabolisme bahan bakar karbohidrat yang merupakan salah satu metabolisme utama bahan bakar, selain metabolisme bahan bakar asam lemak dan asam amino. Molekul karbohidrat didegradasi melalui jalur katabolisme untuk memasuki siklus asam sitrat dan menghasilkan elektron ke rantai respirasi dan telah dijelaskan pula bagaimana aliran elektron ke molekul oksigen yang dikopel dengan sintesis endergonik ATP. Sebaliknya, jalur anabolik menggunakan energi dalam bentuk ATP, NADH atau NADPH untuk mensintesis komponen seluler dari molekul prekursor sederhana. Jalur anabolik umumnya lebih bersifat reduktif dari pada oksidatif. Katabolisme dan anabolisme berlangsung bersamaan dalam keadaan dinamis, sehingga degradasi komponen seluler yang menghasilkan energi diimbangi oleh proses biosintesis, yang menciptakan dan menjaga ketertiban sel hidup yang rumit.

Fotosintesis merupakan pemanenan energi cahaya. Tumbuhan dapat mengubah karbon inorganik CO₂ menjadi senyawa organik. Tumbuhan tidak bergerak, tidak dapat berpindah untuk menemukan suplai air, cahaya atau nutrisi yang cukup. Tumbuhan harus mempunyai metabolisme yang cukup fleksibel untuk memungkinkan beradaptasi ke perubahan lingkungan dimana akarnya tertanam. Tumbuhan mempunyai dinding sel yang tebal yang terbuat dari polimer karbohidrat yang membungkus membran plasma dan merupakan bagian yang berarti dari karbohidrat sel.

Pada buku ini dijelaskan bagaimana biosintesis sukrosa untuk transport gula dan biosintesis pati untuk penyimpanan energi. Metabolisme yang analog dengan sel binatang untuk membuat glikogen. Pada buku ini juga dijelaskan sintesis selulosa dari dinding sel tanaman.

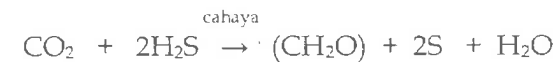
Sintesis karbohidrat pada sel binatang selalu menggunakan prekursor yang mempunyai paling kurang tiga karbon. Sebaliknya tumbuhan dan mikroorganisme fotosintetik dapat mensintesis karbohidrat dari CO₂ dan air, dengan cara mereduksi CO₂ menggunakan ATP dan NADPH yang dihasilkan pada reaksi terang fotosintesis. Tumbuh-tumbuhan dan autotrop lainnya dapat menggunakan CO₂ sebagai sumber satu-satunya atom karbon yang dibutuhkan untuk biosintesis pati, selulosa, lipid, protein dan banyak komponen organik lainnya dari sel tumbuhan. Sebaliknya, heterotrop tidak dapat mensintesis glukosa dari CO₂

Tumbuhan hijau mengandung mesin enzimatik 'kloroplas' yang unik yang mampu mengkonversi CO₂ ke senyawa organik yang sederhana, suatu proses yang dinamakan **asimilasi CO₂**. Proses ini juga dinamakan **fiksasi CO₂** atau **fiksasi karbon**. Istilah ini terkait dengan reaksi spesifik yang mana CO₂ bergabung (fixed) dan membentuk senyawa organik tiga-karbon, *triose phosphate 3-phosphoglycerate*. Produk fotosintesis yang sederhana ini merupakan prekursor (zat awal) dari biomolekul yang lebih kompleks, termasuk sukrosa, polisakarida dan biomolekul lainnya. Semuanya disintesis dengan jalur metabolisme yang mirip dengan yang dimiliki binatang. CO₂ diasimilasi melalui jalur siklis. Jalur ini dipecahkan pada awal tahun 1950-an oleh Melvin Calvin, Andrew Benson dan James A. Bassham dan sering dinamakan **siklus Calvin** atau siklus reduksi karbon fotosintesis.

Metabolisme karbohidrat lebih kompleks pada sel tumbuhan dibandingkan pada sel hewan atau pada mikroorganisme nonfotosintetik. Jalur glikolisis dan glukoneogenesis terjadi pada hewan, tumbuhan, jamur hingga bakteri. Oleh sebab itu, jalur ini dikenal sebagai jalur universal, tetapi tumbuhan mempunyai sederetan reaksi unik untuk mereduksi CO₂ ke *triose phosphate* dan jalur *pentosa phosphate*. Semua reaksi ini harus dikoordinasi dan diregulasi untuk memastikan alokasi karbon yang disukai untuk produksi energi dan sintesis pati dan sukrosa. Enzim kunci diregulasi, seperti reduksi ikatan disulfida oleh aliran elektron dari fotosistem 1 dan fotosistem 2; perubahan pH dan konsentrasi Mg²⁺; regulasi allosterik oleh satu atau lebih metabolik intermediat dan modifikasi kovalen.

A. Hakekat Fotosintesis

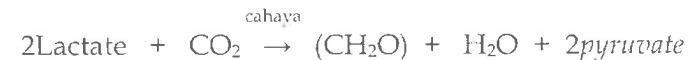
Pada dekade pertama abad kedua puluh ada asumsi umum bahwa penyerapan cahaya oleh pigmen fotosintetik secara langsung mereduksi CO₂ yang pada gilirannya berkombinasi dengan H₂O membentuk karbohidrat. Pada gambaran ini CO₂ adalah sumber O₂ yang dihasilkan. Pada tahun 1931 **Cornelis van Niel** memperlihatkan bahwa bakteri fotosintetik hijau anaerobik menggunakan senyawa inorganik H₂S, dan menghasilkan sulfur.



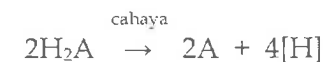
Kemiripan kimia antara H₂S dan H₂O menuntun van Niel untuk mengusulkan **reaksi umum fotosintetik**,



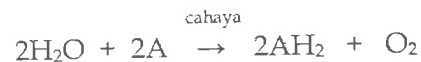
Dimana H₂A adalah H₂O pada tumbuhan hijau dan *Cyanobacteria* dan H₂S pada bakteri fotosintetik sulfur. Cornelis van Niel mengemukakan hipotesis bahwa **fotosintesis tumbuhan dan bakteri merupakan proses yang pada dasarnya serupa**, berbeda hanya pada jenis molekul donor hidrogen yang digunakan. Bakteri fotosintetik lainnya menggunakan senyawa organik laktat sebagai donor elektron. Dengan demikian, **H₂A mungkin air, hidrogen sulfida, laktat atau beberapa senyawa organik lainnya** tergantung spesies.



Fotosintesis mempunyai dua tingkatan proses yaitu (1) Energi cahaya dimanfaatkan untuk mengoksidasi H₂A (reaksi terang) dan menghasilkan zat pereduksi (H); (2) Zat pereduksi yang dihasilkan kemudian mereduksi CO₂ (reaksi gelap). Dengan demikian, pada fotosintesis aerobik H₂O (tidak CO₂) yang displit oleh cahaya.



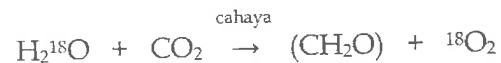
Hipotesis Cornelis van Niel dibuktikan dengan dua eksperimen. Pada tahun 1937 Robert Hill menemukan jika ekstrak kloroplas yang kekurangan CO₂ ditambah aseptor elektron non biologi ke medium kemudian disinari, maka akan dilepaskan O₂.



Reaksi ini dikenal dengan **reaksi Hill** dimana A adalah aseptor elektron buatan. Salah satu reagen Hill adalah *dye-2,6-dikloro-phenolindophenol* yang berwarna biru (A) dalam bentuk teroksidasi dan tidak berwarna (AH₂) dalam bentuk tereduksi. *Dye-2,6-dikloro-phenol-indophenol* dapat diganti dengan *ferisianida* [Fe(CN)₆³⁻] yang dapat tereduksi menjadi *ferrosianida* [Fe(CN)₆⁴⁻]. Reaksi Hill adalah bukti pertama bahwa penyerapan energi cahaya menyebabkan elektron mengalir dari H₂O ke penerima elektron. Reaksi Hill membuktikan bahwa CO₂ tidak berpartisipasi secara langsung dalam reaksi penghasil O₂. Beberapa tahun kemudian Severo Ochoa memperlihatkan bahwa NADP⁺ adalah aseptor elektron biologi pada kloroplas. Dengan demikian persamaan reaksi Hill menjadi

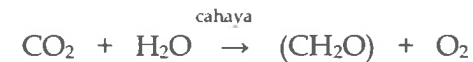


Reaksi ini merupakan proses fotokimia. Untuk mengerti proses fotokimia kita harus mengerti pengaruh penyerapan cahaya pada struktur molekul. Pada tahun 1941 ketika isotop oksigen ¹⁸O telah tersedia, Samuel Ruben dan Martin Kamen secara langsung mendemonstrasikan bahwa sumber pembentukan molekul O₂ pada fotosintesis di kloroplas adalah molekul H₂O.



H₂O sebagai donor H merupakan fotosintesis penghasil O₂ yang paling banyak terjadi di alam. Pada buku ini diuraikan fotosintesis yang menghasilkan O₂. Fotosintesis ini terjadi pada berbagai bakteri dan eukariot uniseluler (alga) serta pada tanaman. Semua proses fotosintesis pada organisme ini berbeda dalam detailnya tetapi

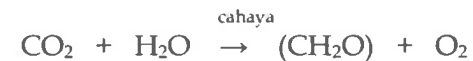
harus digarisbawahi bahwa mekanismenya mirip. Pengetahuan fotosintesis pada tumbuhan berasal dari studi organisme sederhana. Persamaan reaksi total fotosintesis pada tumbuhan merupakan reaksi redoks, dimana H₂O memberikan elektron (sebagai hidrogen) untuk mereduksi CO₂ ke karbohidrat (CH₂O) yang dapat ditulis,



Setiap tahun diperkirakan fotosintesis memfiksasi karbon sekitar 10¹¹ ton yang setara dengan penyimpanan energi lebih dari 10¹⁸ kJ. Suatu angka yang luar biasa besar! Pada bahagian manakah pada tumbuhan yang mengubah energi cahaya ke energi kimia?

B. Reaksi Terang dan Reaksi Gelap pada Fotosintesis

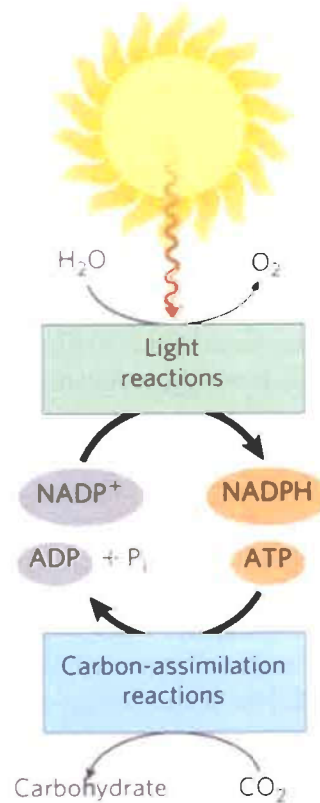
Kehidupan di bumi tergantung pada matahari. Energi sinar matahari diubah menjadi energi kimia yang diperlukan makhluk hidup melalui proses fotosintesis. Fotosintesis adalah pemanen energi cahaya matahari. Fotosintesis adalah sumber esensial senyawa karbon dan oksigen yang diperlukan oleh organisme aerob (manusia, binatang dan sebagian mikroorganisme). Tumbuh-tumbuhan dan *Cyanobacteria* melalui fotosintesis memfiksasi CO₂ untuk menghasilkan karbohidrat. Pada proses ini, CO₂ direduksi dan H₂O dioksidasi menghasilkan karbohidrat dan O₂. Persamaan reaksi totalnya adalah sebagai berikut :



Tanpa pengecualian eukariot tergantung pada suplai oksigen yang dihasilkan pada proses fotosintesis untuk mensintesis ATP pada mitokondrianya. Dengan demikian, fotosintesis adalah bagian yang menarik untuk dipelajari. Bagian yang paling penting pada fotosintesis adalah **konversi energi cahaya ke energi kimia** dalam bentuk NADPH dan ATP. Proses ini mirip dengan transport elektron pada fosforilasi oksidatif di mitokondria.

Pada fotosintesis, cahaya menyinari molekul pigmen pengumpul cahaya akibatnya elektron tereksitasi ke level energi yang lebih

tinggi. Ekuivalen pereduksi dalam bentuk NADPH disintesis secara langsung untuk mereduksi NADP^+ ketika elektron tereksitasi. Jika elektron ini kembali pada keadaan awal akan melepaskan energi yang digunakan untuk mentranslokasi proton melewati membran. Proses ini menyebabkan terjadinya gradien proton yang mendorong terjadinya reaksi fosforilasi ADP yang dikatalisis oleh *ATP synthase*. Dengan demikian, pada **reaksi terang** fotosintesis dihasilkan energi kimia dalam bentuk NADPH dan ATP (Gambar 76).



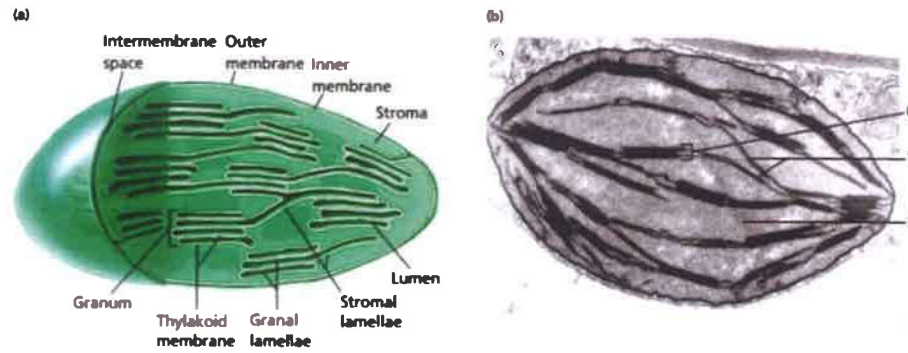
Gambar 76. Hubungan Reaksi Terang dengan Reaksi Gelap (Nelson *et al.*, 2013:770)

Spesies fotosintetik menggunakan ATP dan NADPH yang telah disintesis pada **reaksi terang** untuk digunakan pada semua reaksi metabolik yang membutuhkan energi seperti sintesis protein, asam nukleat, karbohidrat dan lipid. Kebanyakan organisme fotosintetik mempunyai jalur fiksasi CO_2 yang dinamakan **siklus Calvin**. Fiksasi CO_2 tidak membutuhkan cahaya dan secara tidak langsung dikopel dengan reaksi terang. Dengan alasan ini reaksi ini dinamakan **reaksi gelap** atau **reaksi asimilasi-karbon**. Reaksi gelap, bukan berarti reaksi ini terjadi pada tempat gelap. Pada reaksi gelap CO_2 diubah ke karbohidrat dengan menggunakan energi ATP dan NADPH yang dihasilkan pada reaksi terang fotosintesis. Apakah proses fotosintesis selalu menghasilkan oksigen? Oleh sebab itu, pada Bab ini dibahas hakekat fotosintesis, kloroplas, pigmen penyerap cahaya, kompleks protein-membran dan transport elektron 'mobile' pada reaksi terang, deretan reaksi pada reaksi terang, sintesis ATP pada fotofosforilasi, siklus Calvin serta lintas Hatch-Slack.

C. Kloroplas

Tempat fotosintesis pada eukariot (alga, tumbuhan) adalah **kloroplas**. Indikasi pertama bahwa kloroplas mempunyai fungsi fotosintetik adalah pengamatan oleh Theodor Englemann pada tahun 1882. Setiap sel mengandung 1-1000 kloroplas yang bervariasi ukuran dan bentuknya. Panjang kloroplas umumnya sekitar $5 \mu\text{m}$ dengan bentuk ellips (Gambar 77).

Kloroplas dan mitokondria mirip dalam banyak hal. Kloroplas mempunyai **membran-luar** yang permeabel untuk molekul kecil dan ion, dan **membran-dalam** yang hampir impermeabel yang terpisah oleh ruang intermembran yang sempit. Membran-dalam melingkupi **stroma** yang merupakan fasa berair yang mengandung enzim-enzim yang dibutuhkan untuk reaksi gelap. Seperti *matrix* mitokondria, stroma juga mengandung DNA, RNA dan ribosom yang terlibat pada sintesis beberapa protein kloroplas.

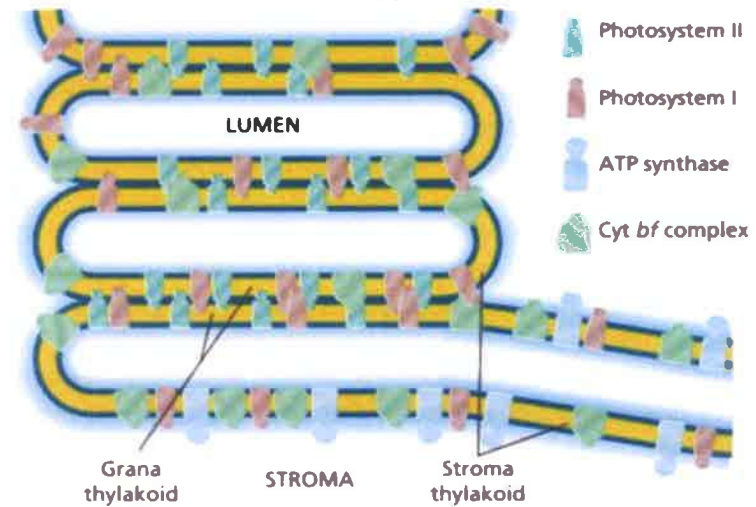


Gambar 77. Struktur Kloroplas

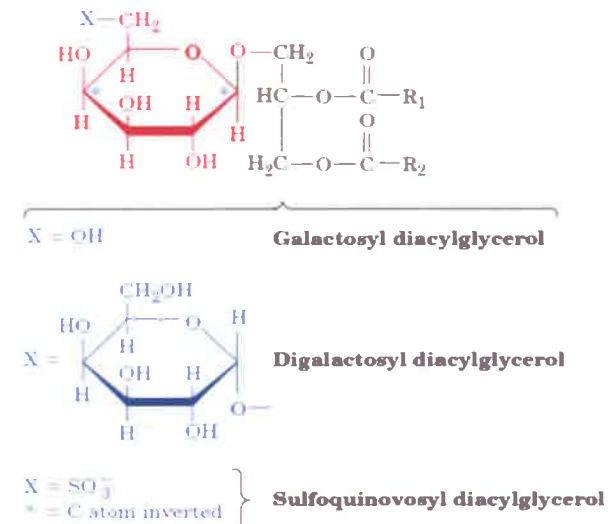
- a. Skematik, b. Mikroskop elektron kloroplas daun bayam
 b. (G Grana, T membran *thylakoid* dan S stroma)
 (Moran *et al.*, 2012:459)

Pada stroma terdapat ruang bermembran yang dinamakan *thylakoid* (Greek: *thylakos*, sebuah kantung 'sac' atau 'pouch'). Membran *thylakoid* merupakan membran ke tiga kloroplas. *Thylakoid* dapat berbentuk gelembung yang berlipat satu, meskipun *thylakoid* kebanyakan organisme berupa tumpukan kantong-kantong (seperti tumpukan koin) yang dinamakan **grana**. Antara grana dihubungkan oleh *stromal lamellae*. Sebuah kloroplas biasanya mengandung 10 sampai 100 grana. Membran *thylakoid* berasal dari perkembangan membran-dalam kloroplas, oleh sebab itu mirip dengan *crisetae* mitokondria. Selama reaksi terang fotosintesis proton ditranslokasi dari ruang *thylakoid* (lumen) ke stroma. Membran *thylakoid* merupakan membran ke tiga kloroplas. Distribusi Fotosistem I, Fotosistem II, *ATP Synthase* dan Cyt pada membran *thylakoid* dimuat pada Gambar 78.

Lipid pada membran *thylakoid* mempunyai komposisi khusus. Lipid terdiri dari hanya sekitar 10% *phospholipid*, kebanyakan sekitar 80% *uncharged mono-* dan *digalactosyl diacylglycerols* dan sisanya sekitar 10% adalah *sulfolipid sulfoquinovosyl diacylglycerols* (Gambar 79). Rantai *acyl* lipid mempunyai derajat ketidakteraturan tinggi yang mengakibatkan membran *thylakoid* berkarakter 'fluid' tinggi.

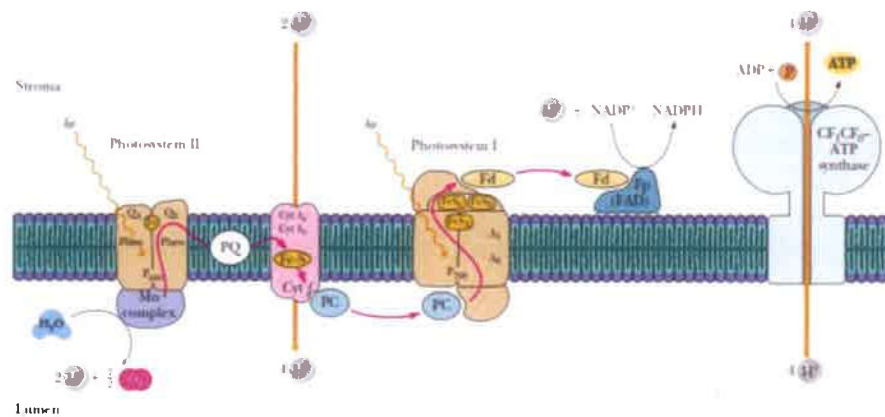


Gambar 78. Distribusi Fotosistem I, Fotosistem II, *ATP Synthase* dan Cyt pada Membran *Thylakoid* (Moran 2012: 460)



Gambar 79. Struktur Lipid Membran *Thylakoid*
 (Voet *et al.*, 2011:902)

Pada membran *thylakoid* terdapat deretan **kompleks protein-membran** yang berfungsi untuk melangsungkan reaksi terang fotosintesis. Kompleks protein-membran tersebut adalah **Photosystem II, Cytochrome *b₆f*, Photosystem I, dan ATP synthase**. Transport elektron dari molekul H₂O menuju NADP⁺ terjadi melalui kompleks protein-membran *photosystem II, cytochrome b₆f, photosystem I*. Transfer elektron terjadi sebagai akibat *photosystem II* atau *photosystem I* menerima energi cahaya. Kompleks protein-membran ini tertanam pada membran *thylakoid*, akibatnya kompleks protein ini tidak dapat berpindah tempat. Untuk transport elektron diantara kompleks protein-membran terdapat 3 jenis **transport elektron yang dapat berpindah-pindah 'mobile'** yaitu **PQ (plastoquinol), PC (plastocyanin) dan Fd (ferredoxin)**. Kompleks protein-membran tumbuhan dan transport elektron 'mobile' dimuat pada Gambar 80.



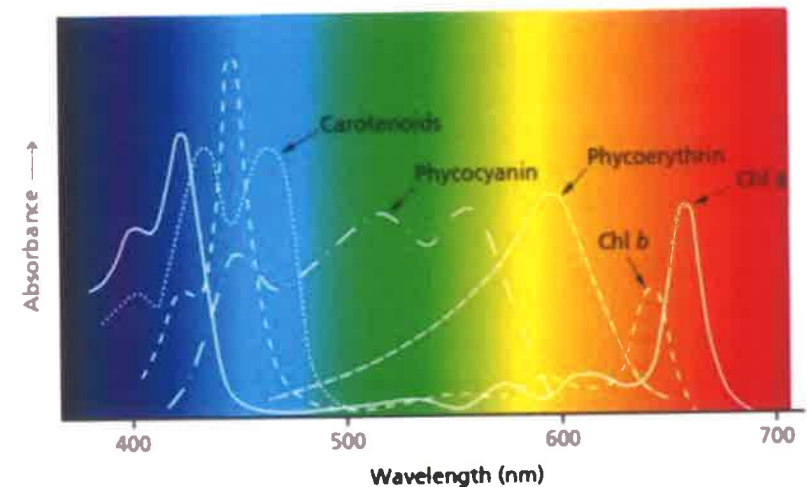
Gambar 80. Kompleks Protein-membran Fotosintesis pada Tumbuhan (Champbell *et al.*, 2006:610)

D. Pigmen Penyerap Cahaya pada Fotosintesis

Kompleks protein-membran *photosystem II, photosystem I* merupakan kompleks besar dari protein, pigmen dan kofaktor yang tertanam pada membran *thylakoid*. Kompleks ini mengandung pigmen penyerap cahaya (**fitopigmen**). Pigmen penyerap cahaya yang paling penting dan utama pada reaksi terang adalah **chlorophyll**

yaitu pigmen hijau dengan *polycyclic*, struktur planar mirip *protoporphyrin* pada hemoglobin. Pada *chlorophyll* sebagai ion pusat adalah Mg²⁺ bukan Fe²⁺. Semua *chlorophyll* mempunyai rantai samping *phytyl* yang panjang dan diesterifikasi ke gugus karboksil pada cincin IV. *Chlorophyll* mempunyai cincin ke V (di samping cincin ke III).

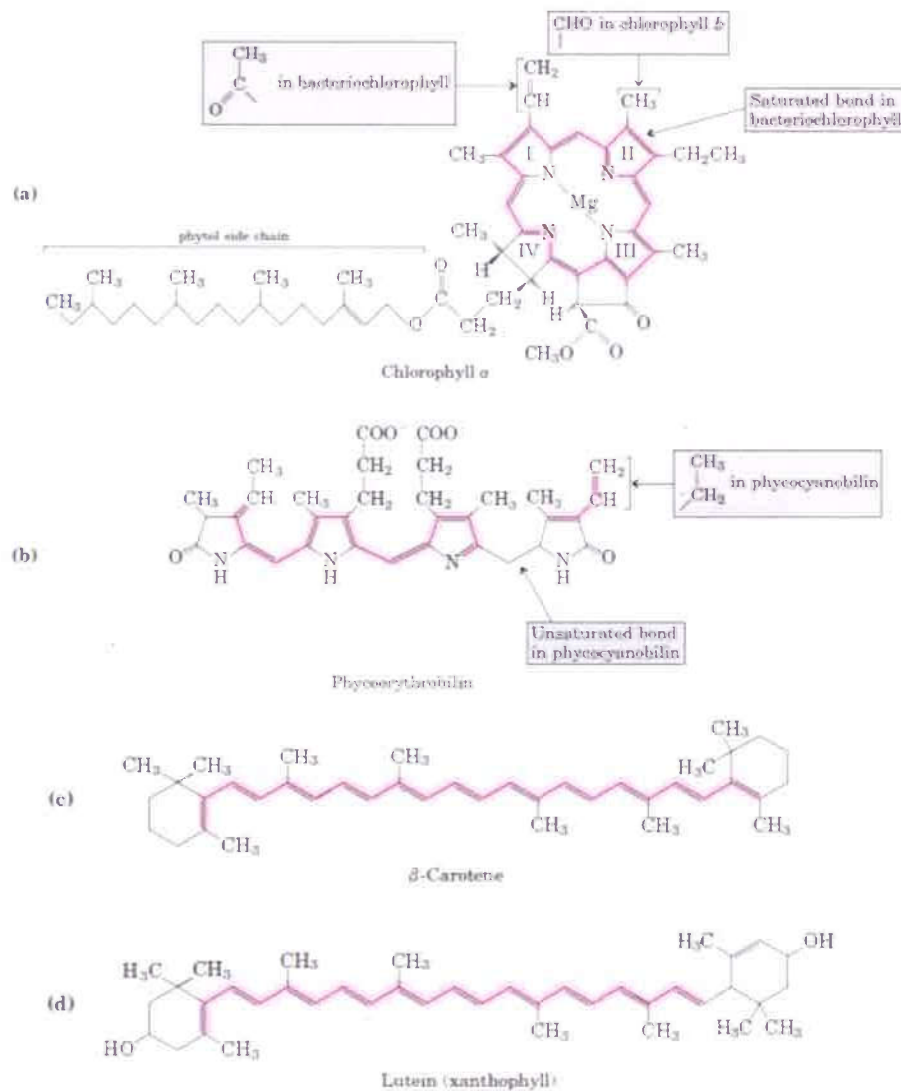
Chlorophyll a (Chl *a*) dan *Chlorophyll b* (Chl *b*) ditemukan dalam jumlah besar pada berbagai spesies tanaman, sedangkan *bacteriochlorophyll a* (BChl *a*) dan *bacteriochlorophyll b* (BChl *b*) ditemukan pada bakteri fotosintetik. Chl *a* dan Chl *b*, BChl *a*, dan BChl *b* adalah penangkap utama energi cahaya. *Phycocyanobilin* dan *phycocyanobilin* (*phycobilins*) adalah pigmen antena pada *cyanobacteria* dan alga merah. β -*carotene* (sebuah karotenoid) dan lutein (sebuah *xanthophyll*) adalah pigmen pelengkap pada tumbuhan. Area pink pada struktur molekul fitopigmen merupakan sistem terkonyugasi untuk penyerapan cahaya nampak (Gambar 81 dan Gambar 82).



Gambar 81. Penyerapan Cahaya Nampak oleh Fitopigmen Fotosintesis (Moran *et al.*, 2012:445)

Pigmen penyerap cahaya pada fotosintesis menyerap cahaya pada λ daerah nampak (violet ke merah, 400 nm-700 nm). Energi dari *photon* tunggal lebih besar ke arah violet daripada ke arah merah. Satu

mol *photon* cahaya merah setara dengan sekitar lima kali energi yang diperlukan untuk memproduksi satu mol ATP dari ADP dan Pi



Gambar 82. Struktur Fotopigmen
(Nelson *et al.*, 2013:745)

(30,5kJ/mol). Ketika sebuah *photon* diserap, sebuah elektron pada molekul penyerap (*chromophore*) berada pada level energi yang lebih tinggi. Sebuah molekul yang menyerap *photon* dikatakan dalam keadaan tereksitasi yang merupakan keadaan yang tidak stabil. Molekul dalam keadaan ini cenderung kembali pada keadaan semula dengan cara melepaskan *photon* yang telah diserapnya pada molekul fotopigmen di dekatnya. Proses ini dinamakan transfer *exciton*.

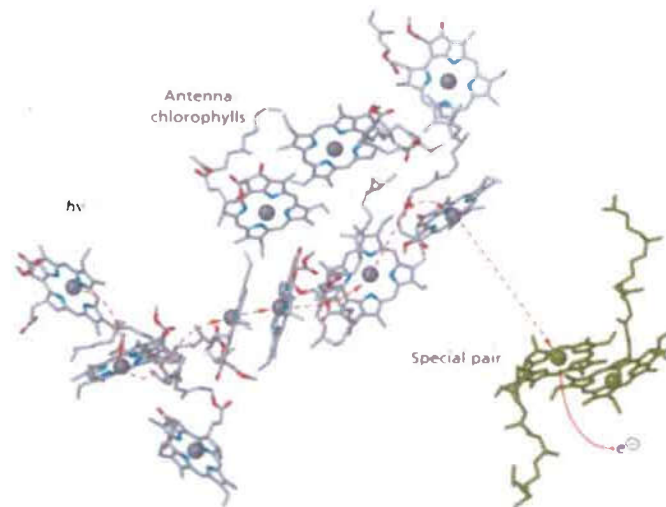
Kemampuan klorofil menyerap cahaya terletak pada cincin *tetrapyrrole* dengan ikatan ganda terkonyugasi. Klorofil menyerap cahaya pada daerah violet ke biru (penyerapan maksimum pada λ 400 sampai 500 nm) dan pada daerah orange ke merah (penyerapan maksimum pada λ 650 sampai 700 nm) dari spektrum elektromagnetik (Gambar 81). Itulah sebabnya mengapa klorofil berwarna hijau yang merupakan bagian spektrum yang direfleksinya (tidak diserap). Penyerapan maksimum klorofil tergantung pada struktur klorofil. Dengan demikian penyerapan maksimum Chl *a* dan Chl *b* berbeda. Penyerapan maksimum klorofil juga dipengaruhi oleh lingkungan mikronya di dalam kompleks pigmen-protein.

Photosystem mengandung berlusin-lusin molekul klorofil tetapi hanya dua molekul klorofil spesial yang memberikan elektron untuk memulai rantai transfer elektron yang dinamakan *special pair*. *Special pair* diidentifikasi sebagai pigmen (P) yang menyerap cahaya pada λ spesifik. Dengan demikian, P680 adalah molekul klorofil *special pair* yang menyerap cahaya pada λ 680 nm (merah). Energi cahaya dengan λ 680 nm adalah 176 kJmol⁻¹. Ini berarti bahwa satu mol molekul klorofil menyerap satu mol *photon*, elektron tereksitasi memperoleh sejumlah energi yang setara dengan 176 kJmol⁻¹.

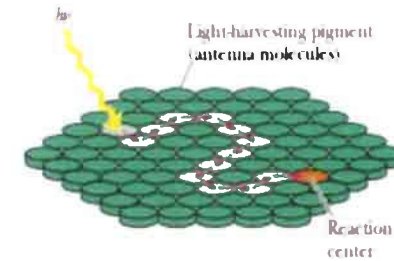
Ada tiga keadaan P680 yaitu P680, P680* dan P680⁺. P680 adalah *ground state*. P680* adalah keadaan penyerapan *photon* cahaya ketika molekul klorofil mempunyai elektron tereksitasi dan P680⁺ adalah keadaan teroksidasi akibat transfer elektron ke molekul lain. P680⁺ direduksi ke P680 oleh transfer elektron dari donor elektron. *Special pair* adalah molekul klorofil spesial yang berfungsi sebagai bagian dari rantai transfer elektron. Molekul ini merupakan *photosynthetic reaction centers (RCs)*. Rantai transfer elektron menerima elektron dari *special pair* dan mentransfernya ke molekul berikutnya pada jalur. Tidak semua molekul klorofil terlibat pada transfer elektron.

Klorofil sisa bertindak sebagai **klorofil antena**. Transfer energi antara molekul klorofil antena dinamakan *resonance energy transfer*.

Transfer ini tidak melibatkan pergerakan elektron. Gambar 83. mengilustrasikan transfer energi eksitasi dari klorofil antena ke *special pair* di dalam fotosistem. Gambar 83 memperlihatkan hanya sedikit dari banyak molekul antena yang mengelilingi *special pair*. Semua molekul klorofil berada pada posisi tetap melalui interaksi dengan rantai samping residu asam amino pada polipeptida dari fotosistem. Pada Gambar 81 polipeptida tersebut tidak diperlihatkan. Cahaya diserap oleh *chlorophyll antenna* dan ditransfer ke RCs (Gambar 84). Transfer energi dari sistem antena ke sebuah *Reaction center*, RCs terjadi kurang dari 10^{-10} detik dengan efisiensi besar dari 90%. Efisiensi yang tinggi ini tergantung pada molekul klorofil yang mempunyai orientasi dan jarak yang tepat. Klorofil terikat pada protein membentuk kompleks pemanen cahaya '*light-harvesting complexes*' (LHCs) yang menyediakan fungsi esensialnya sebagai pemanen cahaya yang efisien.

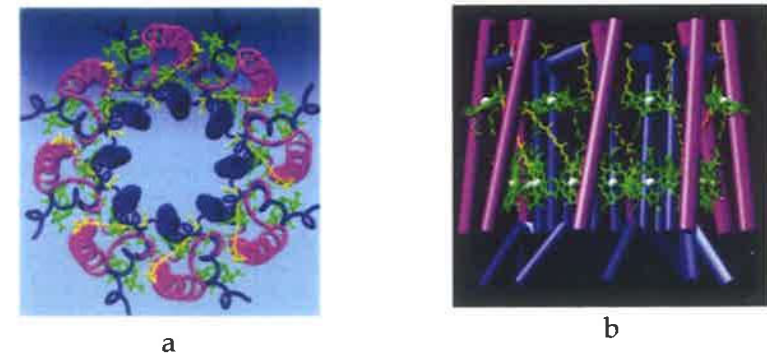


Gambar 83. Transfer Energi Cahaya dari Pigmen Klorofil Antena ke Molekul Klorofil Special Pair
(Moran *et al.*, 2012:446).



Gambar 84. Aliran Energi dari Kompleks Antena Fotosintetik (Hijau Muda) ke Reaksi Pusat Fotosintetik, RCs (orange)
(Champbell *et al.*, 2006:607)

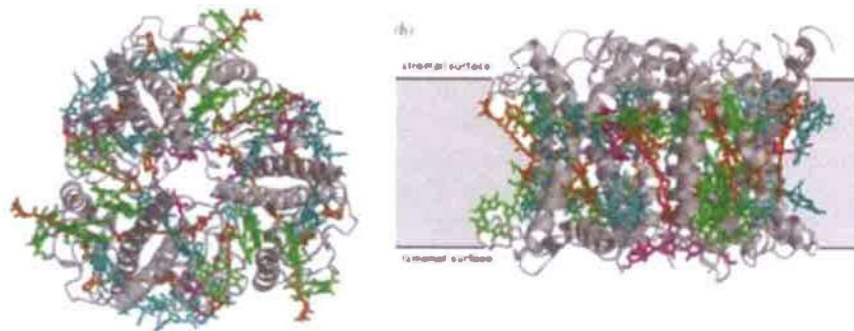
Bakteri fotosintetik ungu merupakan organisme fotosintetik paling sederhana mempunyai dua tipe LHCs yaitu LH1 dan LH2 yang merupakan protein transmembran tetapi berbeda sifat biokimianya. LH2 menyerab cahaya pada λ gelombang yang lebih pendek dari pada LH1. Pada LH1 terdapat RCs, sedangkan pada LH2 terdapat antena klorofil. Oleh sebab itu, LH1 di kelilingi oleh beberapa LH2. Struktur sinar-X LH2 dari bakteri fotosintetik ungu *Rhodospirillum (Rs) molischianum* mempunyai 8 pelipatan protein yang simetris $\alpha_8\beta_8$ yang mengikat 24 molekul BChl *a* dan 8 molekul *lycopene* (Gambar 85). Kebanyakan LHCs mengandung molekul



Gambar 85. Struktur Sinar-X LH2 dari *Rs molischianum*
(a) Nampak Atas dan (b) Nampak Samping
(Voet *et al.*, 2011:907)

penyerap cahaya tambahan pada klorofil. Pigmen tambahan (*accessory pigments*) ini berfungsi untuk mengisi spektra penyerapan dari kompleks antena di dalam daerah dimana klorofil tidak menyerap dengan kuat. *Carotenoid*, *lycopene* dan β -*carotene* merupakan pigmen tambahan.

Protein pemanen cahaya LHC-II tumbuhan hijau terdiri dari sekitar 30% protein pada membran kloroplas yang membuat protein membran paling melimpah di alam. Setiap subunit dari protein *trimeric* berikatan dengan 8 Chl *a*, 6 Chl *b* dan 4 *carotenoid*. Orientasi 42 klorofil pada setiap trimer LHC-II mengarah pada semua ruang untuk memaksimalkan efisiensi pemanenan cahaya. Struktur sinar-X LHC-II *homotrimeric* dari kloroplas tanaman hijau dimuat pada Gambar 86. Protein digambarkan berwarna abu-abu yang tegak lurus terhadap membran *thylakoid*. Protein ini mengikat *carotenoid* dan *chlorophyll*. Pada Gambar 86 Chl *a* berwarna biru kehijauan, Chl *b* hijau, *carotenoid* orange.

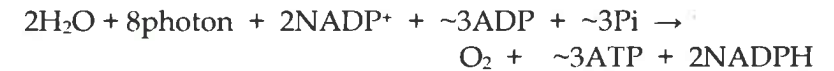


Gambar 86. Struktur sinar-X LHC-II dari Kloroplas Tanaman
(a) Nampak Atas dan (b) Nampak Samping
(Voet *et al.*, 2011:909)

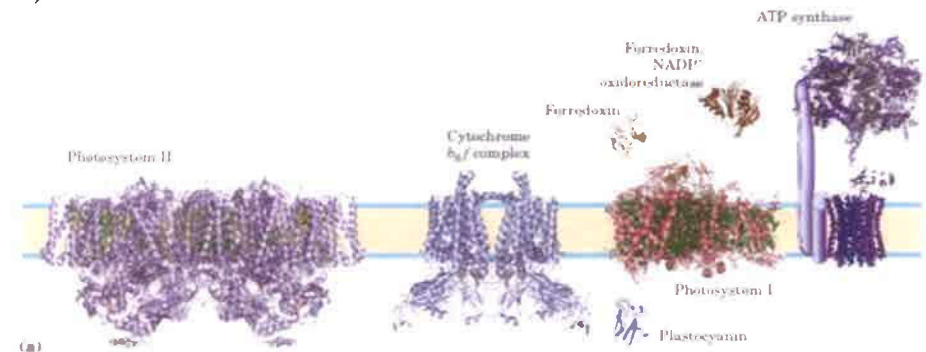
E. Kompleks Protein-Membran dan Transport Elektron 'Mobile'

Pada transport elektron di inner-membran mitokondria, terdapat empat kompleks respirasi yang dihubungkan oleh pembawa elektron yang 'mobile'. Kompleks protein-membran pada

membran *thylakoid* adalah *Photosystem II* (PSII), *Cytochrome b_6/f* dan *Photosystem I* (PSI). PSI menyerap cahaya optimal pada λ 700 nm, sedangkan PSII menyerap cahaya optimal pada λ 680 nm. Pada kondisi normal elektron mengalir dari PSII melalui *cytochrome b_6/f* (protein-membran yang analog dengan *Complex III* pada transport elektron mitokondria) ke PSI. PSII menggunakan energi cahaya untuk mengoksidasi dua molekul air membentuk satu molekul oksigen. Pada proses ini empat elektron dipindahkan dari dua molekul air dan ditransfer oleh rantai transfer elektron ke 2NADP^+ membentuk 2NADPH . Proses ini memerlukan 8 *photon* cahaya (4 *photon* dari PSII dan 4 *photon* dari PSI). Reaksi total transfer elektron dari H_2O ke NADP^+ dan pembentukan ATP adalah



Selama proses transfer elektron, H^+ dipompa dari stroma ke lumen *thylakoid* melalui *Cytochrome b_6/f* akibatnya dihasilkan gradien proton. Tenaga 'motive proton' mendorong sintesis ATP dari ADP dan P_i yang dikatalisis oleh *ATP synthase* kloroplas. Proses aliran elektron, pembentukan NADPH dan ATP melibatkan PSII, PQ (*plastoquinone*), *cytochrome b_6/f* , PC (*plastocyanin*), PSI, Fd (*ferredoxin*), *ferredoxin-NADP⁺ oxidoreductase* dan *ATP synthase* kloroplas (Gambar 87).

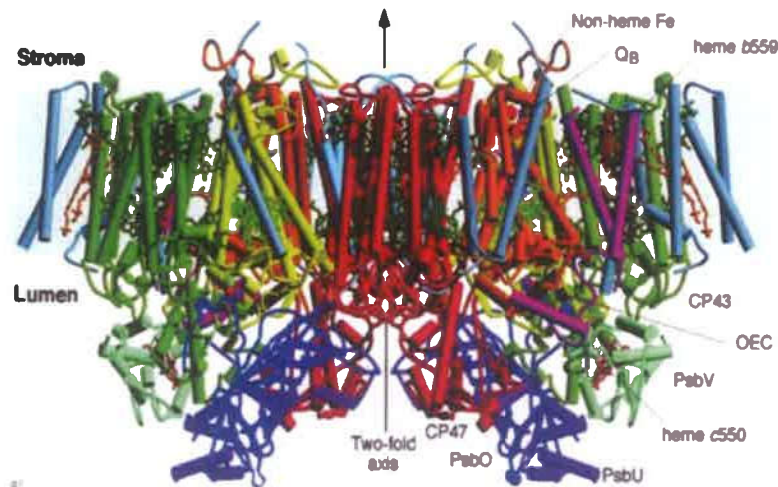


Gambar 87. Struktur Kompleks Protein-Membran dan Protein Larut Fotosintesis Tumbuhan (Nelson *et al.*, 2013:784)

PSII, cytochrome *b₆f*, PSI dan ATP synthase kloroplas merupakan kompleks protein-membran yang tertanam pada membran *thylakoid* ditata secara asimetri. Kompleks protein-membran ini tidak dapat berpindah tempat. Diantara kompleks protein-membran tersebut terdapat 3 jenis **transport elektron yang dapat berpindah-pindah 'mobile' yaitu PQ (Plastoquinone), PC (Plastocyanin) dan Fd (Ferredoxin)**. PG, PC dan Fd mempunyai peranan mirip dengan Coenzyme Q dan Chytochrome *c* pada mitokondria. Pada buku ini dijelaskan masing-masing pembawa elektron tersebut.

Photosystem II dan Plastoquinone

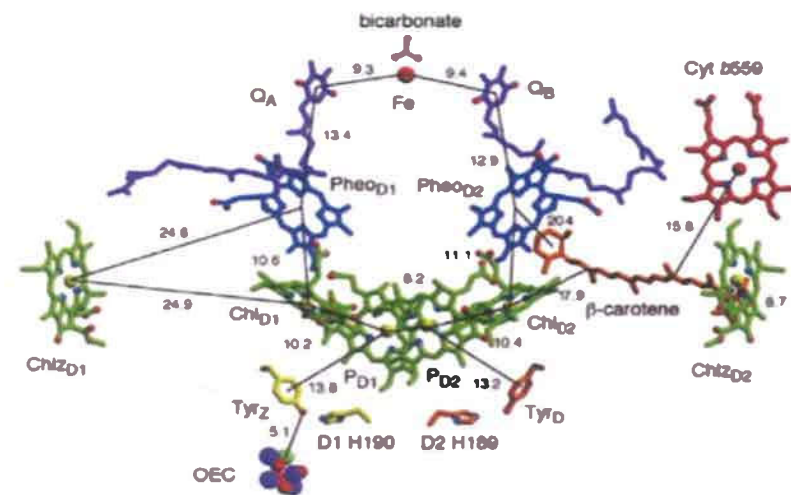
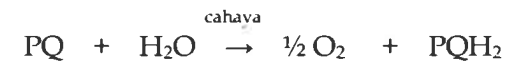
PSII dari termofilik cyanobacterium *Thermosynechococcus elongatus* terdiri dari 20 subunit, 14 subunit menempati membran fotosintetik. Pada subunit transmembran ini terdapat *protein reaction center D1 (PsbA)* dan *D2 (PsbD)*, subunit *inner-antenna* yang mengandung klorofil CP43 (PsbC) dan CP47 (PsbB), dan *cytochrome b₅₅₉* (Gambar 88).



Gambar 88. Struktur Sinar-X *photosystem II* dari *T. Elongatus* (Voet et al., 2011:918)

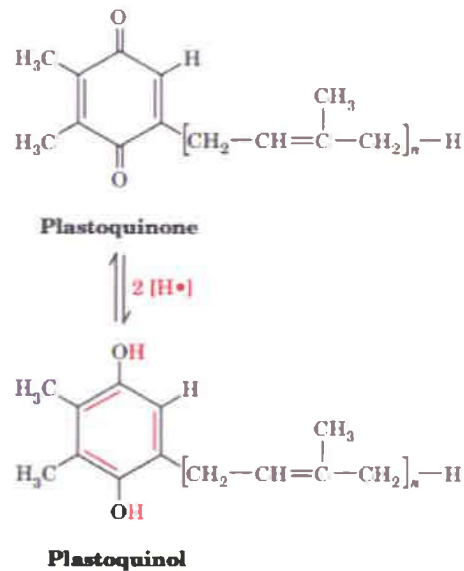
Struktur PSII ini mempunyai berat molekul sekitar 340 kD yang merupakan dimer simetris unit-unit protomer yang masing-masing mengandung 35 *helice* transmembran. Setiap protomer (protomer adalah unit struktural dari protein oligomer) mempunyai *pseudo-2-fold* simetri, mengikat 36 Chl *a*, 2 *pheophytin a* (Pheo *a*: Chl *a* dengan Mg^{2+} digantikan oleh dua proton), satu *heme b*, satu *heme c*, 2 *plastoquinone* (QA dan QB), satu *nonheme Fe*, 12 *carotenoid*, satu ion HCO_3^- dan satu kompleks Mn_4CaO_4 yang dikenal sebagai *oxygen-evolving center* [OEC: alternatif, *water oxidizing complex* (WOC)].

Pada tumbuhan tinggi protomer PSII mengandung sekitar 25 subunit dan membentuk sebuah superkompleks transmembran sekitar 1000 kD dengan beberapa protein antenna. PSII mentransfer elektron dari air ke PQ. Setiap satu molekul PQ menerima dua elektron dari satu molekul air sehingga terbentuk plastoquinol (PQH_2) (Gambar 90). Persamaan reaksi redoksnya adalah



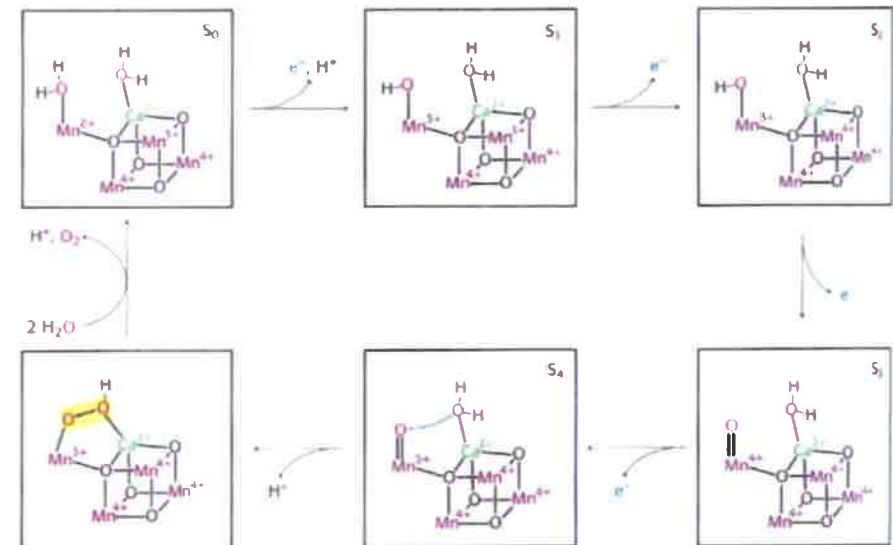
Gambar 89. Penataan Kofaktor Transfer-Elektron PSII dari *T.elongatus* (Voet et al., 2011:919)

Kofaktor pada PSII RC ditata mirip dengan *photosystem* pada bakteri. Kofaktor mempunyai komponen essensial yang sama (Chl a, Pheo a, dan *plastoquinone*) simetris sepanjang sumbu *complex pseudo-2-fold*. **Donor elektron utama pada PSII adalah P680** (menyerap pada λ maksimal, 680 nm). Elektron didorong dari P680, kemudian ditransfer ke molekul Pheo a (Pheo_{D1}) barangkali melalui molekul Chl a (Chl_{D1}) kemudian ke *Plastoquinone* yang berikatan pada sisi Q_A . Kemudian elektron ditransfer ke molekul mobil *plastoquinone* ke dua pada sisi Q_B . Q_B menerima elektron kedua dalam cara yang sama, dan mengambil dua proton pada stroma pada permukaan membran *thylakoid* membentuk *plastoquinol* mobile, QH_2 . Dua molekul ekstra Chl a, Chl_{D1} dan Chl_{D2} terletak pada *periphery* dari RC dimana molekul tersebut dipostulatkan untuk fungsi transfer eksitasi dari sistem antena ke P680. Fungsi *Cytochrome b₅₅₉* belum diketahui. Bagaimana fungsi kluster Mn pada PSII? Molekul O_2 dihasilkan pada reaksi lima-tahap *water-splitting* yang dimediasi oleh *complex protein* yang mengandung Mn.



Gambar 90. Perubahan *Plastoquinone* ke *Plastoquinol* (Voet et al., 2011:915)

P680 merupakan oksidan yang sangat kuat, pengeksktr elektron dari molekul air yang berikatan pada *mangan center*. Pada struktur *center* ini terdapat satu ion *calcium* dan 4 ion mangan (Gambar 91). Mangan muncul pada peran ini karena kemampuannya berada dalam keadaan banyak bilangan oksidasi (Mn^{2+} , Mn^{3+} , Mn^{4+} dan Mn^{5+}) dan untuk membentuk ikatan yang kuat dengan species yang mengandung oksigen. *Mangan center*, dalam bentuk tereduksi, mengoksidasi dua molekul air untuk membentuk satu molekul oksigen. Setiap kali penyerapan, sebuah *photon* menendang sebuah elektron ke luar dari P680, akibatnya *special pair* bermuatan positif dan mengeksktr elektron dari *mangan center*.

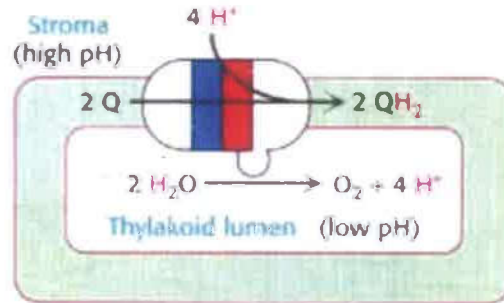


Gambar 91. Skema dari *Mangan Center* (Stryer et al., 2007:550)

Bagaimanapun juga elektron tidak langsung dari ion mangan. Residu *tyrosine* (sering ditandai Z) dari subunit D1 pada *photosystem II* adalah donor elektron intermediet, membentuk *radical tyrosin*. *Radical tyrosin* memindahkan elektron dari ion mangan yang elektronnya berasal dari molekul H_2O untuk menghasilkan O_2 dan H^+ . Dengan demikian, 4 *photon* harus diserap untuk mengeksktr 4

elektron dari satu molekul air. Empat elektron yang dipanen dari air digunakan untuk mereduksi dua molekul Q ke QH₂. Struktur *mangan center* pada Gambar 91 ditandai dengan S0 sampai S4 yang menunjukkan jumlah elektron yang telah dipindahkan.

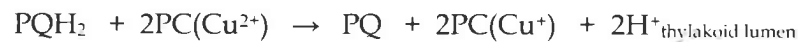
PSII terbentang pada membran *thylakoid*. Sisi reduksi *Plastoquinone* terletak pada sisi stroma tempat dimana *mangan center*, sedangkan sisi oksidasi air terletak pada lumen *thylakoid*. Dengan demikian, dua proton untuk mereduksi Q ke QH₂ berasal dari stroma dan 4 proton yang dibebaskan dari oksidasi dua molekul air dilepaskan ke lumen *thylakoid*. Distribusi proton ini menghasilkan gradien proton, dimana jumlah proton jauh lebih banyak (pH rendah) pada lumen *thylakoid* dibanding stroma (pH tinggi) Gambar 92.



Gambar 92. Distribusi Proton pada Stroma dan Lumen *Thylakoid* (Stryer *et al.*, 2007:551)

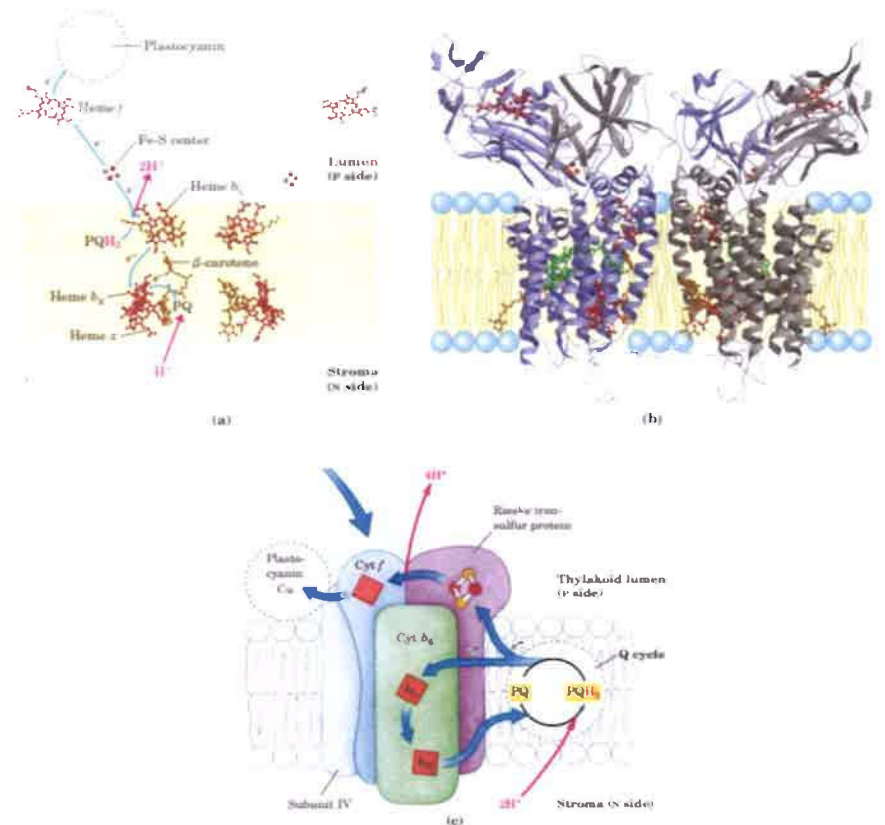
Cytochrome *b₆f*

Cytochrome b₆f terletak antara PSII ke PSI. Elektron mengalir dari PSII ke PSI melalui *complex Cytochrome b₆f*. *Cytochrome b₆f* mengkatalisis transfer elektron dari *plastoquinol* (PQH₂) ke *plastocyanin* (PC) suatu protein kecil terlarut yang mengandung *copper* pada permukaan lumen *thylakoid*.



Seperti *Complex III* mitokondria, *Cytochrome b₆f* mengandung 4 subunit yaitu : 23 kDa *cytochrome* tipe-b dengan dua gugus *heme*

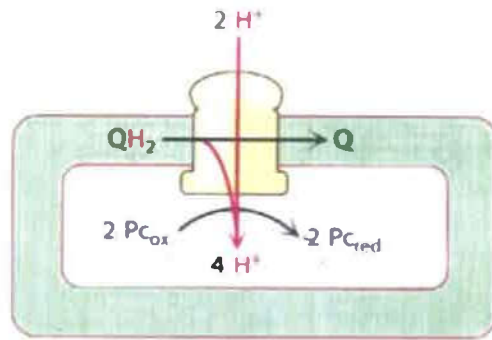
(ditandai *b_H* dan *b_L*), 20 kDa protein *Rieske* tipe besi-sulfur, 33 kDa *cytochrome f* dengan *cytochrome* tipe-c dan unit 17 kDa (Gambar 93c). Struktur *complex Cytochrome b₆f* dimuat pada Gambar 93b.



Gambar 93. Struktur *Cytochrome b₆f* (Nelson *et al.*, 2013:755)

Elektron mengalir melalui *complex Cytochrome b₆f* yaitu dari PQH₂ ke *cytochrome f* kemudian ke *plastocyanin* dan akhirnya ke P700 pada PSI. Seperti *Complex III* mitokondria, *Cytochrome b₆f* menyampaikan elektron dari *quinone* tereduksi yaitu pembawa "bergerak" dua elektron yang larut dalam lipid (Q pada mitokondria, PQ pada kloroplas) ke suatu protein yang larut dalam air yang

membawa satu elektron (*cytochrome c* pada mitokondria, *plastocyanin* pada kloroplas). Fungsi PQ melibatkan siklus Q. Siklus ini menghasilkan pemompaan proton melewati *complex Cytochrome b₆f* pada kloroplas dengan arah pergerakan proton dari stroma ke lumen *thylakoid* (Gambar 94). Pada proses ini empat proton berpindah (2 dari stroma dan 2 dari PQH₂) ke lumen *thylakoid* dan sepasang elektron ditransfer dari PQH₂ ke dua molekul PC untuk setiap siklus Q. Karena lumen *thylakoid* kecil, pemasukan sedikit proton mempunyai pengaruh yang besar pada pH lumen. Perbedaan pH antara stroma (pH 8) dan lumen *thylakoid* (pH 5) sekitar 1000 kali perbedaan konsentrasi proton adalah suatu tenaga pendorong untuk mensintesis ATP dari ADP dan Pi.

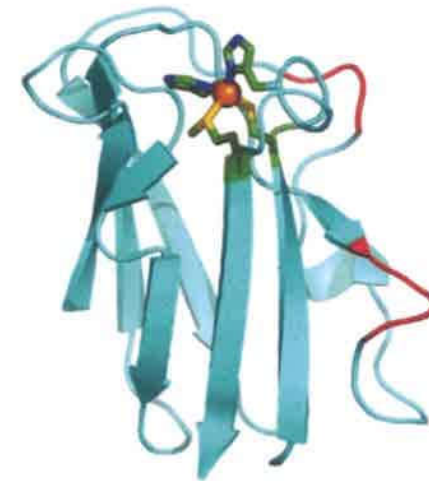


Gambar 94. Pemompaan Proton Melalui *Cytochrome b₆f*
(Stryer *et al.*, 2007:551)

Plastocyanin (PC)

Plastocyanin merupakan protein *mobile* yang mentransfer elektron dari pembawa elektron terminal *cytochrome f* pada *Cytochrome b₆f* ke PSI. *Plastocyanin* merupakan protein monomerik dengan 99 residu asam amino (Gambar 93). Protein ini mengandung Cu dan merupakan protein membran *peripheral* yang berlokasi pada permukaan lumen *thylakoid*. Fungsi PC analog dengan *Cytochrome c* yang mentransfer elektron dari *Complex III* ke *Complex IV* pada rantai transport elektron di mitokondria.

Protein *plastocyanin* termasuk famili *protein blue copper* yang melipat membentuk β *sandwich*. Atom Cu (orange) pada *plastocyanin* dapat berada dalam bentuk ion Cu(I) atau Cu(II) (Gambar 95). Ion Cu ini berikatan kovalen koordinasi dengan rantai samping His37, Cys84, His87 dan Met92 yang diperlihatkan dalam bentuk stick dengan atom C hijau, N biru dan S kuning. Kompleks Cu(II) dengan 4 ligan tersebut membentuk geometri segiempat datar, sedangkan dengan Cu(I) membentuk tetrahedral. Tujuh residu lestar Asp dan Glu (merah) membentuk muatan negatif pada permukaan PC yang mempengaruhi pengikatan elektrostatis positif dengan permukaan *cytochrome f* oleh lima residu Lys dan Arg. Dengan demikian, siklus redoks PC adalah keadaan oksidasi Cu(I) dan Cu(II).

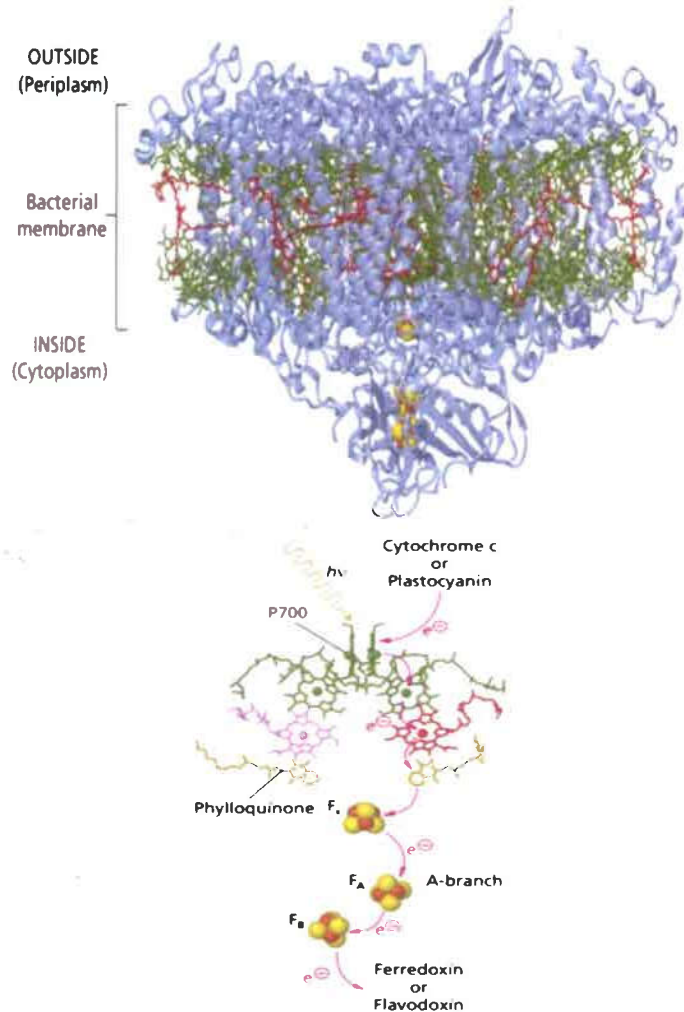


Gambar 95. Struktur *Plastocyanin*
(Voet *et al.*, 2011:921)

Photosystem I

PSI lebih besar dan lebih kompleks dibandingkan PSII. PSI dari *Cyanobacterium Thermosynechococcus elongatus* mengandung 96 klorofil (hijau), 22 karotenoid (merah), Gambar 96. Pada PSI *Cyanobacteria* terdapat 14 unit polipeptida, kebanyakan *α helice* yang terbentang pada membran. PSI *Cyanobacteria* merupakan trimer dari protomer yang masing-masing terdiri dari paling kurang 11 subunit

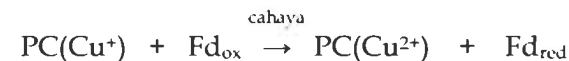
protein yang berbeda, lebih dari 100 kofaktor. Masing-masing protomer pada *T. elongatus* mempunyai massa 356 kD yang mengandung 9 subunit transmembran (PsaA (biru), PsbB (merah), PsaF, PsaI-M dan PsaX), dan 3 subunit stromal (PsaC-E) yang secara kolektif berikatan dengan 127 kofaktor. Kofaktor pembentuk PSI RC semua diikat oleh subunit PsaA (755 residu) dan PsaB (740 residu).



Gambar 96. Struktur *Photosystem I* (Moran *et al.*, 2012:451)

Langkah akhir reaksi terang dikatalisis oleh *photosystem I*. *Photosystem I* merupakan kompleks transmembran yang terdiri dari sekitar 14 untai polipeptida, beberapa protein yang terkait dan kofaktor (Gambar 96). Pusat dari sistem adalah sepasang subunit yang mirip yaitu PsaA (83kD) dan PsaB (82kD). Subunit ini lebih besar dari pada subunit pusat dari *photosystem II*. Meskipun demikian subunit ini tampil homolog: 40% dari ujung terminal dari masing-masing subunit mirip dengan subunit yang berhubungan dari *photosystem II*.

Special pair dari molekul *chlorophyll a* terletak pada pusat struktur dan menyerap maksimal pada 700 nm. *Center* ini dinamakan P700. Elektron bergerak dari P700 ke jalur melalui klorofil terus ke *quinone* dan ke kluster set 4Fe-4S. Langkah selanjutnya mentransfer elektron ke *ferredoxin* (Fd) suatu protein larut yang mengandung kluster 2Fe-2S yang berkoordinasi dengan 4 residu sistein. *Ferredoxin* mentransfer elektron ke NADP⁺. Sementara itu, P700⁺ menangkap sebuah elektron dari *plastocyanin* yang mengakibatkan P700⁺ tereduksi membentuk P700. Dengan demikian, reaksi keseluruhan yang dikatalisis oleh PSI adalah reaksi oksidasi-reduksi yang melibatkan satu elektron.



Ferredoxin (Fd)

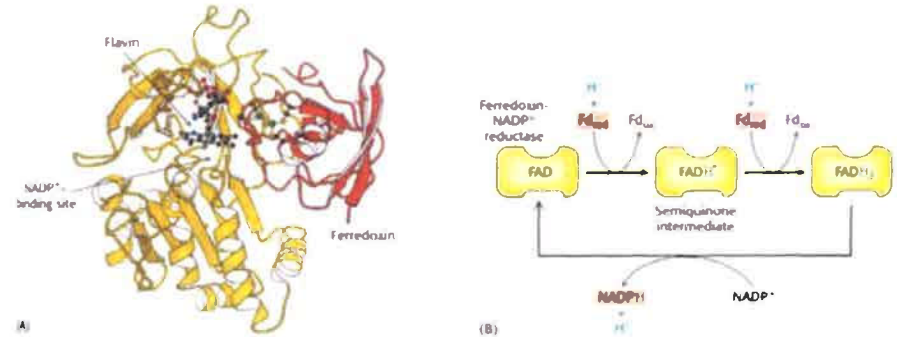
Ferredoxin merupakan protein yang mengandung besi-nonheme yang terutama ditemukan pada bakteri anaerobik dan kloroplas. *Ferredoxin* mengandung kluster 2Fe-2S yang berkoordinasi dengan 4 residu sistein (Gambar 97). Protein ini menerima elektron dari *photosystem I* dan membawanya ke *ferredoxin-NADP reductase* (FNR). Meskipun *ferredoxin* tereduksi adalah sebuah reduktan yang kuat, ia tidak bermanfaat untuk mendorong kebanyakan reaksi karena *ferredoxin* membawa hanya satu elektron. Sebaliknya NADPH, sebuah reduktan dua-elektron, secara luas digunakan sebagai donor elektron pada proses biosintesis termasuk reaksi pada siklus Calvin. Bagaimana *ferredoxin* digunakan untuk mendorong reaksi reduksi

NADP⁺ menjadi NADPH? Reaksi ini dikatalisis oleh *ferredoxin-NADP⁺ reductase*, sebuah flavoprotein dengan gugus prostetik FAD.



Gambar 97. *Ferredoxin (Fd)*
(Stryer *et al.*, 2007:553)

FAD menerima dua elektron dan dua proton dari dua molekul *ferredoxin* tereduksi untuk membentuk FADH₂. Enzim kemudian mentransfer ion hidrida (H⁻) ke NADP⁺ untuk membentuk NADPH. Reaksi ini terjadi pada sisi stroma dari membran. Oleh karena itu, pengambilan sebuah proton pada reduksi NADP⁺ selanjutnya berkontribusi pada gradien proton melewati membran *thylakoid*. Struktur *ferredoxin-NADP⁺ reductase* dimuat pada Gambar 98.A. Enzim ini menerima elektron satu demi satu dari *ferredoxin* (orange). *Ferredoxin-NADP⁺ reductase* menerima dua elektron dan dua proton dari dua molekul *ferredoxin* tereduksi untuk membentuk FADH₂, kemudian mentransfer dua elektron dan satu proton ke NADP⁺ untuk membentuk NADPH (Gambar 98.B). Persamaan reaksi yang dikatalisis oleh *Ferredoxin-NADP⁺ reductase* (FNR) adalah

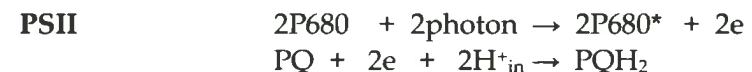


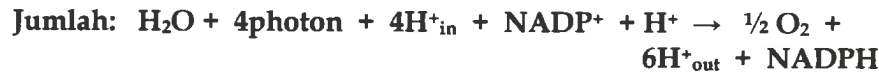
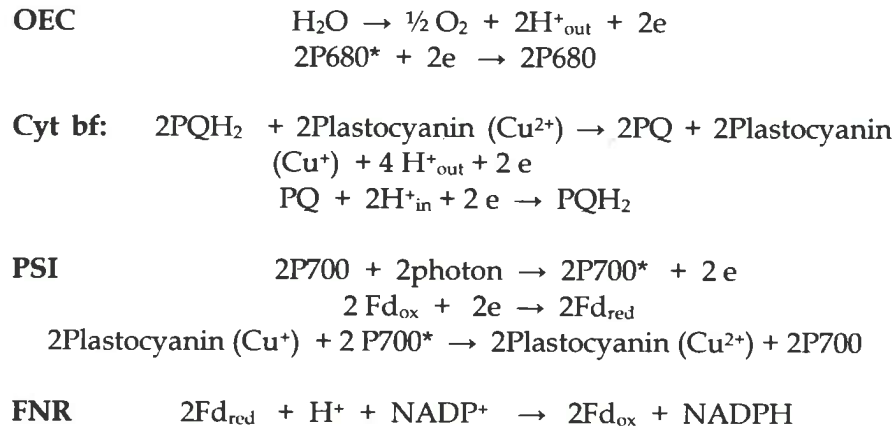
Gambar 98. (A) Struktur *Ferredoxin-NADP⁺ reductase* berinteraksi dengan *Ferredoxin*. (B) Reaksi Redoks Fd_{red} dengan NADP⁺
(Stryer *et al.*, 2007:553)

F. Deretan Reaksi pada Reaksi Terang

Tidak seperti NADH (donor elektron utama pada fosforilasi oksidatif), H₂O adalah donor elektron yang sangat rendah dengan potensial reduksi standar 0,816 Volt dibandingkan NADH -0,320 Volt. Oleh sebab itu, perlu input energi dalam bentuk cahaya untuk menjadikan H₂O sebagai donor elektron yang baik. Input energi cahaya ini diterima oleh P680 pada PSII dan P700 pada PSI. Kerjasama antara *photosystem I* dan *photosystem II* menimbulkan aliran elektron dari H₂O ke NADP⁺ pada reaksi terang fotosintesis.

Reaksi terang terdiri dari dua bagian yang berbeda dengan dua *photosystem* yang berhubungan. Satu bagian reaksi adalah reduksi NADP⁺ ke NADPH yang terjadi pada PSI. Bagian reaksi yang kedua adalah oksidasi H₂O menghasilkan O₂ yang terjadi pada PSII. Pada kedua *photosystem* terjadi reaksi redoks (transfer elektron). Kedua *photosystem* berinteraksi satu sama lain melalui rantai transport elektron yang menghubungkan kedua *photosystem* ini. Deretan reaksi pada reaksi terang fotosintesis akibat kerjasama *photosystem I* dan *photosystem II* tersebut adalah

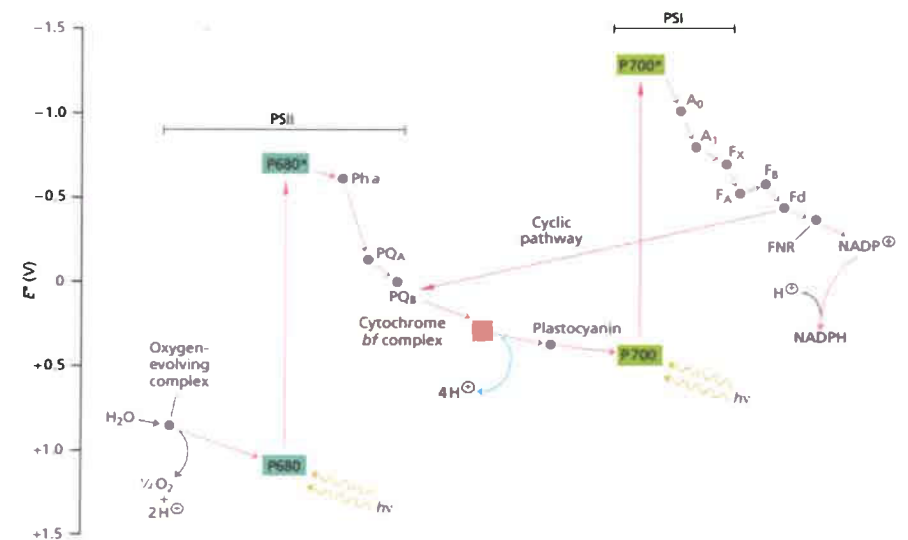




Apa arti persamaan reaksi ini? Untuk setiap penyerapan dua *photon* (satu *photon* untuk masing-masing *photosystem*), satu elektron ditransfer dari H₂O ke NADP⁺. Dengan kata lain, untuk membentuk satu molekul O₂ dibutuhkan transfer empat elektron dari dua molekul H₂O ke dua NADP⁺ dengan total delapan *photon* harus diserap (empat untuk masing-masing *photosystem*).

Jalur aliran elektron dari molekul H₂O ke NADP⁺ dinamakan **skema Z fotosintesis** karena diagram redoks dari P680 ke P700* seperti "huruf Z". Skema Z menggambarkan rute lengkap aliran elektron dari H₂O ke NADP⁺. Skema Z juga memperlihatkan kenaikan/penurunan potensial reduksi selama reaksi terang fotosintesis. Skema Z fotosintesis pada *Cianobacteria* dimuat pada Gambar 99. Pada Gambar 99, Ph a adalah *pheophytin a* yaitu aseptor elektron dari P680, A₀ adalah klorofil-a yaitu aseptor elektron utama dari P700, A₁ adalah *phylloquinone*, sedangkan F_x, F_B, F_A adalah *iron-sulfur clusters*. Energi cahaya diserap oleh pigmen *special pair* P680 dan P700. Penyerapan ini mengubah molekul menjadi zat pereduksi yang kuat yang diperlihatkan oleh penurunan besar potensial reduksi standar (sumbu y). Jalur ini juga memperlihatkan stoikiometri sepasang elektron ditransfer dari satu molekul H₂O ke NADP⁺.

Aliran elektron dari PSII melalui kompleks *Cytochrome b₆f*, kemudian melalui PSI ke NADP⁺ dinamakan **aliran elektron nonsiklik** untuk membedakannya dengan **aliran elektron siklik**. Jalur non-siklik menghasilkan NADPH dan gradien proton yang digunakan untuk mendorong sintesis ATP. Aliran elektron siklik hanya melibatkan PSI tidak PSII. Elektron yang mengalir dari P700 pada PSI ke *ferredoxin* tidak dilanjutkan ke NADP⁺, tetapi kembali melalui kompleks *Cytochrome b₆f* ke *plastocyanin*. *Plastocyanin* kemudian memberikan elektron ke P700 dan mentransfernya kembali ke *ferredoxin*. Pada cara ini, elektron diresiklik kembali ke kompleks *Cytochrome b₆f* dan reaksi senter PSI. Setiap aliran elektron siklik menyerap satu *photon* energi. Dengan demikian, aliran elektron siklik ini tidak diiringi pembentukan NADPH.



Gambar 99. Skema Z Fotosintesis (Moran et al., 2012:456)

Bagaimanapun juga, aliran elektron siklik menghasilkan pemompaan proton oleh kompleks *Cytochrome b₆f* yang mengakibatkan fosforilasi ADP ke ATP. Peristiwa ini disebut **foto-fosforilasi siklik** (*cyclic photophosphorylation*). Persamaan reaksi

keseluruhan untuk aliran elektron siklik dan *photophosphorilation* adalah



Regulasi pembagian elektron antara reduksi NADP⁺ dan *cyclic photophosphorylation* suatu tumbuhan diatur oleh ratio ATP dan NADPH yang dihasilkan pada reaksi terang untuk dicocokkan dengan keperluan pada reaksi asimilasi-karbon (reaksi gelap) dan proses biosintesis lainnya. Reaksi asimilasi-karbon membutuhkan ATP dan NADPH dengan perbandingan 3:2.

G. Sintesis ATP pada Fotofosforilasi

Pada BAB metabolisme karbohidrat subbab fosforilasi oksidatif telah dijelaskan bahwa aliran elektron disertai transfer proton melewati pembawa elektron membran mengakibatkan dihasilkan gradien kimia (ΔpH) dan gradien elektrik ($\Delta\psi$). Gradien kimia (gradien proton) mendorong fosforilasi ADP menghasilkan ATP. Pada kloroplast aliran elektron terjadi akibat *photosystime* menyerap cahaya. Oleh sebab itu, fosforilasi ADP dinamakan fotofosforilasi. Mekanisme fotofosforilasi untuk produksi ATP di kloroplas adalah persis sama dengan fosforilasi oksidatif untuk produksi ATP pada mitokondria.

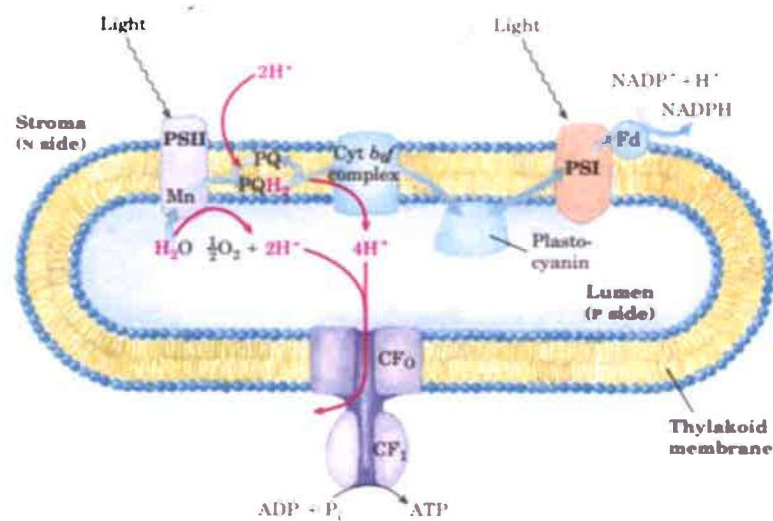
Sintesis ATP pada mitokondria dan kloroplas didasarkan pada hipotesis yang telah diperkenalkan oleh Peter Mitchell pada tahun 1961 yaitu perbedaan konsentrasi proton pada transmembran (matriks mitokondria dengan ruang *intermembrane*; lumen *thylakoid* dengan stroma kloroplast) adalah "gudang" energi yang diekstrak dari reaksi oksidasi biologi. Pada tahun 1966 Andre Jagendorf memperlihatkan bahwa gradien pH pada membran *thylakoid* (pH tinggi di stroma, pH rendah di lumen) merupakan tenaga pendorong untuk menghasilkan ATP. Hipotesis tersebut sekarang dikenal sebagai teori *chemiosmotic*. Menurut teori ini energi elektrokimia tidak dapat dipisahkan dengan perbedaan konsentrasi proton.

Pada kenyataannya beberapa bukti kuat untuk kopling *chemiosmotic* dari fotofosforilasi akibat transfer elektron yang menghasilkan gradien proton telah diperoleh dari eksperimen pada

kloroplas. Kloroplas dapat mensintesis ATP dari ADP dan P_i pada 'gelap' jika pada kloroplas tersedia gradien pH. Jika kloroplas yang terisolasi dimungkinkan setimbang pada bufer pH4 beberapa jam, maka pH internalnya akan sama dengan 4. Jika pH bufer dinaikkan 8 dengan cepat dan jika ADP dan P_i ditambahkan secara serempak maka ATP akan dihasilkan. Produksi ATP tidak membutuhkan hadirnya cahaya. Gradien proton menyediakan tenaga pendorong untuk fosforilasi ADP. Eksperimen ini merupakan bukti kuat mekanisme kopling *chemiosmotic* yang sekarang dikenal sebagai teori *chemiosmotic*.

Beberapa reaksi berkontribusi menghasilkan gradien proton pada kloroplas. Oksidasi air melepaskan H⁺. H⁺ memasuki ruang *thylakoid*. Transport elektron dari PSII dan PSI juga membantu menghasilkan gradien proton. PSI mereduksi NADP⁺ menggunakan H⁺ dalam stroma untuk menghasilkan NADPH. Sebagai akibatnya pH ruang *thylakoid* lebih rendah dari pada stroma (Gambar.100). Kita melihat hal yang mirip seperti pada BAB 2 metabolisme karbohidrat yaitu diskusi tentang pemompaan proton dari matriks mitokondria ke ruang intermembran sehingga pH naik. Keadaan ini mendorong terjadinya fosforilasi ADP membentuk ATP pada matriks mitokondria yang dikenal sebagai fosforilasi oksidatif.

Fosforilasi oksidatif dan fotofosforilasi adalah mirip pada tiga aspek yaitu (1) kedua proses melibatkan aliran elektron melewati sederetan pembawa yang terikat pada membran, (2). Energi bebas dibuat dari aliran elektron yang dikopel dengan transport proton melewati membran impermeable-proton, yang ditampung sebagai potensial elektrokimia transmembran, (3) Aliran proton ke konsentrasi yang lebih rendah melewati *channel* protein spesifik menyediakan energi bebas untuk mensintesis ATP. Sintesis ATP dikatalisis oleh kompleks protein membran *ATP synthase* kloroplas yang mengkopel aliran proton dengan fosforilasi ADP membentuk ATP (Gambar 100). *ATP synthase* pada kloroplas adalah mirip dengan *ATP synthase* mitokondria yaitu enzim yang terdiri dari dua domain yaitu CF₁ dan CF₀ dimana C untuk membedakan dengan *ATP synthase* mitokondria yaitu F₁ dan F₀. Mekanisme pembentukan ATP dari ADP dan P_i yang dikatalisis oleh *ATP synthase* kloroplas identik dengan *ATP synthase* mitokondria.



Gambar 100. Perjalanan Elektron dan Proton pada Membran *Thylakoid* (Nelson *et al.*, 2013:759)

Kombinasi aktivitas PSII dan PSI tumbuhan memindahkan elektron dari H₂O ke NADP⁺ dan menghasilkan sejumlah energi yang diserap sebagai NADPH. Secara serempak proton dipompa melewati membran *thylakoid* dan energi diubah sebagai potensial elektrokimia. Proses ini menghasilkan gradien proton yang mendorong sintesis ATP sebagai produk penyimpanan energi lainnya pada reaksi terang (reaksi tergantung cahaya). Dengan demikian sederetan reaksi redoks (transfer elektron) pada reaksi terang dikopel dengan fosforilasi dari ADP ke ATP di dalam proses yang dinamakan **fotofosforilasi** (*photophosphorylation*).



Pada tahun 1954 Daniel Arnon dan koleganya menemukan bahwa ATP dihasilkan dari ADP dan P_i selama transfer elektron fotosintetik pada kloroplas bayam yang disinari. Dukungan dari

penemuan ini berasal dari kerja Albert Frenkel yang mendeteksi produk ATP tergantung-cahaya pada struktur membran mengandung pigmen yang dinamakan *chromatophore* yang berasal dari bakteri fotosintetik. Penelitian menyimpulkan bahwa beberapa energi cahaya ditangkap sistem fotosintetik dari organisme ini ditransfer ke energi ikat fosfat pada ATP. Proses ini dinamakan **fotofosforilasi** untuk membedakan **fosforilasi oksidatif** pada respirasi mitokondria. Beberapa sifat transfer elektron fotosintetik dan fotofosforilasi pada kloroplas menunjukkan bahwa gradien proton memainkan peranan yang sama seperti fosforilasi oksidatif di mitokondria.

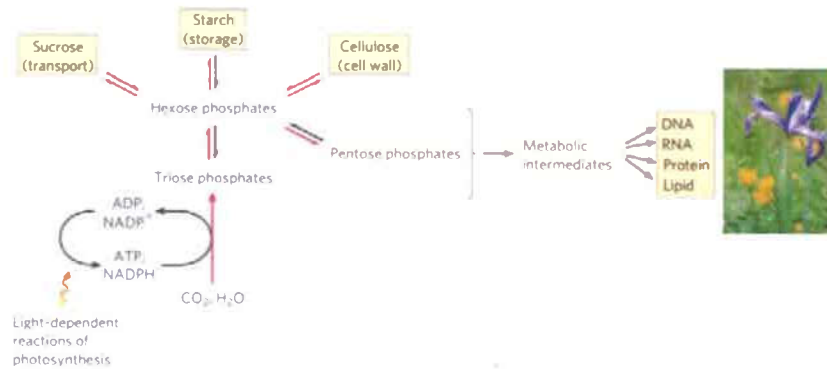
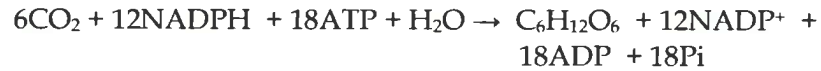
Fotofosforilasi dapat diblok oleh *venturicidin* dan zat-zat yang mirip yang menghambat pembentukan ATP dari ADP dan P_i pada mitokondria. Sintesis ATP dikatalisis oleh kompleks *ATP synthase* CF₀CF₁ yang berlokasi pada membran *thylakoid* yang struktur dan fungsinya sangat mirip dengan kompleks *ATP synthase* F₀F₁ mitokondria. ATP dan NADPH yang dihasilkan pada reaksi terang fotosintesis menyediakan energi dan tenaga pereduksi untuk fiksasi CO₂.

H. Fiksasi CO₂ : Siklus Calvin

Pada BAB 4 (metabolisme karbohidrat), glukosa dapat dibentuk dari prekursor non karbohidrat seperti laktat dan asam amino melalui jalur glukoneogenesis. Energi untuk jalur glukoneogenesis berasal dari proses katabolisme. Organisme fotosintetik dapat menggunakan siklus Calvin untuk mensintesis glukosa dari CO₂ dan air dengan menggunakan cahaya matahari sebagai sumber energi. Siklus Calvin mengantarkan ke kehidupan semua atom karbon yang akan digunakan sebagai bahan bakar dan sebagai tulang punggung karbon biomolekul.

Senyawa penyimpan karbohidrat yang dihasilkan dari CO₂ pada fotosintesis bukan glukosa melainkan disakarida (seperti sukrosa pada gula tebu dan gula beet) dan polisakarida (pati, inulin). Senyawa lain yang dibentuk adalah selulosa dan senyawa *pentose phosphate*. *Pentose phosphate* merupakan prekursor sintesis DNA, RNA, protein dan lipid. Jalur asimilasi CO₂ masuk ke biomassa tumbuhan dimuat pada Gambar 101. Pada jalur ini, fiksasi CO₂

membentuk *triose phosphate* yang merupakan prekursor semua senyawa yang mengandung karbon pada tumbuhan. Persamaan reaksi total pembentukan glukosa dari CO₂ sebagai berikut



Gambar 101. Asimilasi CO₂ Masuk ke Biomassa pada Tumbuhan
(Nelson *et al.*, 2013:800)

Jalur reaksi pembentukan glukosa dari CO₂ mempunyai beberapa deretan reaksi yang terdapat pada jalur glikolisis dan jalur pentosa phosphate. Fiksasi CO₂ dan sintesis glukosa terjadi dalam sitoplasma pada bakteri dan di dalam stroma kloroplas pada tumbuhan. Jalur biosintesis karbohidrat tersebut merupakan sederetan reaksi siklik dengan tiga tingkatan utama yaitu, Fiksasi, Reduksi dan Regenerasi.

Jalur dimulai dari asimilasi tiga molekul karbondioksida karena intermediet karbon paling kecil dalam siklus Calvin adalah sebuah molekul C₃. Oleh sebab itu, tiga molekul CO₂ harus difiksasi sebelum satu unit C₃ (*glyceraldehyde 3-phosphate*) dapat dipindahkan dari siklus tanpa mengurangi kadar metabolik. Jalur metabolik pemasukan CO₂ ke karbohidrat atau asimilasi karbon mempunyai beberapa nama seperti siklus pentosa fosfat reduktif, jalur C₃ karena intermediet pertama pada siklus adalah molekul tiga-karbon dan siklus Calvin. Pada buku ini selanjutnya disebut siklus Calvin. Siklus ini ditemukan

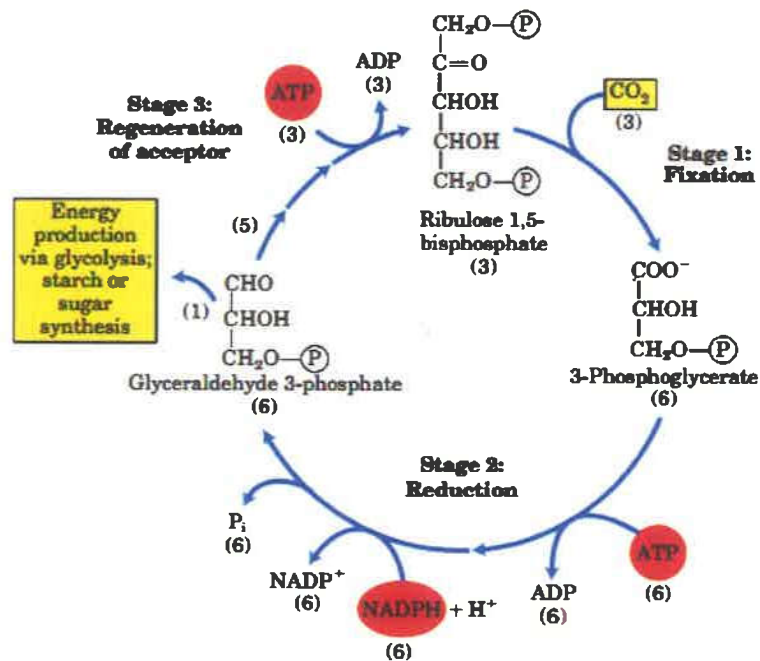
oleh Melvin Calvin. Siklus Calvin dipecahkan antara tahun 1946 sampai dengan 1953 oleh Melvin Calvin, James Bassham dan Andrew Benson. Melvin Calvin memperoleh hadiah nobel pada tahun 1961 dalam bidang kimia.

Siklus Calvin dibagi atas tiga tahap (Gambar 102). Tahap pertama siklus Calvin adalah Fiksasi dimana karboksilasi *ribulose-1,5-bisphosphate*, suatu reaksi yang dikatalis oleh enzim *ribulose 1,5 bisphosphate carboxylase (oxygenase)* yang lebih dikenal sebagai **Rubisco**. Reaksi ini merupakan reaksi fiksasi-karbon yaitu kondensasi CO₂ dengan aseptor lima-karbon, *ribulose-1,5-bisphosphate* membentuk dua molekul *3-phosphoglycerate*. Tahap kedua adalah tahap reduksi dimana *3-phosphoglycerate* dikonversi ke *glyceraldehyde-3-phosphate*. Kebanyakan *glyceraldehyde-3-phosphate* dikonversi menjadi *ribulose 1,5-bisphosphate* pada tahap ketiga. Beberapa *glyceraldehyde 3-phosphate* yang dihasilkan digunakan pada jalur sintesis karbohidrat seperti pada jalur sintesis glukosa atau dilanjutkan pada sintesis pati. *Glyceraldehyde 3-phosphate* adalah produk utama siklus Calvin. Pada tahap ke-3, 5 dari 6 molekul *Glyceraldehyde 3-phosphate* digunakan untuk menghasilkan 3 molekul *ribulose 1,5-bisphosphate*, sebagai zat pemula siklus. Secara keseluruhan, 3 molekul CO₂ difiksasi ke 3 molekul *ribulose 1,5-bisphosphate* membentuk 6 molekul *glyceraldehyde 3-phosphate*.

Asimilasi CO₂ terjadi dalam tiga tahap

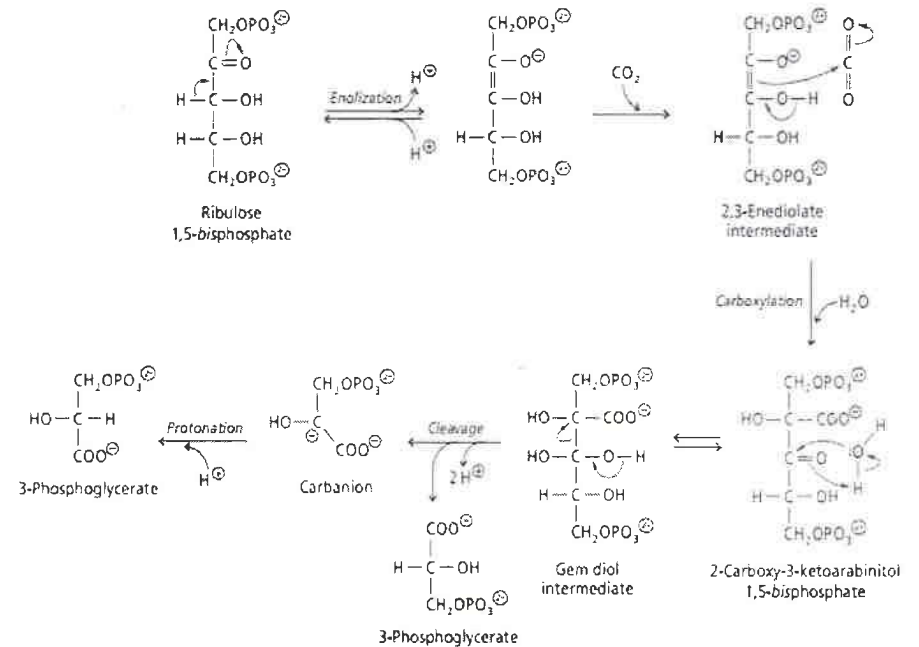
Tahap 1 : Fiksasi CO₂ ke 3-Phosphoglycerate

Penemuan *3-Phosphoglycerate* sebagai intermediet awal berasal dari penemuan Calvin dan teman sejawatnya pada akhir tahun 1940an. Calvin mengiluminasi suspensi alga hijau dengan karbondioksida radioaktif (¹⁴CO₂) beberapa detik kemudian dengan cepat sel dilisis dan kandungannya diekstrak. Dengan metoda kromatografi ditentukan metabolit yang dilabel pertamakali muncul. Senyawa yang pertama dilabel adalah *3-Phosphoglycerate* dengan ¹⁴C terletak pada atom karbon *carboxyl*. Eksperimen ini dengan kuat mengusulkan bahwa *3-Phosphoglycerate* adalah intermediet awal pada fotosintesis. Tanaman yang mempunyai senyawa tiga-karbon ini sebagai intermediet pertamanya dinamakan tumbuhan C₃.



Gambar 102. Siklus Calvin
(Nelson et al., 2013:462)

Enzim yang mengkatalisis biokonversi CO_2 ke senyawa organik ribulose-1,5-bisphosphate adalah ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (disingkat Rubisco). Rubisco adalah enzim kunci pada siklus Calvin. Enzim ini mengkatalisis fiksasi CO_2 atmosfer masuk ke senyawa karbon. Reaksi ini melibatkan karboksilasi dari gula lima-karbon, ribulose-1,5-bisphosphate oleh CO_2 menghasilkan dua molekul tiga-karbon, 3-phosphoglycerate. Mekanisme reaksi oleh Rubisco diperlihatkan pada Gambar 103. Rubisco mengkatalisis pembentukan ikatan kovalen dari CO_2 ke gula lima-karbon, ribulose-1,5-bisphosphate dan memutuskan intermediet 6-karbon (2-carboxy-3-ketoribitol-1,5-bisphosphate) yang tidak stabil ke dua molekul 3-phosphoglycerate dimana satu 3-phosphoglycerate mengandung atom karbon dari CO_2 pada gugus karboksilnya.



Gambar 103. Mekanisme Karboksilasi Berkatalisis Rubisco pada Ribulose-1,5 Biphosphate ke Bentuk Dua Molekul 3-Phosphoglycerate
(Nelson et al., 2013:463)

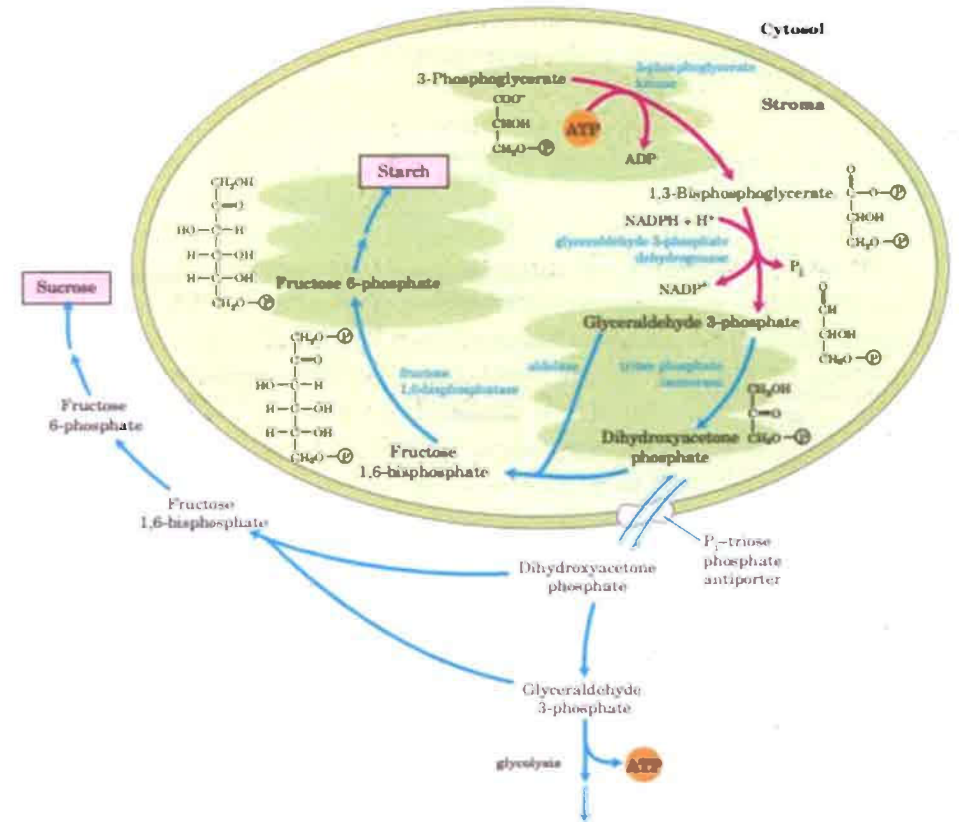
Rubisco terdiri dari sekitar 50% protein yang larut di dalam kloroplas daun tumbuhan dan satu dari enzim yang paling melimpah di bumi. Yang menarik adalah pada kenyataan enzim ini sangat tidak efisien dengan bilangan turnover rendah yaitu sekitar 3 s^{-1} yaitu hanya tiga molekul CO_2 difiksasi perdetik permolekul Rubisco pada suhu 25°C . Ini dapat diartikan bahwa sejumlah besar enzim dibutuhkan untuk mendukung fiksasi CO_2 . Ada dua bentuk Rubisco yang berbeda yaitu bentuk I yang ditemui di tumbuhan, alga dan Cyanobacteria, sedangkan bentuk II ditemukan pada bakteri fotosintetik tertentu. Rubisco tumbuhan adalah enzim penting untuk produksi biomassa dari CO_2 yang mempunyai struktur kompleks

bentuk I dengan delapan subunit besar yang identik (M_r 53.000) yang masing-masing mengandung sisi katalitik dan delapan subunit kecil yang identik (M_r 14.000) yang fungsinya belum diketahui. Bentuk II Rubisco bakteri fotosintetik adalah struktur sederhana yang mempunyai dua subunit yang mirip dengan subunit besar dari enzim tumbuhan.

Tahap 2: Konversi 3-Phosphoglucerate ke Glyceraldehyde 3-P

3-Phosphoglucerate yang terbentuk pada tahap 1 dikonversi ke Glyceraldehyde-3-phosphate dalam dua reaksi esensial yang berlawanan dengan reaksi pada jalur glikolisis. Kofaktor nukleotida untuk reduksi 1,3-bisphosphoglycerate lebih disukai NADPH daripada NADH (Gambar 104). Ketika Glyceraldehyde-3-phosphate dibentuk, Glyceraldehyde-3-phosphate mempunyai dua alternatif jalur yaitu ke produksi gula 6-karbon dan ke regenerasi ribulose-1,5-bisphosphate. Stroma kloroplast mengandung semua enzim yang diperlukan jalur glikolisis kecuali *phosphoglycerate mutase*. Enzim stroma dan sitosol adalah *isozymes*: keduanya kumpulan enzim yang mengkatalisis reaksi yang sama, tetapi diproduksi dari gen yang berbeda.

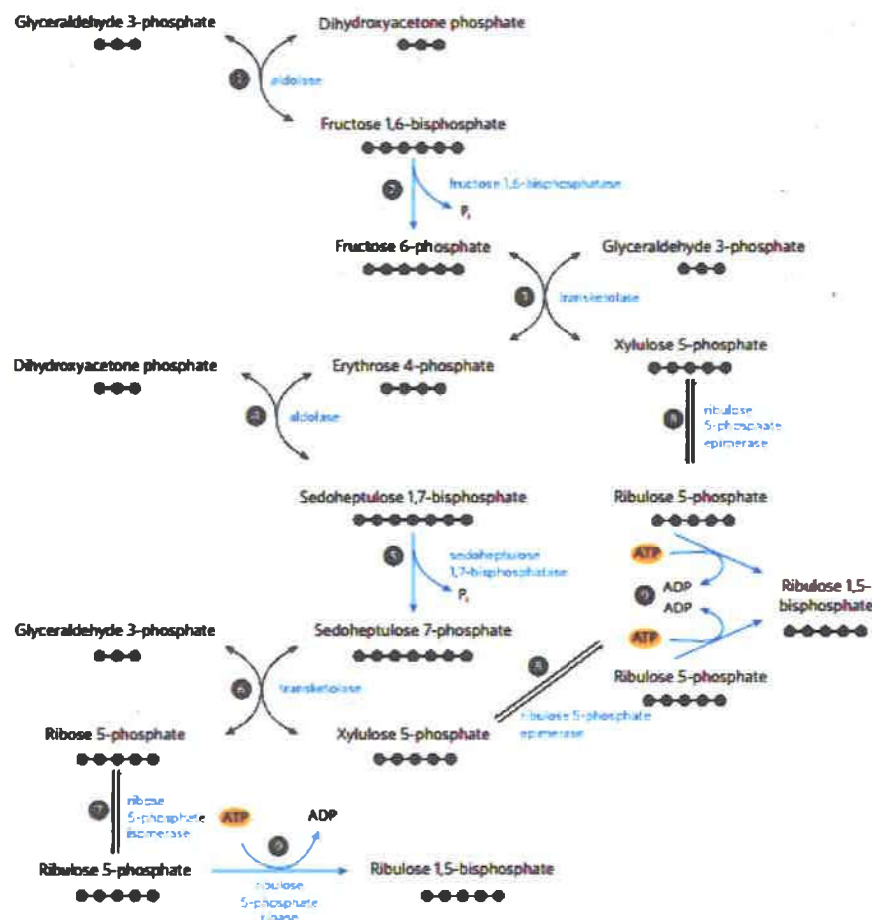
Langkah pertama tahap 2, *3-phosphoglycerate kinase* mengkatalisis pemindahan gugus *phosphoril* dari ATP ke 3-*phosphoglycerate* menghasilkan 1,3-bisphosphoglycerate. Berikutnya NADPH memberikan elektronnya pada penerima elektron (zat yang direduksi) yang dikatalisis oleh *isozyme* kloroplas-spesifik *glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase* menghasilkan *glyceraldehyde-3-phosphate* dan P_i . *Triose phosphate isomerase* kemudian mengkatalisis reaksi isomerasi *glyceraldehyde-3-phosphate* dan *dihydroxyacetone phosphate*. *Glyceraldehyde-3-phosphate* bereaksi dengan *dihydroxyacetone phosphate* membentuk *fructose-6-phosphate* selanjutnya ke glukosa (jalur glukoneogenesis). Kebanyakan *triose phosphate* yang terbentuk digunakan untuk menghasilkan *ribulose-1,5-bisphosphate*, sisanya dikonversi ke pati di dalam kloroplas dan disimpan untuk kemudian digunakan atau segera ditransport ke sitosol dan diubah ke sukrosa. Perkembangan daun signifikan dengan porsi *triose phosphate* yang didegradasi pada jalur glikolisis untuk menyediakan energi.



Gambar 104. Tahap ke-2 Asimilasi CO₂ (Nelson et al., 2013:779)

Tahap 3: Regenerasi Ribulose 1,5-Biphosphate dari Triose Phosphate

Reaksi pertama asimilasi CO₂ ke *triose phosphate* menggunakan *ribulose-1,5-bisphosphate* dan selanjutnya memasuki karbohidrat. Produk asimilasi pertama (3-*phosphoglycerate*) mengalami sederetan transformasi menghasilkan *ribulose-1,5-bisphosphate* kembali. Intermediet pada jalur ini adalah gula tiga-, empat-, lima-, enam-, dan tujuh-karbon (Gambar 105).



Gambar 105. Tahap ke-3 Asimilasi CO₂
(Nelson et al., 2013:806)

Reaksi 1 dan 4 dikatalisis oleh enzim yang sama yaitu *aldolase*. Pada **reaksi 1**, *aldolase* mengkatalisis kondensasi reversibel *glyceraldehyde-3-phosphate* dengan *dihydroxyacetone phosphate* menghasilkan *fructose-1,6-bisphosphate*. Pada **reaksi 2**, Pi dilepaskan dari *fructose-1,6-bisphosphate* menjadi *fructose-6-phosphate* dikatalisis oleh *fructose-1,6-bisphosphatase* (FBPase-1). Reaksi ini adalah eksergonik kuat dan irreversibel. **Reaksi 3** dikatalisis oleh

transketolase yang mengandung *thiamine pyrophosphate* (TPP) sebagai gugus prostetik dan membutuhkan Mg²⁺. *Transketolase* mengkatalisis transfer reversibel gugus ketol 2-karbon (CH₂OH—CO—) dari donor *ketose phosphate*, *fructose-6-phosphate* ke aseptor *aldose phosphate*, *glyceraldehyde-3-phosphate* membentuk *pentose xylulose-5-phosphate* dan *tetrose erythrose-4-phosphate*.

Reaksi 4, *aldolase* mengkatalisis kombinasi *erythrose-4-phosphate* dengan *dihydroxyacetone phosphate* membentuk 7-karbon *sedoheptulose-1,7-bisphosphate*. Sebuah enzim yang unik, *sedoheptulose-1,7-bisphosphatase* merubah *bisphosphate* ke *sedoheptulose-7-phosphate* (**reaksi 5**). Pada **reaksi 6**, *transketolase* mengubah *sedoheptulose-7-phosphate* dan *glyceraldehyde-3-phosphate* ke dua *pentose phosphate*. *Pentose phosphate* yang terbentuk pada reaksi *transketolase*, *ribose-5-phosphate* dan *xylulose-5-phosphate* diubah ke *ribulose-5-phosphate* (**reaksi 7 dan 8**). Pada **reaksi 9**, *ribulose-5-phosphate* difosforilasi ke *ribulose-1,5-bisphosphate* oleh *ribulose-5-phosphate kinase*. Dengan demikian *ribulose-1,5-bisphosphate* terbentuk kembali.

Gambar 104 memperlihatkan semua reaksi (15 reaksi) pada siklus Calvin. *Fructose-6-phosphate* adalah kunci intermediet dari asimilasi CO₂. Zat ini adalah titik cabang yang dapat menuju ke regenerasi *ribulose-1,5-bisphosphate* (RUBP) atau untuk sintesis glukosa terus ke pati. Deretan reaksi pada siklus Calvin (reaksi 1 sampai dengan reaksi 15) menuju ke pembentukan molekul glukosa dan pembentukan RuBP kembali.

1. $6 \text{ CO}_2 + 6 \text{ H}_2\text{O} + 6 \text{ RuBP} \rightarrow 12 \text{ 3-PG}$
2. $12 \text{ 3-PG} + 12 \text{ ATP} \rightarrow 12 \text{ 1,3-BPG} + 12 \text{ ADP}$
3. $12 \text{ 1,3-BPG} + 12 \text{ NADPH} \rightarrow 12 \text{ NADP}^+ + 12 \text{ G-3-P} + 12 \text{ Pi}$
4. $5 \text{ G-3-P} \rightarrow 5 \text{ DHAP}$
5. $3 \text{ G-3-P} + 3 \text{ DHAP} \rightarrow 3 \text{ FBP}$
6. $3 \text{ FBP} + 3 \text{ H}_2\text{O} \rightarrow 3 \text{ F-6-P} + 3 \text{ Pi}$
7. $1 \text{ F-6-P} \rightarrow 1 \text{ G-6-P}$
8. $1 \text{ G-6-P} + 1 \text{ H}_2\text{O} \rightarrow 1 \text{ Glucose} + 1 \text{ Pi}$

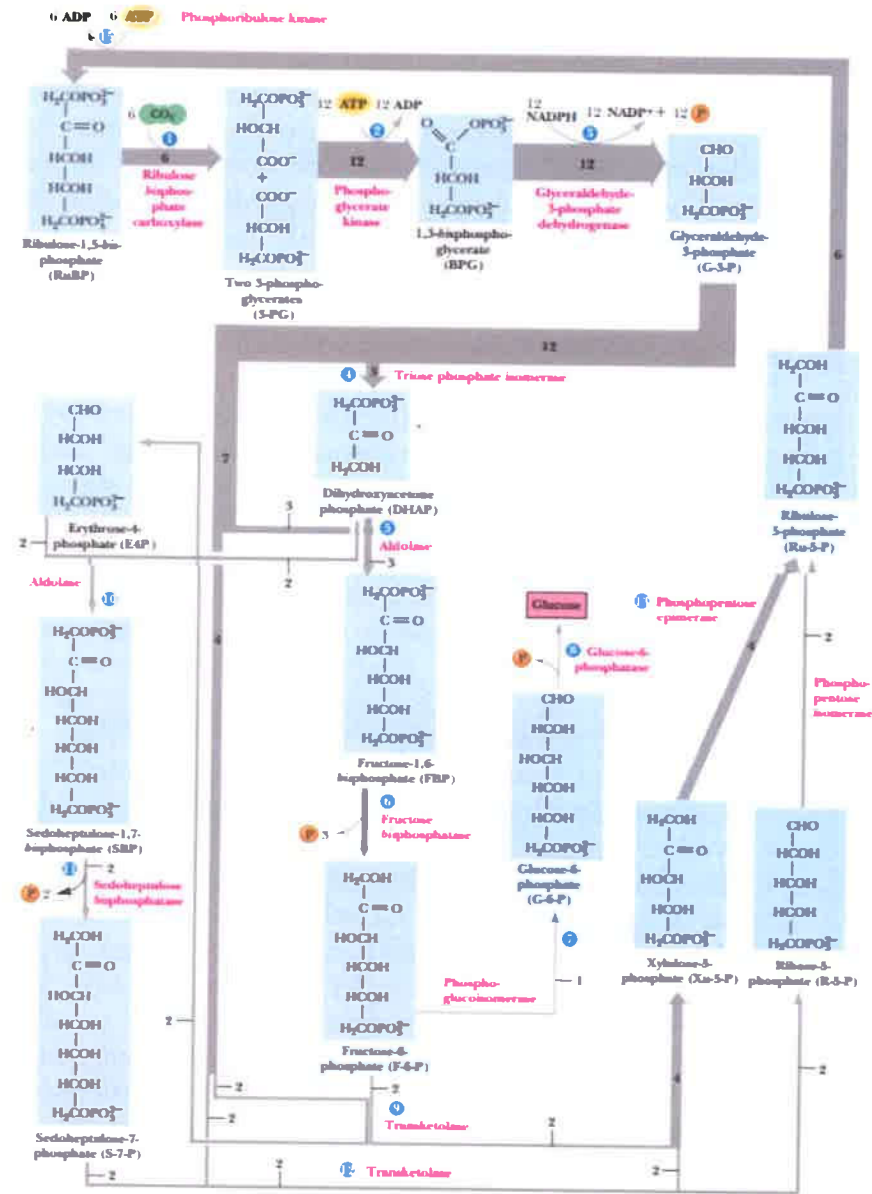
9. $2 F-6-P + 2 G-3-P \rightarrow 2 Xu-5-P + 2 E4P$
10. $2 E4P + 2 DHAP \rightarrow 2 SBP$
11. $2SBP + 2 H_2O \rightarrow 2 S-7-P + 2 Pi$
12. $2 S-7-P + 2 G-3-P \rightarrow 2 Xu-5-P + 2 R-5-P$
13. $4 Xu-5-P \rightarrow 4 Ru-5-P$
14. $2 R-5-P \rightarrow 2 Ru-5-P$
15. $6 Ru-5-P + 6 ATP \rightarrow 6 RuBP + 6 ADP$

Reaksi total siklus Calvin adalah sebagai berikut
 $6CO_2 + 18ATP + 12NADPH + 12H^+ + 12H_2O \rightarrow Glukosa + 18ADP + 18Pi + 12NADP^+$

I. Lintas Hatch-Slack

Beberapa spesies tumbuhan menghindari fotorespirasi yang boros dengan cara mempunyai jalur fiksasi karbon yang kedua. Efek jalur kedua ini adalah menaikkan konsentrasi CO₂ relatif terhadap O₂ di dalam sel dimana Rubisco aktif terhadap O₂. Salah satu jalur ini dinamakan jalur C₄. Nama jalur C₄ dinamakan demikian karena metabolit awal pada jalur ini adalah senyawa 4-karbon (*oxaloacetate*). Jalur ini dinamakan juga jalur Hatch-Slack (Gambar 107). Pada jalur Hatch-Slack terdapat siklus Calvin. Tumbuhan yang mempunyai jalur C₄ dinamakan tumbuhan C₄. Tumbuhan C₄ cenderung tumbuh pada suhu yang tinggi dengan intensitas cahaya yang tinggi. Tropis kaya cahaya, oleh sebab itu pada tumbuhan tropis banyak tumbuhan C₄. Tumbuhan C₄ termasuk spesies tumbuhan yang mempunyai nilai ekonomi tinggi seperti maizena (jagung), sorghum dan sugarcane. Penghindaran fotorespirasi oleh tumbuhan tropika adalah penting karena ratio oksigenasi dan karboksilasi oleh Rubisco naik terhadap suhu.

Jalur C₄ memekatkan CO₂ dan mengantarkan CO₂ ke sel selubung dimana siklus Calvin aktif. Jalur C₄ terjadi di dalam dua tipe sel yang berbeda yaitu sel mesofil dan sel selubung. Sel selubung mempunyai konsentrasi O₂ lebih rendah dibandingkan sel mesofil.



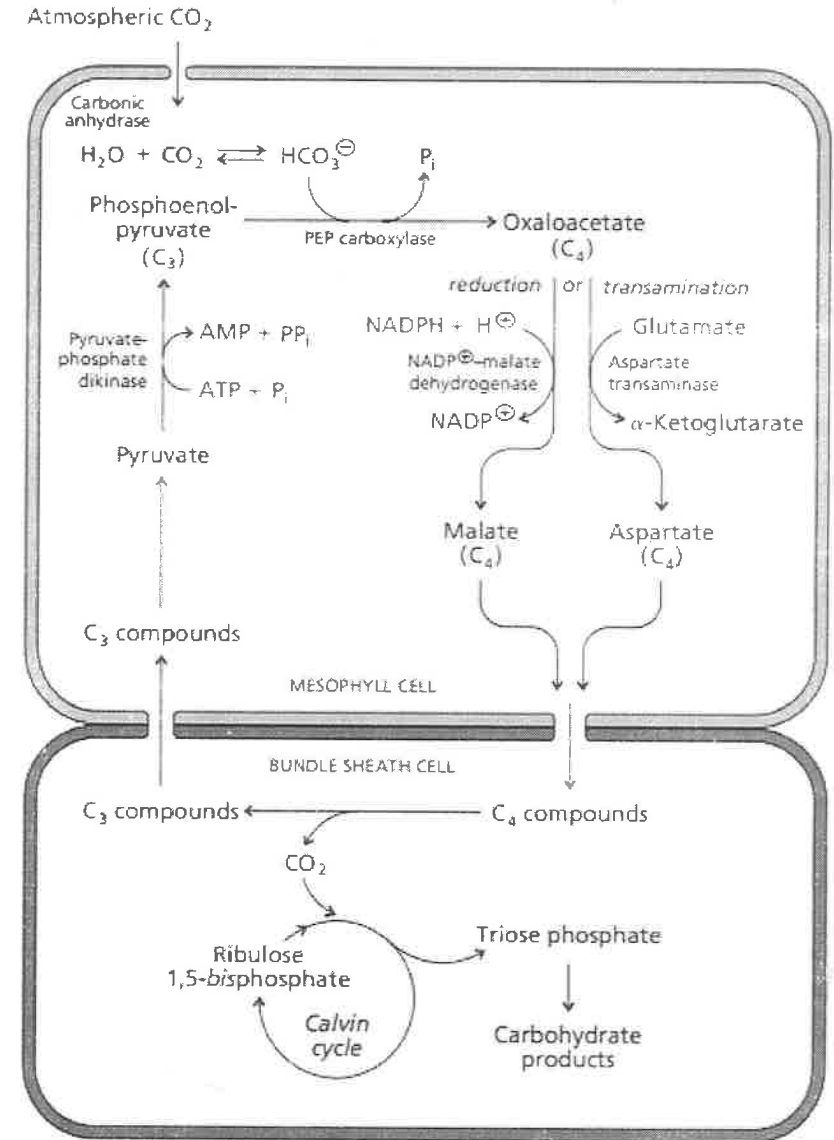
Gambar 106. Deretan Reaksi pada Siklus Calvin (Campbell et al., 2006:620)

Dinding sel internal sel selubung impermiabel untuk gas. Dekarboksilasi asam C₄ di dalam sel selubung menaikkan konsentrasi CO₂ dengan besar dan menciptakan ratio yang tinggi CO₂ terhadap O₂. Aktivitas *oxygenase* dari Rubisco diminimumkan karena ada jumlah yang tidak signifikan dari Rubisco di dalam sel mesofil dan ratio CO₂ dengan O₂ adalah ekstrim tinggi di dalam sel selubung. Sebagai akibatnya tumbuhan C₄ tidak mempunyai aktivitas fotorespirasi. Meskipun ada energi ekstra untuk membentuk *phosphoenolpyruvate* untuk asimilasi karbon C₄, ketiadaan fotorespirasi memberikan tumbuhan C₄ keuntungan dibandingkan tumbuhan C₃.

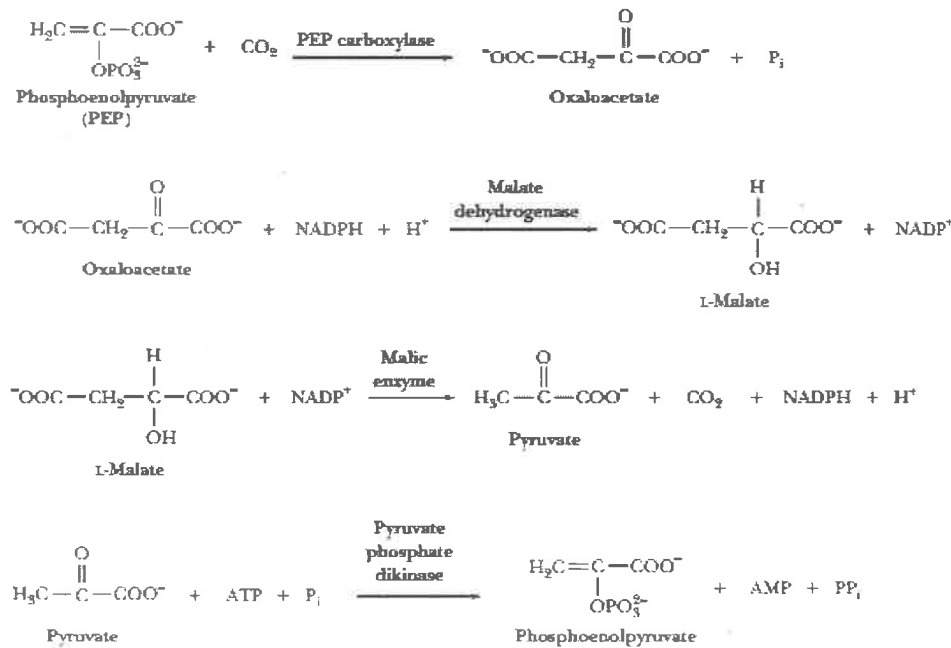
Pada jalur C₄, CO₂ di atmosfer memasuki sel *mesophyll*. CO₂ dihidrasi membentuk bikarbonat (HCO₃⁻) di dalam sitosol *mesophyll*. Bikarbonat bereaksi dengan *phosphoenol-pyruvate* yang dikatalisis oleh *phosphoenolpyruvate* (PEP) *carboxylase*, suatu enzim sitosol yang tidak mempunyai aktivitas *oxygenase* menghasilkan *oxaloacetate* dan Pi. *Oxaloacetate* direduksi ke *malate* dengan serempak NADPH teroksidasi. *Malate* kemudian ditransport ke lapisan berikutnya (sel selubung, *bundle-sheath cell*) melalui *cannel* yang menghubungkan dua jenis sel ini. Dalam sel selubung, *malate* didekarboksilasi menghasilkan *Pyruvate* dan CO₂. Pada proses ini NADP⁺ direduksi ke NADPH. CO₂ bereaksi dengan *ribulose-1,5-bisphosphate* untuk memasuki siklus Calvin. *Pyruvate* ditransport kembali ke sel *mesophyll*, dimana ia difosforilasi ke *phosphoenolpyruvate*, yang mana dapat bereaksi dengan CO₂ untuk memulai siklus berikutnya dari jalur C₄. Deretan reaksi siklus Calvin dimuat pada Gambar 106.

Ketika *pyruvate* difosforilasi, ATP dihidrolisis ke AMP dan P_{Pi}. Situasi ini menggambarkan kehilangan dua ikatan *phosphate* berenergi-tinggi yang ekuivalen dengan penggunaan 2 ATP. Sebagai akibatnya jalur C₄ membutuhkan dua lebih ATP dari pada siklus Calvin sendiri untuk setiap CO₂ dimasukkan ke glukosa. Meskipun lebih banyak ATP dibutuhkan pada jalur C₄ daripada siklus Calvin, ada cahaya yang berlimpah untuk menghasilkan ATP tambahan oleh reaksi cahaya pada fotosintesis.

Sebagai catatan jalur C₄ memfiksasi CO₂ dalam sel *mesophyll* hanya untuk tidak memfiksasi CO₂ di dalam sel selubung, dimana CO₂ kemudian memasuki jalur C₃. Hal ini menimbulkan pertanyaan.



Gambar 107. Lintas Hatch-Slack (Jalur C₄)
(Moran *et al.*, 2012:470)



Gambar 108. Reaksi Khas pada Jalur C₄
(Champbell *et al.*, 2006:624)

Apa keuntungan tumbuhan tropikal menggunakan jalur C₄? Menurut gambaran konvensional, jalur C₄ memekatkan CO₂ sebagai akibatnya mempercepat proses fotosintesis. Selain itu, daun-daun tanaman tropikal mempunyai pori-pori kecil untuk meminimumkan kehilangan air. Pori-pori daun yang kecil menurunkan CO₂ memasuki sel. Point lain adalah bahwa K_M untuk CO₂ dari *phosphoenolpyruvate carboxylase* lebih rendah dari Rubisco. Hal ini memungkinkan sel mesofil memfiksasi CO₂ pada konsentrasi yang rendah dan juga menaikkan gradien konsentrasi CO₂ melewati daun serta memfasilitasi pergerakan CO₂ masuk ke daun melewati pori. Pada daerah tropikal dimana cahaya melimpah jumlah CO₂ yang tersedia pada tanaman mengontrol kecepatan fotosintesis. Jalur C₄ berhubungan dengan situasi yang memungkinkan tumbuhan tropikal tumbuh lebih cepat, menghasilkan lebih banyak biomassa per unit daun daripada tumbuhan yang menggunakan jalur C₃.

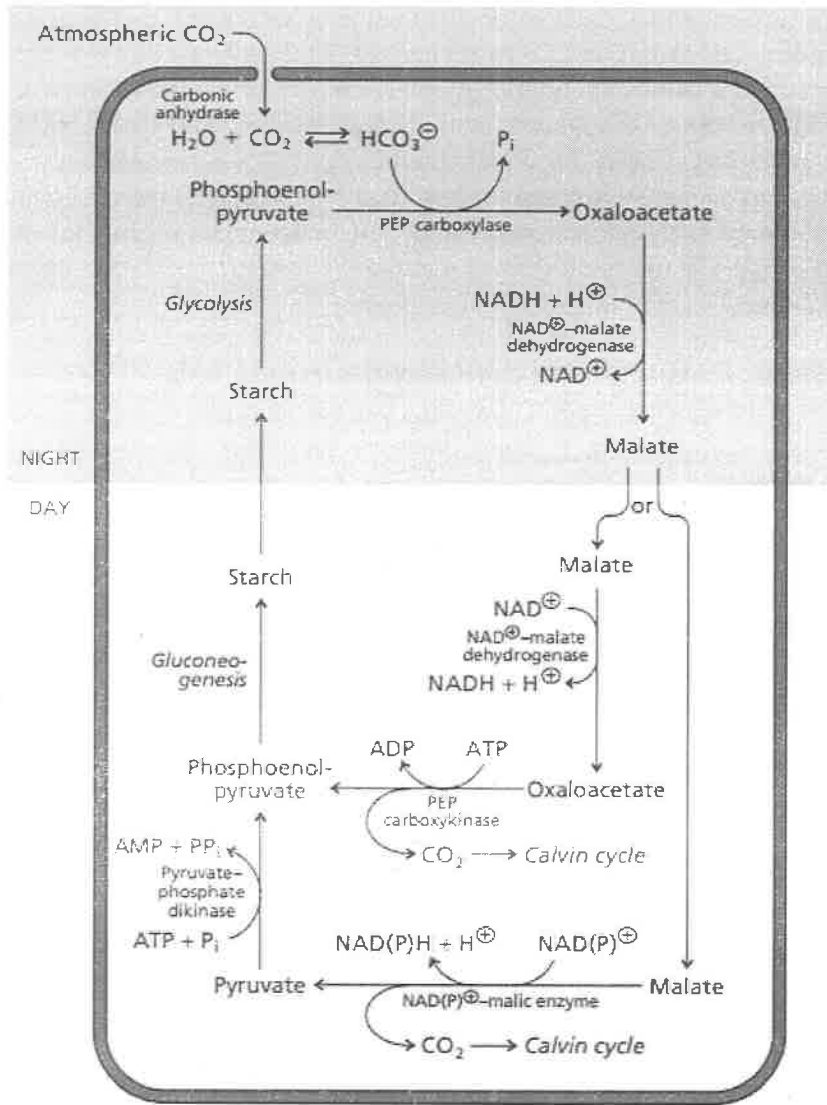
Ketika tingkat *ratio* O₂ tinggi dibandingkan CO₂, *ribulose-1,5-bisphosphate* dioksigenasi untuk menghasilkan *phosphoglycolate* (*glycolate*) dan *3-phosphoglycerate* oleh fotorespirasi. Reaksi ini terjadi pada tumbuhan C₃. Pada tumbuhan C₄, pori kecil daun menurunkan masuknya tidak hanya CO₂ tetapi juga O₂. Perbandingan CO₂ dengan O₂ pada sel selubung relatif tinggi sebagai akibat proses jalur C₄, akibatnya reaksi karboksilasi lebih disukai. Reaksi khas pada Jalur C₄ dimuat pada Gambar 108. Tumbuhan C₄ dengan sukses menurunkan aktivitas *oxygenase* Rubisco karena oleh ruangan *compartmentation* dan dengan demikian kurang perlu fotorespirasi. Ini adalah keuntungan pada iklim panas dimana tumbuhan C₄ terutama ditemukan.

J. Jalur *Crassulacean Acid Metabolism* (CAM)

Tumbuhan yang banyak airnya seperti kebanyakan spesies *cactus*, tumbuh terutama pada lingkungan panas dan kering dimana kehilangan air dapat menjadi masalah serius. Sejumlah besar air dapat hilang dari jaringan tumbuhan selama fiksasi karbon karena sel harus dibiarkan tanpa perlindungan dari CO₂ atmosfer dan air dapat menguap dari permukaan jaringan. Tumbuhan ini meminimumkan kehilangan air selama fotosintesis dengan asimilasi karbon pada malam hari. Jalur ini dinamakan *Crassulacean acid metabolism* (CAM) karena jalur ini pertamakali ditemukan pada famili *Crassulaceae*.

Permukaan daun pada tumbuhan yang hidup di bumi sering ditutupi dengan penutup *waxy* yang *impermeabel* dan CO₂ melewati struktur yang dinamakan stomata untuk mencapai sel fotosintetik. Stomata dibentuk oleh dua sel berdekatan pada permukaan daun. 'Penjaga sel' ini menentukan pintu masuk ke rongga sel yang mengandung kloroplast. Lubang celah antara penjaga sel merubah respon aliran ion dan osmotik yang dihasilkan dari air. Aliran ion melewati penjaga sel diatur oleh kondisi yang mempengaruhi fiksasi CO₂ seperti suhu dan tersedianya air. Pada hari yang panas tumbuhan CAM menutup stomatanya untuk meminimumkan kehilangan air. Pada malam hari sel mesofil mengambil CO₂ melalui stomata yang terbuka. Kehilangan air melalui stomata lebih rendah pada suhu malam hari yang dingin daripada siang hari. Pada malam

hari CO₂ difiksasi oleh reaksi yang dikatalisis oleh *PEP carboxylase* menghasilkan *oxaloacetate*. *Oxaloacetate* yang terbentuk direduksi ke malat (Gambar 109).



Gambar 109. Jalur CAM
(Moran et al., 2012:472)

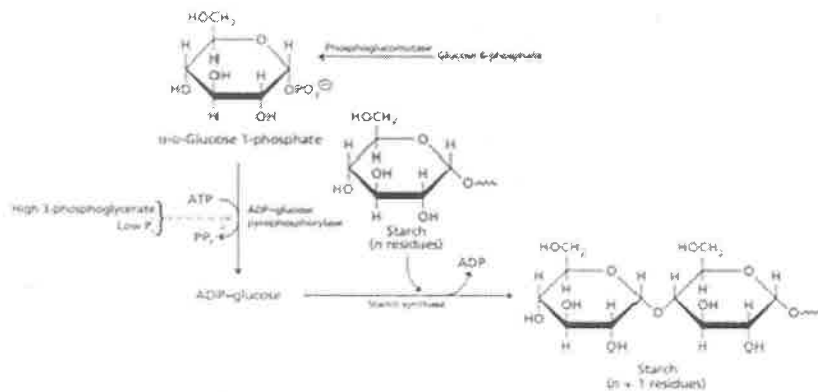
Malat disimpan pada vakuola sentral yang besar agar pH dalam sitosol tetap netral, dan konsentrasi seluler asam ini dapat mencapai 0,2 M pada akhir malam. Vakuola pada tumbuhan CAM umumnya lebih dari 90% volume total sel. Malat dilepaskan dari vakuola dan didekarboksilasi selama siang hari ketika ATP dan NADPH dibentuk pada fotosintesis. Dengan demikian, malat terakumulasi dalam jumlah besar pada malam hari untuk mensuplai CO₂ pada asimilasi karbon selama siang hari. Stomata daun tertutup ketika malat didekarboksilasi agar air maupun CO₂ tidak dapat tertangkap daun dan level CO₂ selular dapat lebih tinggi dari pada level CO₂ atmosfer. Seperti tumbuhan C₄, konsentrasi CO₂ internal yang lebih tinggi menurunkan fotorespirasi secara besar.

Pada tumbuhan CAM, *phosphoenolpyruvate* dibutuhkan untuk pembentukan malat yang berasal dari pati melalui jalur glikolisis. *Phosphoenolpyruvate* dibentuk dengan cara dekarboksilasi malat dan diubah ke pati melalui jalur glukoneogenesis dan disimpan dalam kloroplas. CAM adalah analog dengan metabolisme C₄. Pada tumbuhan C₄ jalur fase karboksilasi dan dekarboksilasi adalah siklus yang dipisahkan pada dua tipe sel yang berbeda, sedangkan CAM terpisah karena waktu yaitu siklus siang dan siklus malam hari. Pengaturan penting jalur CAM adalah inhibisi *PEP carboxylase* oleh malat dan pH rendah. *PEP carboxylase* efektif diinhibisi selama siang hari yaitu ketika konsentrasi malat sitosol tinggi dan pH rendah. Inhibisi ini mencegah siklus yang tidak berguna pada CO₂ dan malat oleh *PEP carboxylase* dan menghindari kompetisi antara *PEP carboxylase* dan Robisco terhadap CO₂.

K. Biosintesis Sukrosa dan Pati pada Tumbuhan

Glyceraldehyde-3-phosphate (G3P) adalah produk utama fiksasi karbon pada kebanyakan spesies fotosintetik. G3P kemudian diubah ke glukosa pada jalur glukoneogenesis. Hexosa yang disintesis dapat digunakan sebagai substrat intermediet pada sejumlah jalur biosintesis atau dapat disimpan sebagai polisakarida untuk digunakan kemudian. Pada bakteri, kebanyakan alga dan beberapa tumbuhan, polisakarida penyimpan adalah glikogen, sama seperti pada binatang. Polisakarida penyimpan pada vascular tumbuhan biasanya pati.

Pati disintesis dalam kloroplas dari *glucose-6-phosphate*, yang merupakan produk utama dari glukoneogenesis. Pada langkah pertama *glucose-6-phosphate* diubah ke *glucose-1-phosphate* dalam reaksi yang dikatalisis oleh *phosphoglucomutase* (Gambar 110). Enzim yang sama ditemui pada jalur sintesis glikogen. Langkah kedua adalah aktivasi glukosa menghasilkan ADP-glukosa. Reaksi ini dikatalisis oleh *ADP-glucose pyrophosphorylase*. Strategi metabolik adalah mirip dengan biosintesis glikogen kecuali intermediet kunci pada sintesis glikogen adalah UDP-glukosa. Reaksi polimerisasi pada biosintesis pati dikatalisis oleh *starch synthase*. Jalur ini memakai satu molekul ATP dan melepaskan satu molekul *pyrophosphate* untuk setiap residu yang ditambahkan ke rantai polisakarida yang sedang tumbuh. ATP disediakan oleh reaksi terang fotosintesis.



Gambar 110. Biosintesis Pati di Kloroplas (Moran *et al.*, 2012:467)

Pati disintesis pada siang hari, jika fotosintesis aktif dan molekul ATP terkumpul di dalam kloroplas. Molekul pati diputus oleh aksi *phosphorylase* untuk menghasilkan *glucose-1-phosphate* yang diubah ke *triose phosphate* oleh glikolisis. *Triose phosphate* ditransport dari kloroplas ke sitoplasma. Sebagai alternatif pati dapat dihidrolisis oleh aksi *amylase* menghasilkan dextrin dan akhirnya ke maltosa dan kemudian glukosa. Glukosa yang terbentuk melalui rute ini diphosphorilasi oleh aksi *hexokinase* dan masuk ke jalur glikolisis.

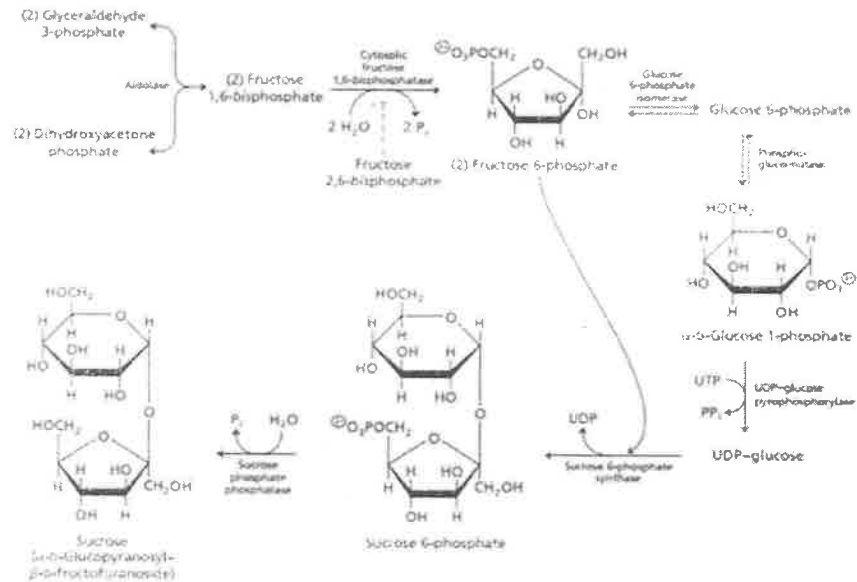
Sukrosa adalah bentuk *mobile* dari karbohidrat tumbuhan. Sukrosa disintesis dalam sitoplasma dari sel yang mengandung kloroplas (misalnya sel daun) dan dieksport ke sistem vascular tumbuhan dimana sukrosa diambil oleh sel non fotosintesis (misal sel akar). Dengan demikian, sukrosa berfungsi sama dengan glukosa bentuk *mobile* dari karbohidrat dari binatang yang memiliki sistem pembuluh darah. Pada Gambar 111 adalah getah yang kaya dengan sukrosa dari pohon *maple Acer saccharum*. Getah ini dikumpulkan dan dipekatkan untuk menghasilkan sirup *Maple*.



Gambar 111. Getah Kaya Sukrosa dari Pohon.

Jalur sintesis sukrosa diperlihatkan pada Gambar 112. Empat molekul *triose phosphate* menghasilkan satu molekul sukrosa. *Triose phosphate* mengikuti jalur glukoneogenesis, berkondensasi untuk membentuk *fructose-1,6-biphosphate* yang dihidrolisis untuk menghasilkan *fructose-6-phosphate*. *Fructose-6-phosphate* berisomerasi ke *glucose-6-phosphate* yang dialihkan dari jalur glukoneogenesis dan diubah ke *α-D-glucose-1-phosphate*. *Glucose-1-phosphate* bereaksi dengan UTP untuk membentuk *UDP-glucose* dan mengaktifkan molekul glukosa mendonorkan gugus glukosilnya ke molekul *fructose-6-phosphate* untuk membentuk *sucrose-6-phosphate*. Langkah akhir adalah hidrolisis *sucrose-6-phosphate* untuk membentuk

sukrosa. Biosintesis sukrosa dari *glyceraldehyde-3-phosphate* dan *dihydroxyacetone* dalam sitosol. Empat molekul *triose phosphate* (4C3) dirubah ke satu molekul sukrosa (C12)



Gambar 112. Biosintesis Sukrosa dari *Glyceraldehyde 3-phosphate* dan *Dihydroxyacetone Phosphate* dalam Sitosol

Inorganic phosphate (Pi) dihasilkan pada jalur sintesis sukrosa oleh reaksi yang dikatalisis oleh *fructose-1,6-bisphosphatase* dan *sucrose phosphate phosphatase*. *Pyrophosphate* (PPi) dihasilkan dalam reaksi yang dikatalisis oleh *UDP-glucose pyrophosphorylase*. Jalur ini menghabiskan 1 ATP yang ekuivalen (sebagai UTP). Sintesis sukrosa dan sintesis glikogen membutuhkan sebuah molekul glukosa yang diaktivasi dalam bentuk *UDP-glucose* dimana biosintesis pati menggunakan *ADP-glucose*.

Tahap metabolik irrevisibel pada jalur biosintesis sukrosa adalah hidrolisis *fructose-1,6-bisphosphate* untuk menghasilkan *fructose-6-phosphate* dan Pi. Aktivitas *fructose-1,6-bisphosphatase* diinhibisi oleh modulator allosterik *fructose-2,6-bisphosphate* sebuah molekul yang kita temukan pada glikolisis dan glukoneogenesis. Pada tumbuhan,

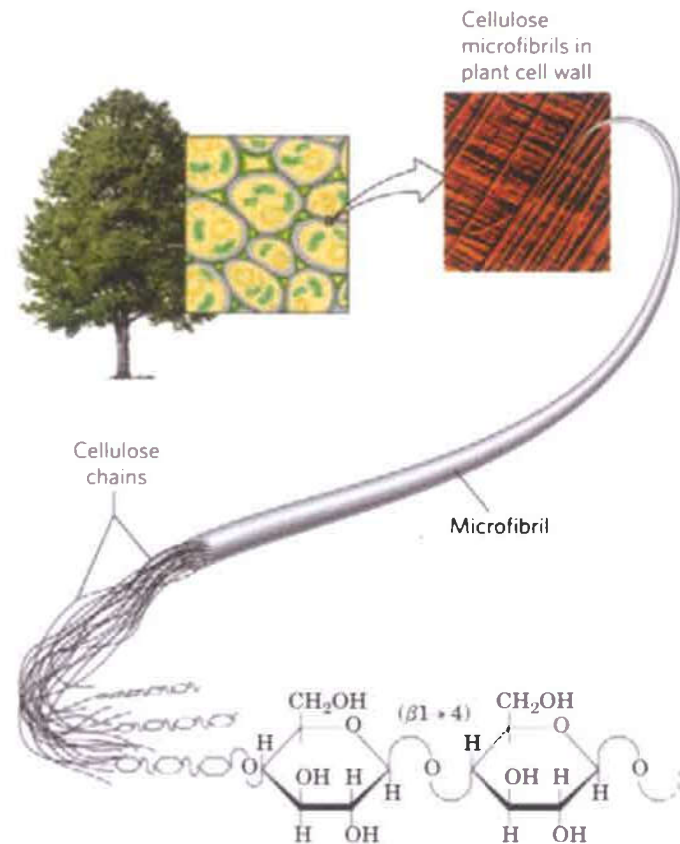
level *fructose-2,6-bisphosphate* diregulasi oleh beberapa metabolit yang sesuai dengan kondisi sintesis sukrosa.

Sukrosa diambil oleh sel nonfotosintesis dimana sukrosa dihidrolisis dengan katalis *sucrase* (invertase) ke glukosa dan fruktosa yang mensuplai energi melalui glikolisis dan siklus asam sitrat. Heksosa ini dapat juga diubah ke pati dalam jaringan ini yang menyimpan karbohidrat untuk penggunaan mendatang. Pada sel akar sebagai contoh. Sukrosa diubah ke monomer heksosa dan gula ini diambil oleh organel khusus yang dinamakan *amyloplast*. *Amyloplast* adalah kloroplas modifikasi yang kekurangan kompleks fotosintesis tetapi mempunyai enzim-enzim untuk sintesis pati. Pada beberapa tumbuhan seperti kentang, umbi dan wortel, sel akar dapat menyimpan pati dalam jumlah besar.

L. Biosintesis Selulosa Tumbuhan

Selulosa merupakan komponen utama dinding sel tumbuhan dan paling melimpah di bumi. Selulosa menyediakan kekuatan, kekakuan dan mencegah sel tumbuhan bengkak dan pecah dari membran plasma yang mungkin akibat kondisi osmotik dari air yang masuk ke dalam sel. Setiap tahun di seluruh dunia tumbuhan mensintesis lebih dari 10^{11} metrik ton selulosa, membuat polimer yang sederhana ini (istilah ton yang dipakai di Indonesia merujuk pada metrik ton yang berdasarkan standar SI adalah setara dengan 1.000 kg). Struktur selulosa adalah sederhana: polimer linear dari beribu-ribu ikatan ($\beta 1 \rightarrow 4$) unit D-glukosa yang dirakit membentuk bundel dari sekitar 36 polimer. Sisi antar untai berikatan membentuk mikrofibril (Gambar 113).

Biosintesis selulosa kurang dimengerti dengan baik dibandingkan biosintesis glikogen dan pati. Sebagai komponen utama dinding sel, selulosa harus disintesis dari prekursor intraseluler, dideposit dan dirakit keluar dari membran plasma. Mekanisme enzimatik untuk inisiasi, elongasi dan ekspor dari rantai selulosa lebih kompleks dari pada sintesis pati dan glikogen. Sintesis selulosa tumbuhan mirip dengan sintesis polisakarida dinding sel bakteri dan keduanya mungkin menggunakan beberapa mekanisme yang sama

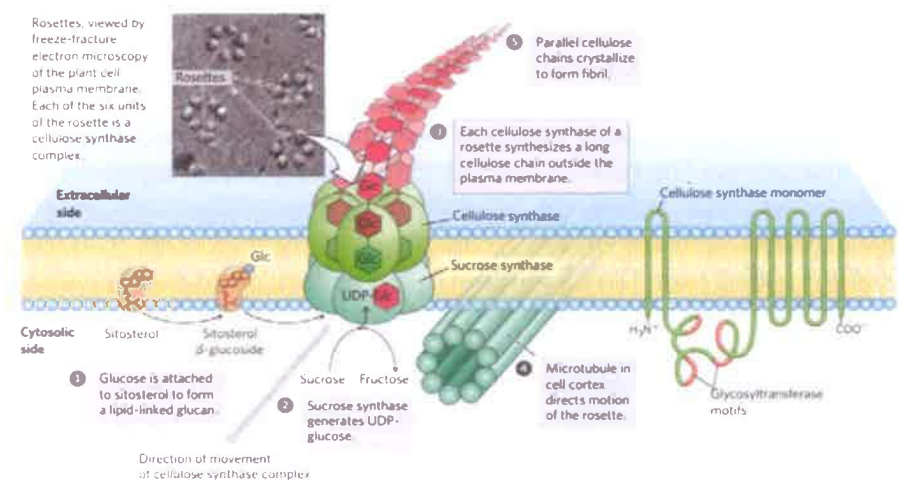


Gambar 113. Struktur Selulosa
(Nelson *et al.* 2013 :822)

Selulosa disintesis oleh struktur supramolekul dalam membran plasma. Mesin enzimatik kompleks yang merakit rantai selulosa menjangkau membran plasma dengan satu bagian mengikat substrat, UDP-glukosa di dalam sitosol dan bagian lainnya memanjang arah ke luar, bertanggung jawab untuk perpanjangan dan pengkristalan molekul selulosa dalam ruang ekstraselular. Mikroskop elektron *Freeze-fracture* memperlihatkan kompleks terminal ini juga dinamakan **rosettes** yang tersusun 6 partikel besar yang ditata dalam segi enam biasa (*regular hexagon*) dengan diameter sekitar 30 nm (Gambar 114). Gambar 114 merupakan gambar yang diusulkan untuk sintesis

selulosa pada tumbuhan vaskular yaitu tumbuhan yang dicirikan dengan adanya jaringan pengantar.

Beberapa protein termasuk subunit katalitik dari *cellulose synthase* membuat kompleks terminal. Kebanyakan kemajuan terkini pemahaman sintesis selulosa berasal dari studi genetik dan molekular genetik dari tumbuhan *Arabidopsis thaliana* yang genomnya telah disequens. Famili gen yang mengkode aktivitas sintesis selulosa telah diklon dan ditemukan mengkode protein dengan delapan segmen transmembran dan sebuah domain sentral pada sisi sitosol dari membran plasma termasuk sekuens yang diharapkan dalam sebuah *glycosyltransferase*.



Gambar 114. Gambar yang Diusulkan untuk Sintesis Selulosa pada Tumbuhan Vaskular (Nelson *et al.*, 2013:822)

Pada model sintesis selulosa, sintesis untai selulosa diawali dengan pembentukan intermediet yang terikat lipid tidak seperti yang terlibat pada pembentukan pati atau glikogen, seperti yang diperlihatkan pada **langkah 1** pada Gambar 114, glukosa ditransfer dari UDP-glukosa ke lipid membran, pada bagian dalam dari membran plasma. Di sini *cellulose synthase* intraseluler menambahkan beberapa residu glukosa lagi ke ikatan pertama pada ikatan $(\beta 1 \rightarrow 4)$ membentuk untai oligosakarida pendek yang

menempel pada sitosterol (sitosterol dextrin). Selanjutnya keseluruhan sitosterol dextrin membalik menyeberang menuju muka luar dari membran plasma, dimana sitosterol dextrin berasosiasi dengan bentuk lain dari *cellulose synthase*.

UDP-glukosa digunakan untuk sintesis selulosa (**langkah 2**) yang dihasilkan dari sukrosa yang dihasilkan selama fotosintesis oleh reaksi yang dikatalisis *sucrose synthase*.



Cellulose synthase merentang pada membran plasma dan menggunakan UDP-glukosa sitosol sebagai prekursor untuk sintesis selulosa ekstraseluler. Bentuk terikat membran dari *sucrose synthase*, membentuk kompleks dengan *cellulose synthase*, melepaskan UDP-glukosa dari sukrosa secara langsung masuk ke sintesis dinding sel.

Pada **langkah ke-3**, *cellulose synthase* memperpanjang untai selulosa sampai 500 bahkan sampai 15.000 unit glukosa, mendorong polimer tersebut masuk ke permukaan luar sel. Aksi dari enzim adalah satu molekul enzim menambahkan banyak unit glukosa sebelum pelepasan rantai selulosa yang sedang bertumbuh. Arah dari pertumbuhan rantai belum dapat dimengerti apakah dari ujung pereduksi atau ujung non pereduksi.

Setiap dari enam *globule* dari *rosette* tersebut terdiri dari banyak subunit protein yang bersama-sama mensintesis 6 untai selulosa. Kompleks enzim besar yang mengkatalisis proses ini (**langkah 4**) sesungguhnya bergerak sepanjang membran plasma, mengikuti perjalanan dari mikrotubula dalam korteks, lapisan sitoplasmik di bawah membran. Karena mikrotubula ini terletak tegak lurus terhadap sumbu pertumbuhan tumbuhan, mikrotubula selulosa terletak di bawah sumbu pertumbuhan. Pergerakan kompleks *cellulose synthase* dipercayai didorong oleh energi yang dilepaskan dari reaksi polimerisasi dan tidak oleh motor molekular seperti kinesin.

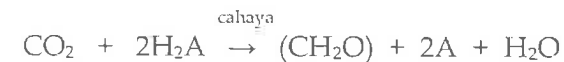
Selulosa akhir adalah bentuk mikrofibril kristalin, masing-masing terdiri dari 36 rantai selulosa terletak berdampingan, semua dengan orientasi yang sama dari ujung non-pereduksi dan ujung pereduksi (paralela). Ini sepertinya 36 rantai polimer terpisah

disintesis pada satu *rosette* dan datang bersama pada permukaan luar sel, sudah sejajar. Pada **langkah 5**, siap untuk mengkristal sebagai mikrofibril dari dinding sel. Ketika 36 polimer mencapai panjang yang sama, sintesis diakhiri oleh mekanisme yang belum dimengerti.

M. Kesimpulan

Hakekat fotosintesis

Kehidupan di bumi tergantung pada matahari. Energi sinar matahari diubah melalui proses fotosintesis menjadi energi kimia yang diperlukan makhluk hidup. Fotosintesis mempunyai dua tingkatan proses yaitu (1) Energi cahaya dimanfaatkan untuk mengoksidasi H_2A (**reaksi terang**) dan menghasilkan zat pereduksi (H); (2) Zat pereduksi yang dihasilkan kemudian mereduksi CO_2 (**reaksi gelap**). H_2A mungkin air, hidrogen sulfida, laktat atau beberapa senyawa organik lainnya. Persamaan reaksi umum fotosintesis adalah,



Kloroplas

Tempat fotosintesis pada eukariot adalah kloroplas. Kloroplas mempunyai membran-luar yang permeabel dan membran-dalam yang hampir impermeabel. Membran-dalam melingkupi stroma yang merupakan fasa berair yang mengandung enzim-enzim yang dibutuhkan untuk reaksi gelap fotosintesis. Pada stroma terdapat ruang bermembran yang dinamakan *thylakoid*. *Thylakoid* dapat berbentuk gelembung yang berlipat berupa tumpukan kantong-kantong yang dinamakan **grana**. Antara grana dihubungkan oleh *stromal lamellae*. Sebuah kloroplas biasanya mengandung 10 sampai 100 grana. Selama reaksi terang fotosintesis, proton ditranslokasi dari ruang *thylakoid* (*lumen*) ke stroma. Pada membran *thylakoid* terdapat deretan kompleks protein-membran yang berfungsi untuk melangsungkan reaksi terang fotosintesis.

Pigmen penyerap cahaya pada fotosintesis

Kompleks protein-membran *photosystem II*, *photosystem I* merupakan kompleks besar dari protein, pigmen dan kofaktor yang tertanam

pada membran *thylakoid*. Kompleks ini mengandung pigmen penyerap cahaya (fotopigmen). Pigmen penyerap cahaya yang paling penting dan utama pada reaksi terang adalah *chlorophyll*. *Photosystem* mengandung berlusin-lusin molekul klorofil tetapi hanya dua molekul klorofil spesial yang memberikan elektron untuk memulai rantai transfer elektron yang dinamakan *special pair*.

Special pair diidentifikasi sebagai pigmen (P) yang menyerap cahaya pada λ spesifik. Dengan demikian, P680 adalah molekul klorofil *special pair* yang menyerap cahaya pada λ 680 nm (merah) dan P700 menyerap cahaya pada λ 700 nm. *Special pair* adalah molekul klorofil spesial yang berfungsi sebagai bagian dari rantai transfer elektron. Molekul ini merupakan *photosynthetic reaction centers* (RCs). Rantai transfer elektron menerima elektron dari *special pair* dan mentransfernya ke molekul berikutnya pada jalur. Tidak semua molekul klorofil terlibat pada transfer elektron. Klorofil sisa bertindak sebagai klorofil antena. Cahaya diserap oleh *chlorophyll antenna* dan ditransfer ke RCs.

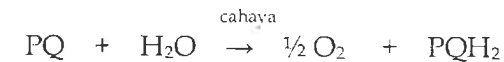
Kompleks protein-membran dan transport elektron 'mobile' pada reaksi terang

Kompleks protein-membran pada membran *thylakoid* adalah PSII, *cythochrome b₆f*, PSI dan *ATP synthase*. Kompleks protein-membran ini tertanam pada membran *thylakoid*, akibatnya kompleks-protein ini tidak dapat berpindah tempat. Diantara kompleks protein-membran tersebut terdapat 3 jenis transport elektron 'mobile' yaitu PQ, PC dan Fd.

Photosystem II dan Plastoquinone

Struktur PSII ini mempunyai berat molekul sekitar 340 kD yang merupakan dimer simetris unit-unit protomer yang masing-masing mengandung 35 *helice* transmembran. Setiap protomer (protomer adalah unit struktural dari protein oligomer) mempunyai *pseudo-2-fold* simetri, mengikat 36 Chl a, 2 *pheophytin a* (Pheo a: Chl a dengan Mg^{2+} digantikan oleh dua proton), satu *heme b*, satu *heme c*, 2 *plastoquinone* (QA dan QB), satu *nonheme Fe*, 12 *caratenoid*, satu ion HCO_3^- dan satu kompleks Mn_4CaO_4 yang dikenal sebagai *oxygen-evolving center* [OEC: alternatif, *water oxidizing complex* (WOC)].

PSII mentransfer elektron dari air ke PQ. Setiap satu molekul PQ menerima dua elektron dari satu molekul air sehingga terbentuk plastoquinol (PQH_2). Persamaan reaksi redoksnya dapat ditulis sebagai berikut:



PSII terbentang pada membran *thylakoid*. Sisi reduksi *plastoquinone* terletak pada sisi stroma tempat dimana *mangan center*, sedangkan sisi oksidasi air terletak pada lumen *thylakoid*. Dengan demikian, dua proton untuk mereduksi Q ke QH_2 berasal dari stroma dan 4 proton yang dibebaskan dari oksidasi dua molekul air dilepaskan ke lumen *thylakoid*. Distribusi proton ini menghasilkan gradien proton yang berlebih pada lumen *thylakoid* dibanding stroma.

Cytochrome b₆f

Cytochrome b₆f terletak antara PSII ke PSI. Elektron mengalir dari PSII ke PSI melalui *complex Cytochrome b₆f*. *Cytochrome b₆f* mengkatalisis transfer elektron dari *plastoquinol* (PQH_2) ke *plastocyanin* (PC) suatu protein kecil terlarut yang mengandung *copper* pada permukaan lumen *thylakoid*.

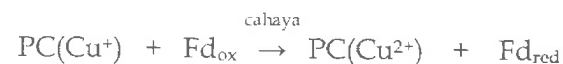
Plastocyanin (PC)

Plastocyanin merupakan protein *mobile* yang mentransfer elektron dari pembawa elektron terminal *cytochrome f* pada *Cytochrome b₆f* ke PSI. *Plastocyanin* merupakan protein monomerik dengan 99 residu asam amino. Protein ini mengandung Cu dan merupakan protein membran *peripheral* yang berlokasi pada permukaan lumen *thylakoid*. Siklus redoks PC adalah keadaan oksidasi Cu(I) dan Cu(II).

Photosystem I

Photosystem I merupakan kompleks transmembran yang terdiri dari sekitar 14 untai polipeptida, beberapa protein yang terkait dan kofaktor. Pusat dari sistem adalah sepasang subunit yang mirip yaitu PsaA (83kD) dan PsaB (82kD). *Special pair* dari molekul *chlorophyll a* terletak pada pusat struktur dan menyerap maksimal pada 700 nm.

Center ini dinamakan P700. Elektron bergerak dari P700 ke jalur melalui klorofil terus ke *quinone* dan ke kluster set 4Fe-4S. Langkah selanjutnya mentransfer elektron ke *ferredoxin* (Fd). *Ferredoxin* mentransfer elektron ke NADP⁺. Sementara itu, P700⁺ menangkap sebuah elektron dari *plastocyanin* yang mengakibatkan P700⁺ tereduksi membentuk P700. Dengan demikian, reaksi keseluruhan yang dikatalisis oleh PSI adalah reaksi oksidasi-reduksi yang melibatkan satu elektron.

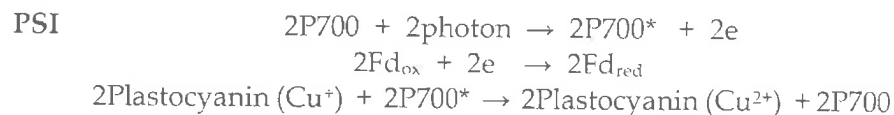
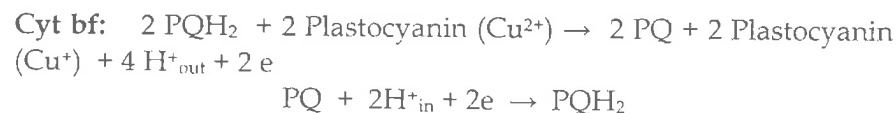
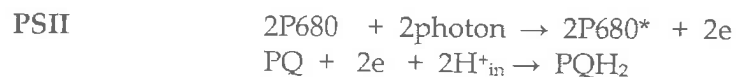


Ferredoxin (Fd)

Ferredoxin mengandung kluster 2Fe-2S yang berkoordinasi dengan 4 residu sistein. Protein ini menerima elektron dari *photosystem I* dan membawanya ke *ferredoxin-NADP reductase* (FNR). Bagaimana *ferredoxin* digunakan untuk mendorong reaksi reduksi NADP⁺ menjadi NADPH? Reaksi ini dikatalisis oleh *ferredoxin-NADP⁺ reductase*, sebuah flavoprotein dengan gugus prostetikanya FAD. *Ferredoxin-NADP⁺ reductase* menerima dua elektron dan dua proton dari dua molekul *ferredoxin* tereduksi untuk membentuk FADH₂, yang mana kemudian mentransfer dua elektron dan satu proton ke NADP⁺ untuk membentuk NADPH.

Deretan reaksi pada reaksi terang

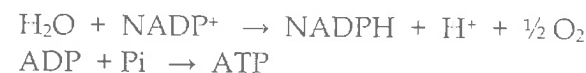
Kerjasama antara *photosystem I* dan *photosystem II* menimbulkan aliran elektron dari H₂O ke NADP⁺ pada reaksi terang. Reaksi terang terdiri dari dua bagian yang berbeda. Satu bagian reaksi adalah reduksi NADP⁺ ke NADPH yang terjadi pada PSI. Bagian reaksi yang kedua adalah oksidasi H₂O menghasilkan O₂ yang terjadi pada PSII. Pada kedua *photosystem* terjadi reaksi redoks (transfer elektron). Kedua *photosystem* berinteraksi satu sama lain melalui rantai transport elektron yang menghubungkan kedua *photosystem* ini. Deretan reaksi pada reaksi terang fotosintesis akibat kerjasama *photosystem I* dan *photosystem II* tersebut adalah



Jalur aliran elektron dari molekul H₂O ke NADP⁺ dinamakan **skema Z fotosintesis** karena diagram redoks dari P680 ke P700* seperti "huruf Z". Skema Z menggambarkan rute lengkap aliran elektron dari H₂O ke NADP⁺. Skema Z juga memperlihatkan kenaikan/penurunan potensial reduksi selama reaksi terang fotosintesis.

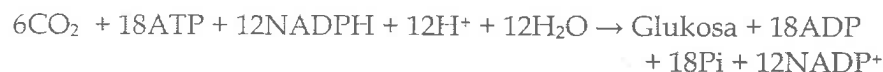
Sintesis ATP pada fotofosforilasi

Kombinasi aktivitas PSII dan PSI tumbuhan mengakibatkan pemindahan elektron dari H₂O ke NADP⁺ dan menghasilkan sejumlah energi yang diserap sebagai NADPH. Secara serempak proton dipompa melewati membran *thylakoid* dan energi diubah sebagai potensial elektrokimia. Proses ini menghasilkan gradien proton yang mendorong sintesis ATP sebagai produk penyimpanan energi lainnya pada reaksi terang. Dengan demikian, sederetan reaksi redoks pada reaksi terang dikopel dengan *phosphorylation* dari ADP ke ATP di dalam proses yang dinamakan *photophosphorylation*.



Siklus Calvin

Organisme fotosintetik dapat menggunakan siklus Calvin untuk mensintesis glukosa dari CO₂ dan air dengan menggunakan cahaya matahari sebagai sumber energi. Tahap pertama siklus Calvin adalah karboksilasi *ribulose 1,5-bisphosphate*. Reaksi ini merupakan reaksi fiksasi-karbon yaitu kondensasi CO₂ dengan aseptor lima-karbon, *ribulose 1,5-bisphosphate* membentuk dua molekul *3-phosphoglycerate*. Tahap kedua adalah tahap reduksi dimana *3-phosphoglycerate* dikonversi ke *glyceraldehyde 3-phosphate*. Kebanyakan *glyceraldehyde 3-phosphate* dikonversi menjadi *ribulose 1,5-bisphosphate* pada tahap ketiga. Beberapa *glyceraldehyde 3-phosphate* yang dihasilkan digunakan pada jalur sintesis karbohidrat seperti pada jalur sintesis glukosa atau dilanjutkan pada sintesis pati. *Glyceraldehyde 3-phosphate* adalah produk utama siklus Calvin. Dengan demikian, deretan reaksi (15 reaksi) pada siklus Calvin menuju kepada pembentukan molekul glukosa dan pembentukan RuBP kembali. Reaksi total siklus Calvin adalah sebagai berikut:



Jalur C₄/Lintas Hatch-Slack

Daerah tropis kaya cahaya, oleh sebab itu pada tumbuhan tropis banyak tumbuhan C₄. Pada tumbuhan C₄, terdapat jalur C₄. Jalur ini dinamakan juga jalur Hatch-Slack. Pada jalur Hatch-Slack terdapat siklus Calvin. Pada jalur Hatch-Slack, CO₂ memasuki pori daun pada permukaan luar sel, CO₂ bereaksi pertamakali dengan *phosphoenolpyruvate* untuk menghasilkan *oxaloacetate* dan Pi dalam sel *mesophyll* daun. *Oxaloacetate* direduksi ke *malate* dengan serempak NADPH teroksidasi. *Malate* kemudian ditransport ke lapisan berikutnya (sel selubung, *bundle-sheath cell*) melalui *canal* yang menghubungkan dua jenis sel ini. Dalam sel selubung, *malate* didekarboksilasi menghasilkan *Pyruvate* dan CO₂. Pada proses ini NADP⁺ direduksi ke NADPH. CO₂ bereaksi dengan *ribulose-1,5-bisphosphate* untuk memasuki siklus Calvin. *Pyruvate* ditransport kembali ke sel *mesophyll*, dan difosforilasi ke *phosphoenolpyruvate*.

Phosphoenolpyruvate bereaksi kembali dengan CO₂ untuk memulai siklus berikutnya pada jalur C₄.

Jalur CAM

Tumbuhan yang mempunyai jalur CAM meminimumkan kehilangan air selama fotosintesis dengan asimilasi karbon pada malam hari. Jalur ini pertamakali ditemukan pada famili *Crassulaceae*. CAM adalah analog dengan metabolisme C₄. Pada tumbuhan C₄ jalur fase karboksilasi dan dekarboksilasi adalah siklus yang dipisahkan pada dua tipe sel yang berbeda, sedangkan CAM terpisah karena waktu yaitu siklus siang dan siklus malam hari.

Pada malam hari CO₂ difiksasi oleh reaksi yang dikatalisis *PEP carboxylase* menghasilkan *oxsaloacetate*. *Oxsaloacetate* yang terbentuk direduksi ke malat. Malat dilepaskan dari vakuola dan didekarboksilasi selama siang hari ketika ATP dan NADPH dibentuk pada fotosintesis. Dengan demikian, malat terakumulasi dalam jumlah besar pada malam hari untuk mensuplai CO₂ pada asimilasi karbon selama siang hari.

N. Latihan dan Kasus

Latihan

Hakekat fotosintesis

1. Jelaskanlah reaksi umum fotosintesis !
2. Bagaimanakah kaitan reaksi terang dan reaksi gelap pada fotosintesis ?

Kloroplas

1. Buatlah gambar kloroplas. Jelaskanlah bagian-bagian kloroplas. Tunjukkanlah pada gambar tersebut *outer-membran*, *inner-membran*, *thylakoid*, *grana*, *stroma*, *stromal lamellae* dan lumen *thylakoid* !
2. Pada bahagian mana dari kloroplas terjadi reaksi terang dan reaksi gelap fotosintesis ?

Pigmen penyerap cahaya pada fotosintesis

1. Bagaimanakah pigmen penyerap cahaya pada PSII dan PSI?
2. Apakah peranan molekul klorofil *special pair* ?
3. Apakah peranan molekul klorofil antena?

Kompleks protein-membran dan transport elektron 'mobile' pada reaksi terang

1. Apakah peranan tiga kompleks protein-membran?
2. Apakah peranan tiga transport elektron 'mobile' pada reaksi terang?

Deretan reaksi pada reaksi terang

1. Bagaimana aliran elektron dari H₂O ke NADP⁺ pada reaksi terang?
2. Bagaimana proses pembentukan NADPH pada reaksi terang?
3. Apakah peranan PSII dan PSI.

Sintesis ATP pada fotofosforilasi

1. Apa yang menjadi penyebab timbulnya gradien proton antara stroma dan lumen *thylakoid* ?
2. Bagaimana proses pembentukan ATP pada fotosintesis ?
3. Apakah perbedaan fotofosforilasi dan fosforilasi oksidatif ?

Fiksasi CO₂ : Siklus Calvin

1. Tulislah deretan reaksi pada siklus Calvin
2. Berapa molekul ATP dan berapa molekul NADPH yang diperlukan untuk membentuk satu molekul glukosa pada siklus Calvin.
3. Bagaimana glukosa, sukrosa, pati dan selulosa dibuat pada tanaman ?

Lintas Hatch-Slack

1. Tulislah deretan reaksi pada lintas Hatch-Slack !
2. Apakah kaitan siklus Calvin dengan lintas Hatch-Slack ?
3. Apakah perbedaan tumbuhan C₄ dan tumbuhan C₃ ?

Jalur CAM (*Crassulacean Acid Metabolism*)

1. Bagaimana cara tumbuhan kaktus meminimumkan kehilangan air selama fotosintesis?
2. Bagaimana fiksasi CO₂ pada tumbuhan CAM?

Kasus

1. Fase Fotosintesis

Ketika sebuah suspensi ganggang hijau diterangi tanpa adanya gas CO₂, kemudian diinkubasi dengan ¹⁴CO₂ dalam keadaan gelap. ¹⁴CO₂ berhasil dikonversi menjadi glukosa [¹⁴C] dalam waktu yang singkat. Apa pentingnya pengamatan ini sehubungan dengan proses asimilasi CO₂, dan bagaimana kaitannya dengan reaksi terang fotosintesis? Mengapa konversi ¹⁴CO₂ menjadi [¹⁴C]glukosa berhenti setelah beberapa saat?

2. *Thioredoxin* dalam Regulasi Enzim Siklus Calvin

Motohashi dan rekannya menggunakan *thioredoxin* sebagai pancingan untuk memancing keluar ekstrak tanaman protein yang diaktivasi oleh *thioredoxin*. Untuk melakukan ini, mereka menyiapkan *thioredoxin* mutan di mana salah satu residu Cys reaktif diganti dengan Ser. Jelaskan mengapa modifikasi ini diperlukan untuk percobaan mereka.

3. Rubisco dan Komposisi Atmosfer

A.E. Tolbert berpendapat bahwa spesifisitas ganda rubisco untuk CO₂ dan O₂ bukan hanya sisa dari evolusi di lingkungan rendah oksigen saja. Akan tetapi, aktivitas relatif karboksilase dan aktivitas oksigenase rubisco sebenarnya telah mengatur dan mempertahankan rasio CO₂ terhadap O₂ di atmosfer bumi. Diskusikan pro dan kontra dari hipotesis ini, dalam istilah molekuler dan dalam istilah global. Bagaimana keberadaan organisme C₄ berperan dalam hipotesis?

4. Jalur C₄ dalam Sel Tunggal

Umumnya pada tumbuhan C₄, penangkapan CO₂ dan reaksi siklus Calvin terjadi pada sel yang berbeda. Voznesenskaya dan rekannya telah melakukan pengamatan pada sebuah tanaman, *Bienertia cycloptera*—yang tumbuh di daerah rendah garam di semigurun Asia Tengah—menunjukkan sifat biokimia yang

berbeda dengan tanaman C_4 pada umumnya. Tumbuhan ini tidak memisahkan reaksi fiksasi CO_2 menjadi dua tipe sel. PEP karboksilase dan rubisco hadir dalam sel yang sama. Namun, selnya memiliki dua jenis kloroplas pada lokasi yang berbeda. Kloroplas pertama, relatif rendah *thylakoids*, terbatas pada pinggiran; kloroplas yang lebih khas mengelompok di tengah sel, dipisahkan dari kloroplas perifer oleh vakuola besar. Jembatan sitosol tipis melewati vakuola, menghubungkan sitosol perifer dan sentral.

Sebuah mikrograf sel *B. cycloptera*, dengan panah menunjuk ke kloroplas perifer, ditunjukkan pada gambar di bawah ini.



Pada tumbuhan ini, dimanakah saudara dapat menemukan (a) karboksilase PEP, (b) rubisco, dan (c) butiran pati? Jelaskan jawaban Anda dengan model fiksasi CO_2 dalam sel tumbuhan C_4 ini.

5. Jalur Asimilasi CO_2 pada Jagung

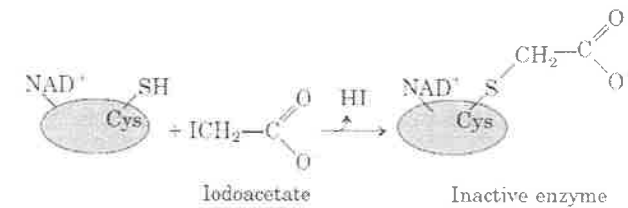
Jika tanaman jagung diterangi dengan adanya $^{14}CO_2$, maka setelah 1 detik lebih dari 90% dari semua radioaktivitas yang tergabung dalam daun ditemukan pada C-4 malat, aspartat, dan *oxsaloacetate*. Setelah 60 detik ^{14}C muncul pada C-1 dari 3-fosfogliserat. Jelaskan kenapa hal ini dapat terjadi.

6. Mengidentifikasi Tumbuhan CAM

Bagaimana Anda merancang percobaan sederhana untuk menentukan apakah suatu tanaman adalah tanaman C_4 biasa atau tanaman CAM menggunakan kehadiran $^{14}CO_2$ menggunakan semua alat yang biasanya ada di laboratorium penelitian biokimia?

7. Regulasi Siklus Calvin

Iodoacetate bereaksi secara ireversibel dengan gugus -SH bebas dari residu Cys dalam protein.



Prediksilah enzim siklus Calvin mana yang akan dihambat oleh iodoasetat, dan jelaskan alasannya.

Referensi

- Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L (2012). *Biochemistry* 7th ed. WH Freeman and Company, New York
- Campbell MK., Farrell SO. (2006). *Biochemistry*, 5th ed. USA: Thomson Books/Cole.
- Denniston KJ, Topping JJ, Caret RL. (2008). *General, Organic, and Biochemistry*, 6th ed. New York: McGraw-Hill.
- Moran LA, Horton HR, Scringeour KG, Perry MD. (2012). *Principle of Biochemistry*, 5th ed. USA: Pearson Education, Inc.
- Nelson DL, Cox MM. (2013). *Lehninger Principles of Biochemistry*. 6th ed, New York: WH Freeman and Company.

DAFTAR REFERENSI

Buku

- Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L (2012). *Biochemistry* 7th ed. WH Freeman and Company, New York
- Campbell MK., Farrell SO. (2006). *Biochemistry*, 5th ed. USA: Thomson Books/Cole.
- Denniston KJ, Topping JJ, Caret RL. (2008). *General, Organic, and Biochemistry*, 6th ed. New York: McGraw-Hill.
- Madigan MT, Martinko JM, Stahl DA, Clark DP. (2012). *Brock Biology of Microorganisms*, 13th ed. San Francisco: Benjamin Cumming.
- Moran LA, Horton HR, Scringeour KG, Perry MD. (2012). *Principle of Biochemistry*, 5th ed. USA: Pearson Education, Inc.
- Nelson DL, Cox MM. (2013). *Lehninger Principles of Biochemistry*. 6th ed, New York: WH Freeman and Company.
- Wirahadikusumah, M (1985). *Biokimia: Metabolisme Energi, Karbohidrat dan Lipid*. Penerbit ITB. Bandung.
- Voet D, Voet JG. (2011). *Biochemistry*. 4th edition .USA: John Wiley & Sons Inc

Artikel pada jurnal

- Azhar M (2009). Inulin sebagai prebiotik (Reviews). *Jurnal Sainstek*, ISSN 1410-8070. vol. XI, No.3. Artikel pada <http://ejournal.unp.ac.id/index.php/sainstek/article/view/142>.
- Barton HA (2006). Introduction to cave microbiology: a review for the non-specialist. *Journal of Cave and Karst Studies*, 68:43-54.
- Franck A (2006). *Food polysaccharides and their application*. CRC Press.
- Gibson, GR, Roberfroid MB (1995). Dietary Modulation of Human Colonic Microbiota: Introducing The Concept of Prebiotics. *J. Nutrion* 125 : 1401-12

Disertasi

- Minda Azhar (2013). Karakterisasi enzim ekstraseluler pada substrat inulin dan molekuler gen levanase dari bakteri termofilik *Bacillus licheniformis* UBCT-007 Isolat Lokal Sumatera Barat. *Disertasi*. Program Doktor Ilmu Kimia. Universitas Andalas

GLOSARIUM

A

Amylase mengkatalisis reaksi hidrolisis pati.

Amylase pancreas mengkatalisis reaksi hidrolisis pati menjadi maltosa.

Anabolisme disebut juga biosintesis yang merupakan biosintesis enzimatik komponen-komponen sel seperti asam nukleat, protein, trigliserida, glikogen, pati dari *building block* atau dari prekursornya.

Archaea (Archaeobacteria) adalah prokariot yang umumnya ditemukan pada lingkungan ekstrim, seperti danau dengan kadar garam tinggi, sumber air panas, rawa dengan keasaman tinggi, dan laut dalam dengan kadar garam yang sangat tinggi.

Asimilasi CO₂ adalah perubahan CO₂ ke senyawa organik yang sederhana yang dikatalisis enzim pada kloroplas yang terdapat pada tumbuhan hijau

ATP adalah pembawa energi kimia utama dan universal di dalam sel hidup yang berikatan dengan adenin (suatu basa nitrogen), ribosa dan 3 buah gugus fosforil.

Autotrophs adalah kelompok *phototrophs* yang memerlukan karbon dari CO₂ dan juga dinamakan sebagai produser primer karena mensintesis senyawa organik baru dari CO₂ untuk kebutuhannya dan kebutuhan *heterotroph*.

B

Bacteria (Eubacteria) adalah prokariot yang termasuk bakteri gram-positif yang mendiami tanah permukaan air, dan jaringan organisme hidup atau organisme pembusuk.

Bakteri gram-negatif adalah bakteri yang tidak memiliki membran luar sehingga tidak menghalangi pewarnaan gram.

Bakteri gram-positif adalah bakteri yang memiliki membran luar yang kompleks yang mengelilingi dinding selnya sehingga menghalangi pewarnaan gram

Bifidobacteria merupakan salah satu prebiotik terpenting pada manusia

Biokimia adalah studi tentang makhluk hidup sampai tingkat molekuler

C

CAM (Crassulacean Acid Metabolism) adalah jalur dimana tumbuhan meminimumkan kehilangan air selama fotosintesis dengan asimilasi karbon pada malam hari.

Chemotrops adalah organisme yang memperoleh energi dari oksidasi bahan bakar kimia.

Chlorophyll yaitu pigmen hijau dengan *polycyclic*, struktur planar mirip protoporphyrin pada hemoglobin

D

Dietary fiber adalah kelompok karbohidrat yang tidak dapat dihidrolisis oleh enzim tubuh manusia tetapi difermentasi oleh mikroflora usus besar sehingga berpengaruh pada fungsi usus dan parameter lipid darah.

E

Energi bebas (ΔG) adalah bentuk energi yang dapat dan harus digunakan sel hidup yang dapat melakukan kerja pada suhu dan tekanan tetap.

Enolase adalah enzim yang mengkatalisis reaksi *dehydration*

Enzim allosterik merupakan enzim yang aktivitas katalitiknya dimodulasi melalui ikatan nonkovalen dari metabolit spesifik pada sisi lain (sisi allosterik) dari sisi katalitik

Enzim b-galaktosidase mengkatalisis reaksi hidrolisis laktosa.

Enzim kovalen modulasi adalah kelompok enzim yang berada dalam keadaan aktif atau tidak aktif tergantung pada modifikasi kovalen dari strukturnya.

Enzim regulator adalah enzim yang aktivitas katalitiknya dikendalikan

Epinephrine merupakan hormon turunan dari asam amino yang disekresi dari adrenal medulla yang berfungsi untuk menstimulasi glikogenolisis (hidrolisis glikogen) di dalam liver dan otot

Eukarya (Eukaryotes) adalah sel dengan volume lebih besar dari prokariot yang mempunyai organel sel bermembran tertutup (*membrane-enclosed organelles*) seperti mitokondria, kloroplas.

Extremophile adalah mikroorganisme yang dapat hidup pada lingkungan ekstrim.

F

Fermentasi alkohol adalah perubahan glukosa menjadi etanol

Fermentasi Laktat adalah perubahan glukosa membentuk asam laktat

Fiksasi CO₂ atau fiksasi karbon adalah reaksi spesifik yang mana CO₂ bergabung masuk ke senyawa organik tiga-karbon, *triose phosphate 3-phosphoglycerate*.

Phosphofruktokinase mengkatalisis pemindahan gugus fosfat dari ATP ke senyawa D-fruktosa 6-fosfat pada posisi 1 menghasilkan fruktosa-1,6-bisfosfat

Fosforilasi oksidatif adalah proses pembentukan ATP dari ADP dan Pi yang energinya diperoleh dari proses transfer elektron yang menghasilkan gradien kimia dan gradien elektrik.

Fotosintesis merupakan pemanenan energi cahaya, sehingga tumbuhan dapat mengubah karbon inorganik CO₂ menjadi senyawa organik.

G

Galaktosa adalah hasil hidrolisis dari laktosa pada susu

Glikolisis merupakan sederetan reaksi (10 reaksi enzimatik) yang mengubah satu molekul glukosa ke dua molekul tiga-karbon *Pyruvate* pada waktu bersamaan menghasilkan energi dalam bentuk ATP dan NADH

Gluconeogenesis merupakan jalur sintesis glukosa dari prekursor nonkarbohidrat

H

Heterotrops adalah kelompok *phototrops* yang membutuhkan karbon dari nutrient organik.

Hexokinase mengkatalisis glukosa menjadi glukosa 6-fosfat yang merupakan reaksi pertama pada jalur glikolisis

Hyperthermophiles adalah organisme yang tumbuh pada suhu sangat tinggi dan ditemukan pada lingkungan luar biasa panas seperti *hot spring*, *geyser* dan lubang *hydrothermal* laut-dalam.

J

Jalur Hatch-Slack atau jalur C₄ adalah jalur fotosintesis yang mempunyai jalur fiksasi karbon yang kedua yang memiliki efek menaikkan konsentrasi CO₂ relatif terhadap O₂ di dalam sel dimana Rubisco aktif terhadap O₂.

Jalur Leloir adalah jalur keseluruhan konversi galaktosa ke intermediet glikolitik

Jalur metabolik (*metabolic pathway*) merupakan sederetan reaksi enzimatik yang berurutan dimana produk suatu reaksi menjadi substrat untuk reaksi berikutnya yang akhirnya menghasilkan produk spesifik.

K

Katabolisme merupakan deretan reaksi yang berkaitan dengan degradasi enzimatik senyawa-senyawa kompleks (seperti glikogen, pati, trigliserida dan protein) menjadi molekul-molekul yang lebih kecil (seperti asam laktat, ammonia, karbondioksida dan air).

Kloroplas adalah tempat fotosintesis pada eukarioat (alga, tumbuhan)

L

Lithotrops adalah kelompok *chemotrops* yang mengoksidasi bahan bakar inorganik, seperti HS⁻ ke S⁰, S₂⁻ ke SO₄⁻, NO₂⁻ ke NO₃⁻, Fe²⁺ ke Fe³⁺.

M

Maltase mengkatalisis reaksi hidrolisis maltosa menghasilkan glukosa.

Mannosa adalah komponen umum glikoprotein.

Mesophiles adalah organisme yang tumbuh optimal pada suhu menengah dan ditemukan pada hewan berdarah panas, di darat, dan di lingkungan berair pada suhu sedang, dan lintang tropikal.

Metabolisme primer adalah jalur metabolik yang umumnya terjadi pada semua makhluk hidup dan merupakan jalur zat makanan sel yang relatif panjang seperti karbohidrat, lemak dan protein

Metabolisme sekunder adalah jalur metabolik lain yang memiliki densitas aliran metabolit yang jauh lebih kecil termasuk pembentukan dan penguraian senyawa dalam jumlah hanya mg perhari

Metabolisme bahan bakar (fuel metabolism) adalah pelajaran reaksi katabolik yang menghasilkan energi pada mamalia

Metabolisme merupakan keseluruhan reaksi-reaksi yang terjadi di dalam sel hidup

Metabolit adalah semua senyawa yang berkaitan dengan reaksi metabolisme seperti reaktan, senyawa intermediet dan senyawa produk

Mitokondria merupakan organel sel penghasil energi.

Mycoplasmas adalah sel yang paling kecil ukuran diameternya yaitu sekecil 0,12 μm dan memiliki sekitar 20% DNA dari DNA *E.coli*.

N

NAD⁺ dan NADP⁺ menerima elektron dan ion hidrogen dari reaksi oksidasi molekul bahan bakar dan disimpan dalam bentuk NADH dan NADPH.

NADH dan FADH₂ merupakan pembawa elektron utama pada oksidasi molekul bahan bakar.

NADPH adalah donor elektron utama pada biosintesis yang bersifat reduksi.

O

Operon merupakan kumpulan gen berdekatan yang ditranskripsi ke dalam molekul mRNA tunggal.

Organotrophs adalah kelompok *chemotrops* yang mengoksidasi jajaran yang luas senyawa organik yang tersedia pada lingkungannya.

P

Phosphoenol Pyruvate (PEP) adalah prekursor pembentukan glukosa pada jalur glukoneogenesis.

Phosphoglycerate Mutase (PGM) adalah enzim yang mengkatalisis reaksi *isomerization*

Photosynthetic reaction centers (RCs) merupakan molekul klorofil spesial yang berfungsi sebagai bagian dari rantai transfer elektron

Phototrophs adalah organisme yang menangkap dan menggunakan cahaya matahari untuk memperoleh energi dan sumber karbon untuk mensintesis material selnya.

Pyruvate kinase mengkatalisis pemindahan gugus fosfat berenergi tinggi dari fosfoenolPyruvate ke ADP menghasilkan ATP dan Pyruvate.

Prebiotik adalah *food ingredient* yang tidak dapat dicerna pada pencernaan manusia tetapi difermentasi selektif oleh beberapa mikroflora kolon

Prekursor adalah zat awal dari suatu jalur metabolik

Probiotik merujuk pada "mikroorganisme hidup" yang dimakan dalam jumlah cukup yang berimplikasi pada kesehatan *hostnya*.

Produk hidrolisis ATP adalah *adenosine diphosphate* (ADP) dan *orthophosphate*, PO_4^{2-} (Pi) atau *adenosine monophosphate* (AMP) dan *pyrophosphate*, $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ (PPi).

Protein G adalah *transducer* yang mempunyai affinitas yang tinggi terhadap nukleotida guanine

Psychrophiles adalah organisme yang tumbuh optimal pada suhu rendah.

Pyruvate carboxylase merupakan enzim yang mengkatalisis perubahan Pyruvate menjadi *oxsaloacetate*.

R

Reaksi ampibolik adalah reaksi yang melibatkan kedua jalur anabolik dan jalur katabolik

Reaksi anabolik mensintesis semua senyawa yang diperlukan untuk pemeliharaan, pertumbuhan dan reproduksi sel.

Reaksi Gelap atau Siklus Calvin adalah proses fotosintesis yang mengubah CO_2 ke karbohidrat dengan menggunakan ATP dan NADPH yang dihasilkan reaksi terang

Reaksi Hill adalah reaksi yang membuktikan bahwa CO_2 tidak berpartisipasi secara langsung dalam reaksi penghasil O_2 .

Reaksi katabolik mendegradasi molekul besar untuk membebaskan molekul lebih kecil dan sejumlah energi

Reaksi terang merupakan proses fotosintesis yang menghasilkan energi kimia dalam bentuk NADPH dan ATP

Reseptor adalah protein membran yang mengenal dan berikatan dengan hormon spesifik.

Resonance energy transfer adalah transfer energi antara molekul klorofil antena yang merupakan klorofil sisa yang tidak terlibat pada transfer elektron.

Rubisco adalah enzim kunci pada siklus Calvin, Enzim ini mengkatalisis fiksasi CO₂ atmosfer masuk ke senyawa karbon.

S

Sel eukariot adalah sel yang mempunyai membran yang melingkupi DNA genomnya yang dikenal sebagai nucleus 'inti'

Sel prokariot adalah sel yang DNA genomnya tidak dibungkus membran tetapi tetap berada pada sitoplasma yang dinamakan dengan nucleoid 'daerah inti'

Short Chain Fatty Acids (SCFA) adalah salah satu produk fermentasi inulin oleh *Bifidobacteria* dan *Lactobacilli*.

Siklus Cori merupakan proses siklik laktat dan glukosa antara hati dan otot

Siklus TCA merupakan deretan delapan reaksi yang mengoksidasi gugus *acetyl* dari *acetyl-CoA* dengan melepaskan molekul CO₂ dan menyimpan energi dalam bentuk GTP, FADH₂ dan NADH

Sinbiotik adalah penambahan prebiotik pada produk yang mengandung probiotik

T

Thermophiles: organisme yang tumbuh optimal pada suhu tinggi

INDEKS

Aldolase, 244

Amylase, 244

Anabolisme, 18, 19, 21, 28, 46, 51, 244

Archae, 8, 9, 13

Archaea, 2, 7, 8, 9, 10, 14, 244

Asimilasi CO₂, 209, 213, 240, 244

ATP, 3, 27, 28, 44, 50, 52, 53, 54, 55, 56, 59, 62, 63, 65, 67, 69, 70, 73, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 83, 87, 88, 92, 93, 105, 111, 113, 114, 115, 116, 125, 126, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 135, 136, 137, 138, 140, 144, 146, 148, 149, 150, 154, 162, 163, 165, 166, 167, 169, 171, 173, 174, 177, 178, 179, 180, 182, 184, 189, 196, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 212, 215, 216, 218, 222, 224, 226, 232, 235, 236, 237, 238, 244, 246, 249, 250

Autotrophs, 11, 244

Bacteria (Eubacteria), 8, 244

Bakteri, 1, 4, 6, 7, 8, 11, 12, 14

Bakteri gram-negatif, 7, 244

Bakteri gram-positif, 244

Bifidobacteria, 31, 32, 33, 245, 250

Biokimia, i, 1, 14, 245

CAM (Crassulacean Acid Metabolism), ii, 3, 221, 237, 239, 245

Chemotrops, 11, 245

Chlorophyll, 183, 245

Dietary fiber, 25, 245

DNA, 4, 6, 7, 14

Energi bebas (ΔG), 245

Enolase, 245

Enzim allosterik, 38, 245

Enzim β-galaktosidase, 245

Enzim kovalen modulasi, 245

Enzim regulator, 36, 47, 245

Epinephrine, 44, 45, 245

Eukarya (Eukaryotes), 9, 246

Extremophile, 246

Fermentasi alkohol, 83, 246

Fermentasi laktat, 246

Fiksasi CO₂ atau fiksasi karbon, 246

Phosphofruktokinase, 73, 246

Fosforilasi oksidatif, 246

Fotosintesis, 173, 182, 246

Fruktosa, 72, 73, 74, 78, 88, 95, 164, 246

Galaktosa, 95, 164, 246

Gen, 2

Glikolisis, 67, 68, 69, 71, 79, 80, 81, 135, 136, 163, 170, 246

Glukoneogenesis, 246

Heterotrops, 247

Hexokinase, 70, 95, 164, 247

Hyperthermophiles, 12, 15, 247

Inulin, 243

Jalur Hatch-Slack atau jalur C₄, 247

Jalur Leloir, 164, 247

Jalur metabolik (metabolic pathway), 19, 34, 247

Karbohidrat, 1, 3, 4, i, ii, 50

Katabolisme, 18, 19, 23, 27, 28, 36, 46, 48, 51, 173, 247

Kloroplas, 179, 180, 205, 231, 237, 247

Lithotrops, 247
Maltase, 25, 248
Mannosa, 96, 164, 248
Mesophiles, 12, 15, 248
 Metabolisme primer, 248
 Metabolisme sekunder, 248
 Metabolisme, 1, 3, 4, 6, 17, 18, 24,
 34, 46, 47, 48, 95, 139, 150, 159,
 164, 168, 173, 174, 248
 Metabolisme bahan bakar (fuel
 metabolism), 248
 Metabolit, 38, 105, 164, 248
 Mikroorganisme, 2, 8, 9, 12, 15
 Mitokondria, 9
 Mitokondria, 113, 117, 248
Mycoplasmas, 7, 248
 NAD⁺ dan NADP⁺, 57, 59, 248
 NADH dan FADH₂, 28, 58, 113,
 248
 NADPH, 50, 56, 58, 59, 60, 62, 66,
 108, 146, 154, 157, 158, 167, 173,
 174, 176, 178, 179, 189, 199, 200,
 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207,
 208, 212, 215, 218, 222, 234, 235,
 236, 237, 238, 248, 250
 Operon, 36, 37, 248
 Organel, 9
Organotrophs, 11, 249
Phosphoenol Pyruvate (PEP),
 249
Phosphoglycerate Mutase
 (PGM), 249
Photosynthetic reaction centers
 (RCs), 249
Phototrophs, 11, 15, 249
Pyruvate kinase, 249
 Prebiotik, 29, 46, 249
 Prekursor, 85, 163, 249
 Probiotik, 29, 31, 249
 prokariot, 4, 6, 7, 8, 9, 14
 Protein, 1, 3, 4, i, ii
 Protein G, 44, 249
Psychrophiles, 12, 15, 249
Pyruvate carboxylase, 87, 249
 reaksi, 3, 5
 Reaksi katabolik, 21, 46, 249
 Reaksi anabolik, 21, 46, 250
 Reaksi Gelap atau Siklus
 Calvin, 250
 Reaksi Hill, 176, 250
 Reaksi katabolik, 21, 250
 Reaksi Terang, 201, 250
 Reseptor, 43, 250
Resonance energy transfer, 250
 RNA, 7
 rRNA, 7
 Rubisco, 209, 210, 211, 216, 218,
 220, 221, 239, 247, 250
 Sel, i, ii, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 14, 49
 Sel, i, ii, 7, 14
 Sel eukariot, 250
 Sel prokariot, 7, 14, 250
Short Chain Fatty Acids (SCFA),
 250
 Siklus Cori, 82, 250
 Siklus TCA, 105, 164, 165, 250
 Sinbiotik, 31, 250
 Sitoplasma, 4, 5, 6, 7
 Supramolekul, 3
Thermophiles, 12, 15, 250
 Virus, 7