



BIOKIMIA

Kinetika Enzim

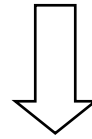
DOSEN PENGAMPU

Dr. apt. Dian Ratih Laksmitawati, M.Biomed
dian.ratih@univpancasila.ac.id

Dr. apt. Yati Sumiyati, M.Kes
yati.Sumiyati@univpancasila.ac.id

apt. Moordiani, S.F, M.Sc
mdiani@univpancasila.ac.id

Enzim = Biokatalisator



Mempercepat reaksi kimia,

✦ **tanpa mengubah reaksi**

✦ **tanpa mengubah kesetimbangan reaksi**

✦ **tanpa mengalami perubahan yang permanen**

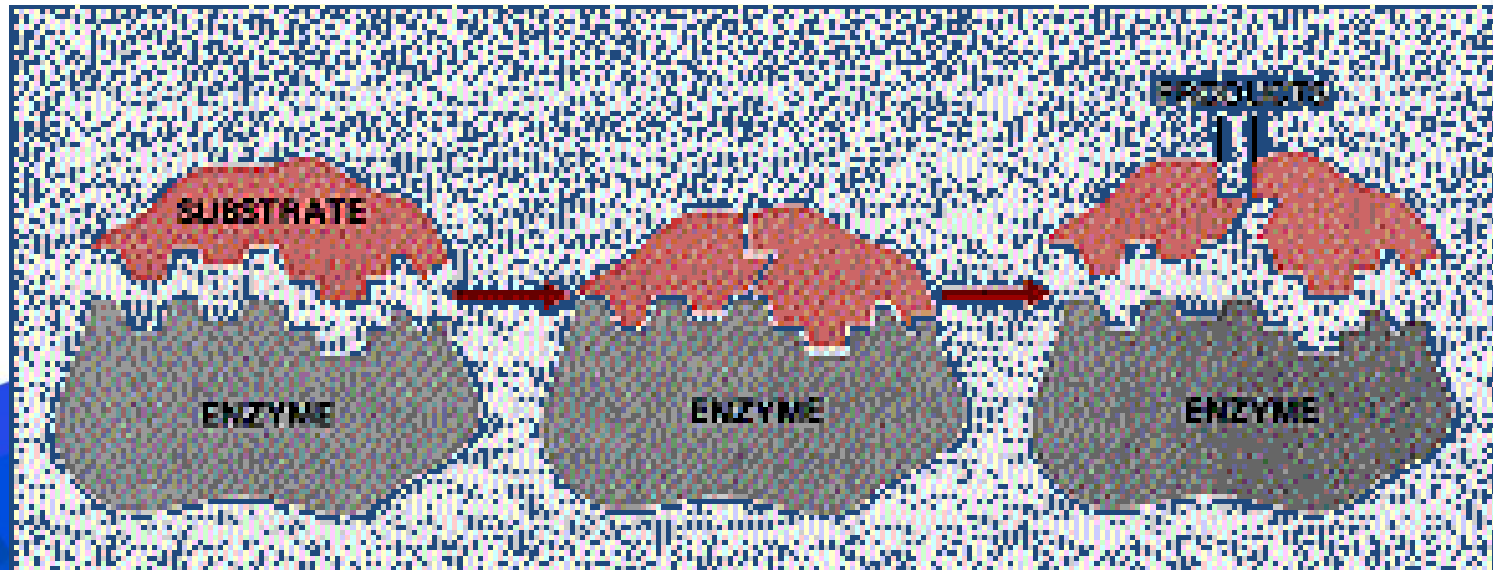
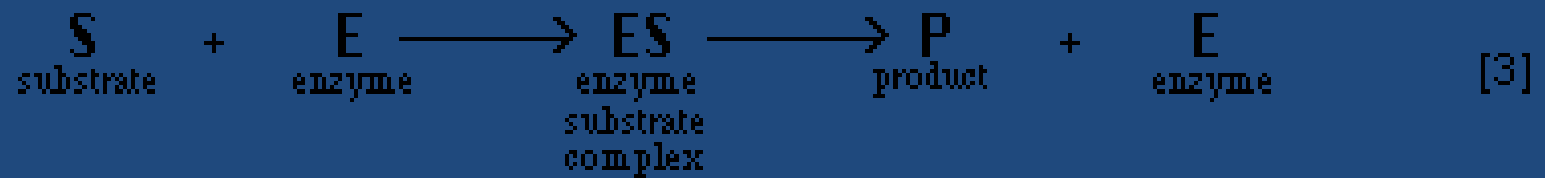
Tahapan Kerja Enzim

- ✦ **Enzim dan substrat** harus berada dalam **lokasi** yg sama.
- ✦ Substrat berikatan dengan bagian tertentu enzim (**situs aktif**/situs pengikatan): **Konformasi** molekul substrat harus “**fit**” dengan situs aktif enzim. Jika substrat diumpamakan anak kunci, maka situs aktif enzim merupakan lubang kuncinya

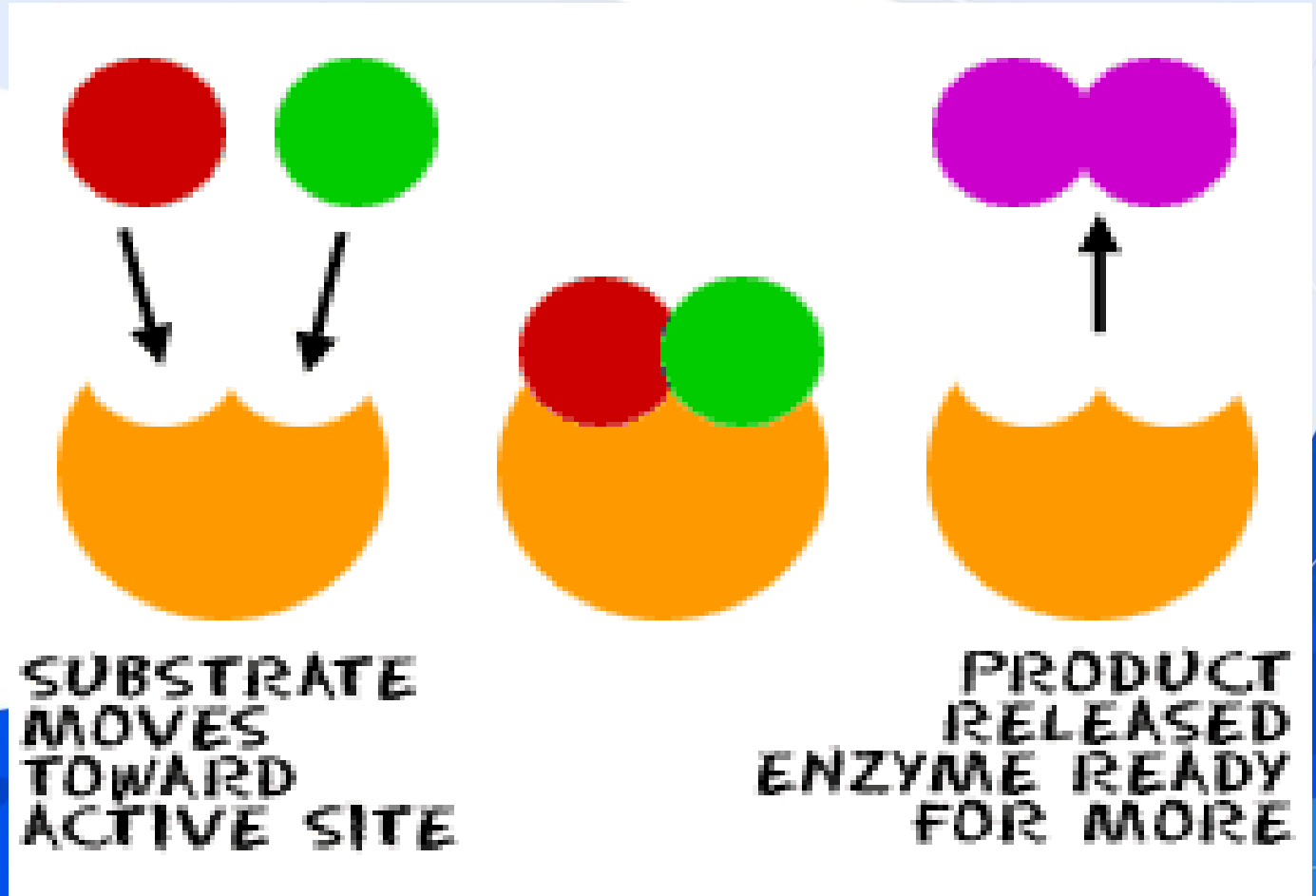
Tahapan Kerja Enzim

- ✦ Terjadi **proses katalitik** → substrat berubah menjadi bentuk lain
- ✦ Terjadi **pelepasan ikatan** antara enzim dengan “bentuk lain” tersebut
 - ✦ Bentuk lain terlepas sebagai produk
 - ✦ Enzim kembali ke bentuk semula

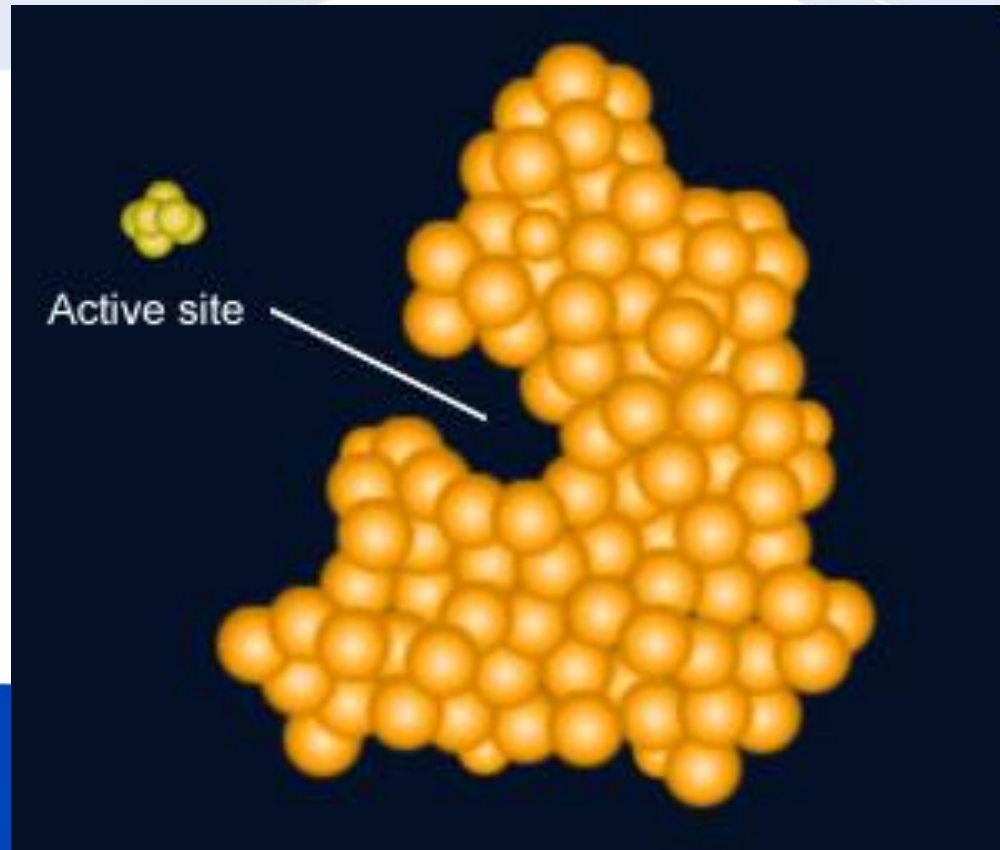
Reaksi Enzimatis



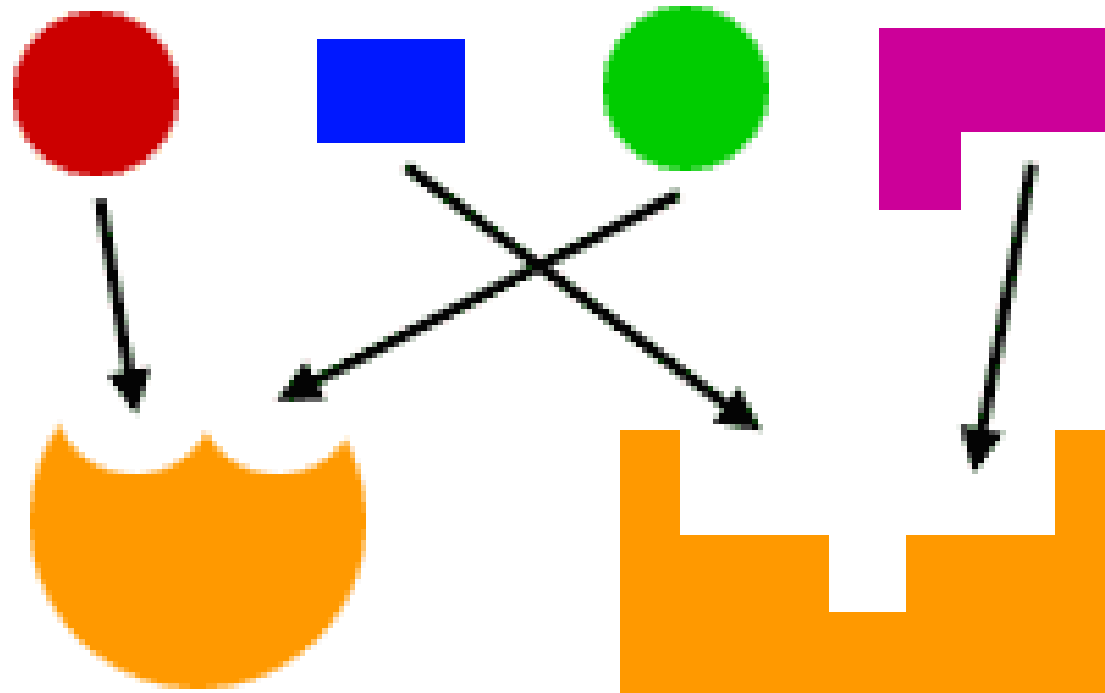
Reaksi enzimatik



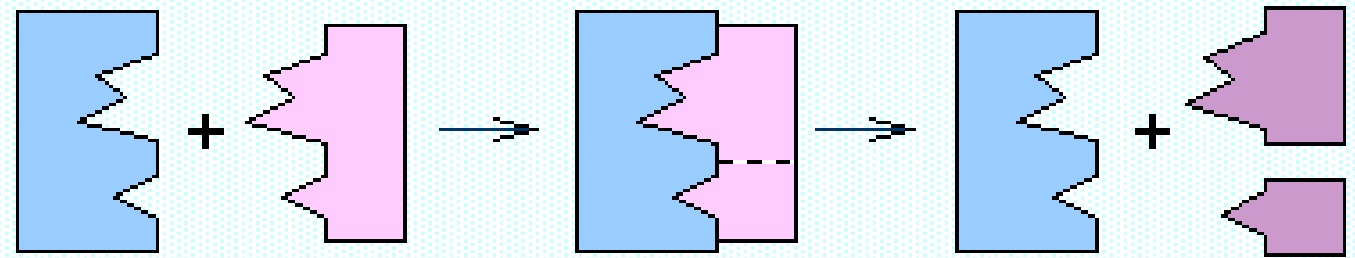
Situs Aktif Enzim



Spesifisitas Enzim



ENZYMES ARE VERY SPECIFIC
AND ONLY WORK WITH
CERTAIN SUBSTRATES



Enzyme

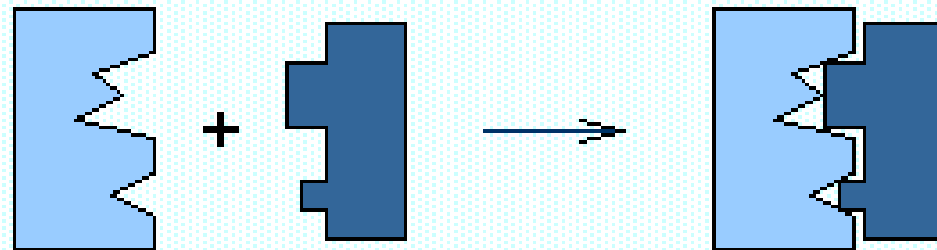
Substrate

Enzyme-substrate
complex

Enzyme

Products

Enzyme - substrate fit



Enzyme

Substance

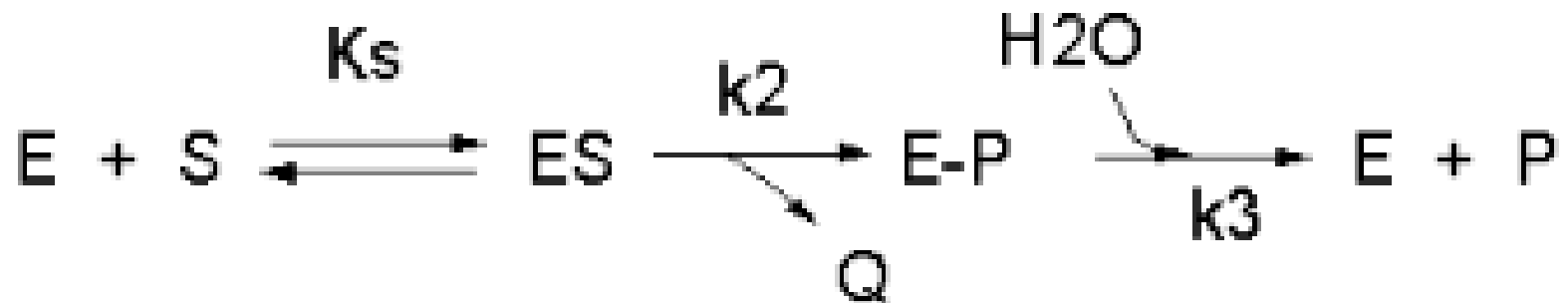
Unable to form
enzyme-substrate
complex

Incompatible Enzyme - substrate

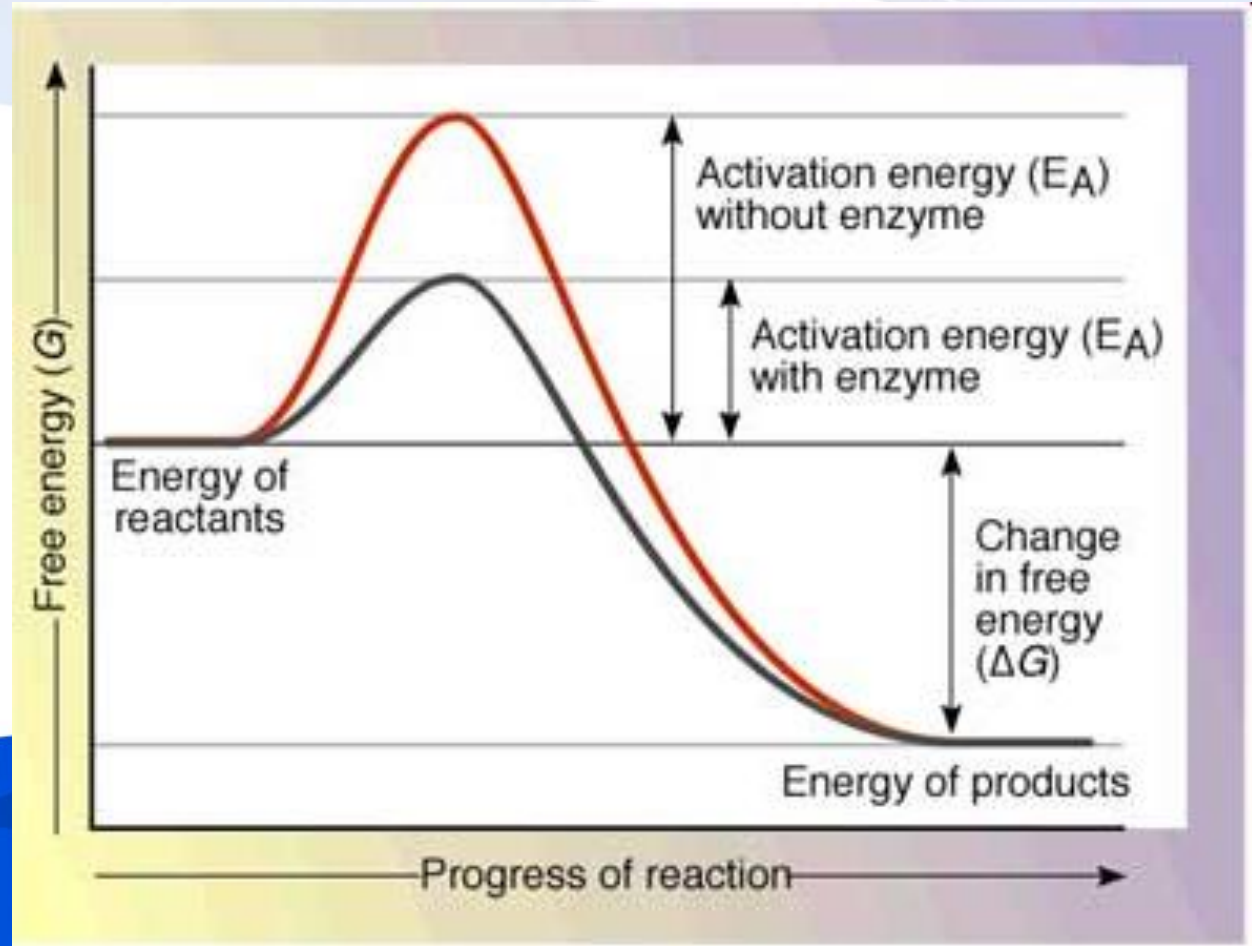
Spesifisitas Enzim

- ✦ **Spesifisitas Absolut** - enzim hanya dapat mengkatalisis **satu reaksi**.
- ✦ **Spesifisitas gugus** – enzim akan bekerja hanya pada senyawa-senyawa yang memiliki **gugus fungsional tertentu**, misalnya gugus amina, fosfat, metil dan lain sebagainya.
- ✦ **Spesifisitas ikatan** – enzim akan bekerja hanya pada senyawa-senyawa yang **memiliki jenis ikatan kimia tertentu**, tanpa dipengaruhi oleh struktur molekul secara keseluruhan.
- ✦ **Spesifisitas Stereo-chemical/optik** - enzim akan bekerja hanya pada **isomer optis** atau isomer steris tertentu.

Mekanisme Reaksi Enzimatis



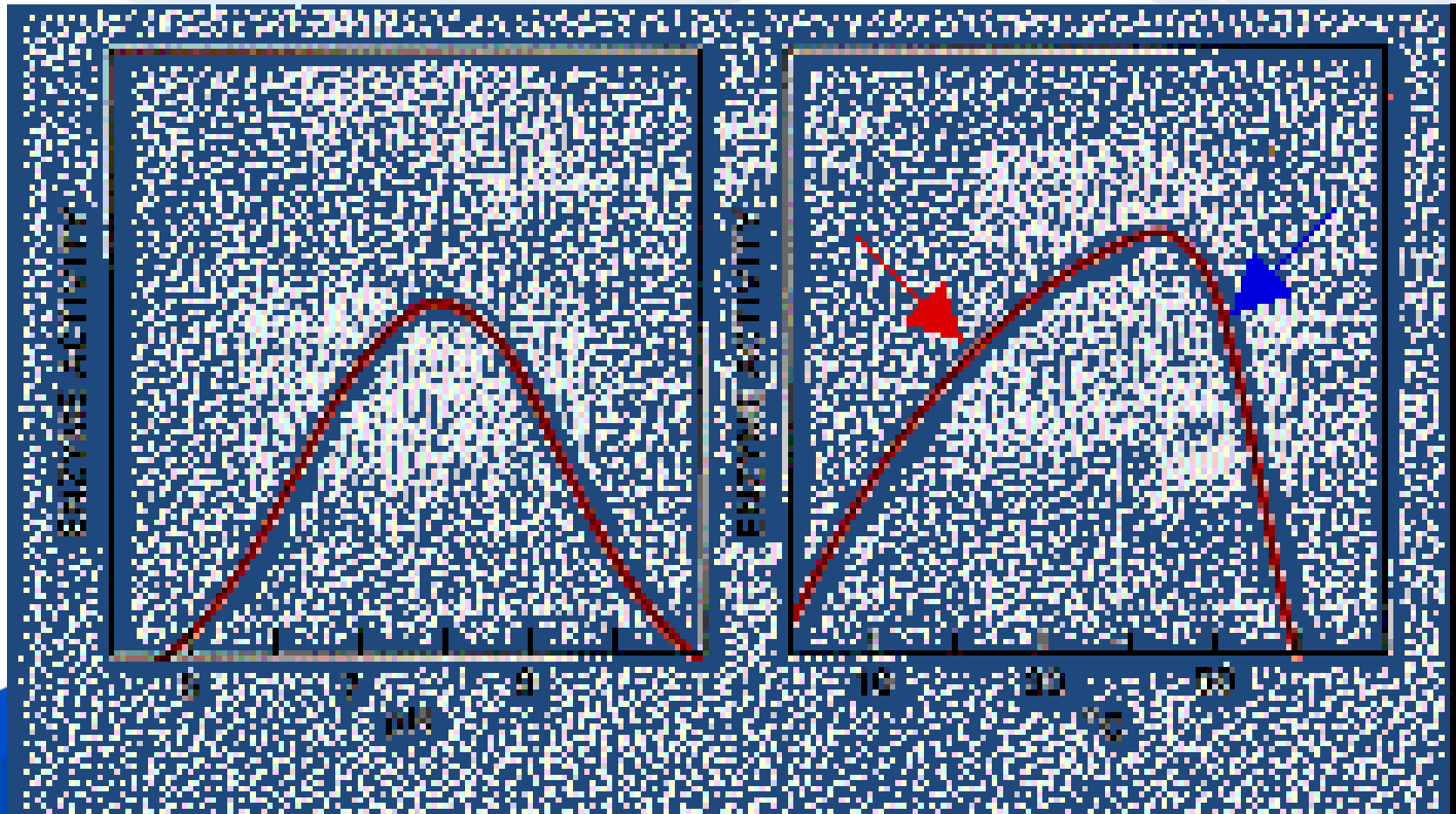
Penurunan Energi Aktivasi oleh aktivitas enzim



Faktor yang Mempengaruhi Kerja Enzim

- Suhu
- pH
- Aktivator
- Inhibitor
- Konsentrasi enzim
- Konsentrasi substrat

Efek pH dan suhu



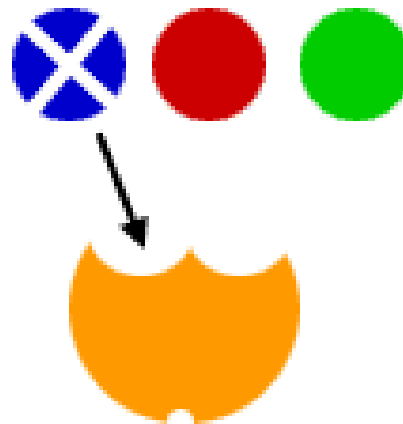
Activator & Inhibitor



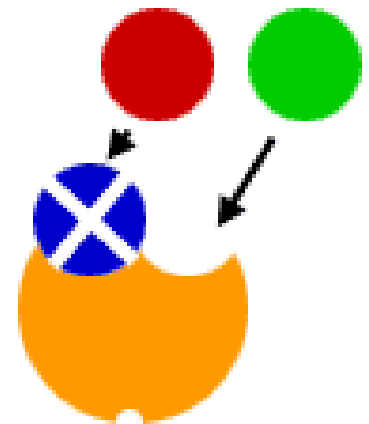
NORMAL
ENZYME
WORKING



ENZYME WITH
ACTIVATOR
HAS IMPROVED
ABILITIES

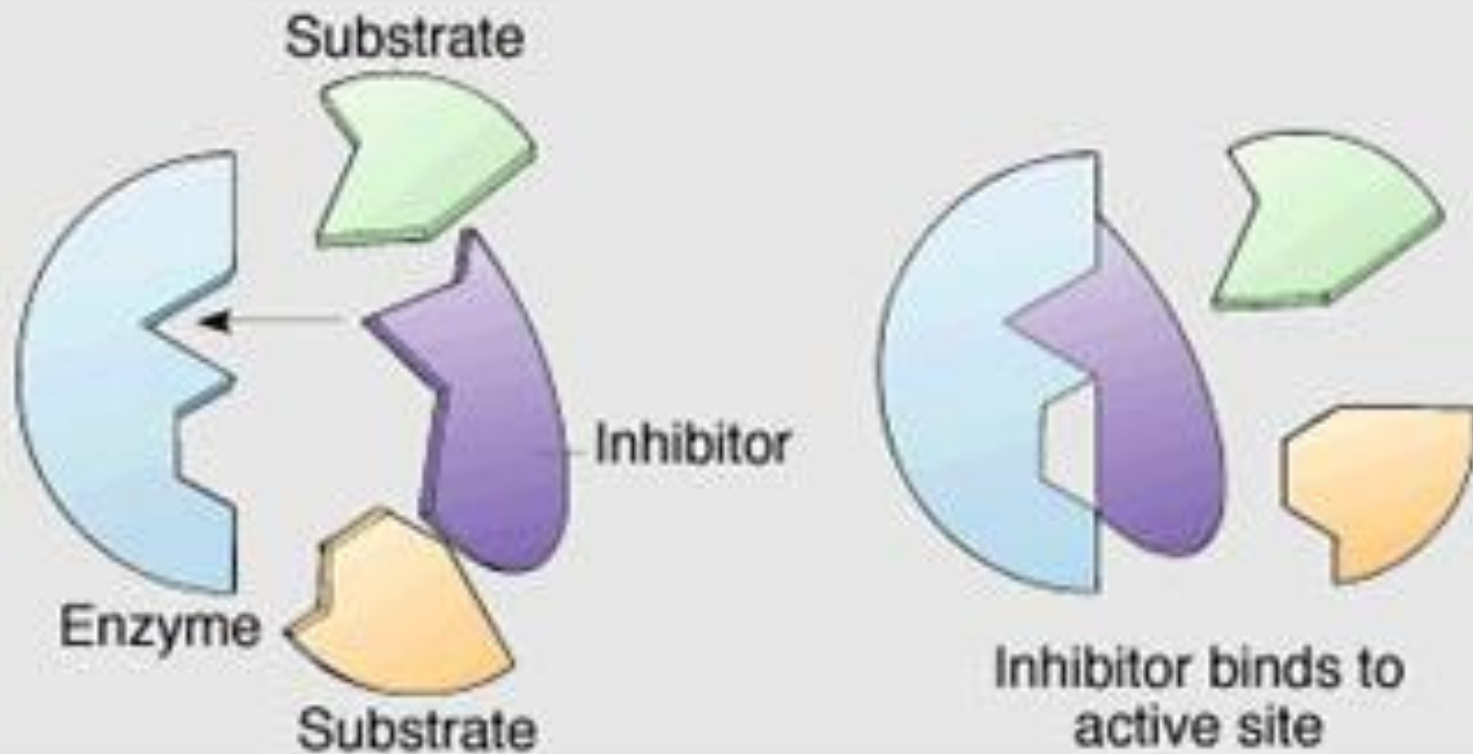


INHIBITOR
BONDS TO
ENZYME



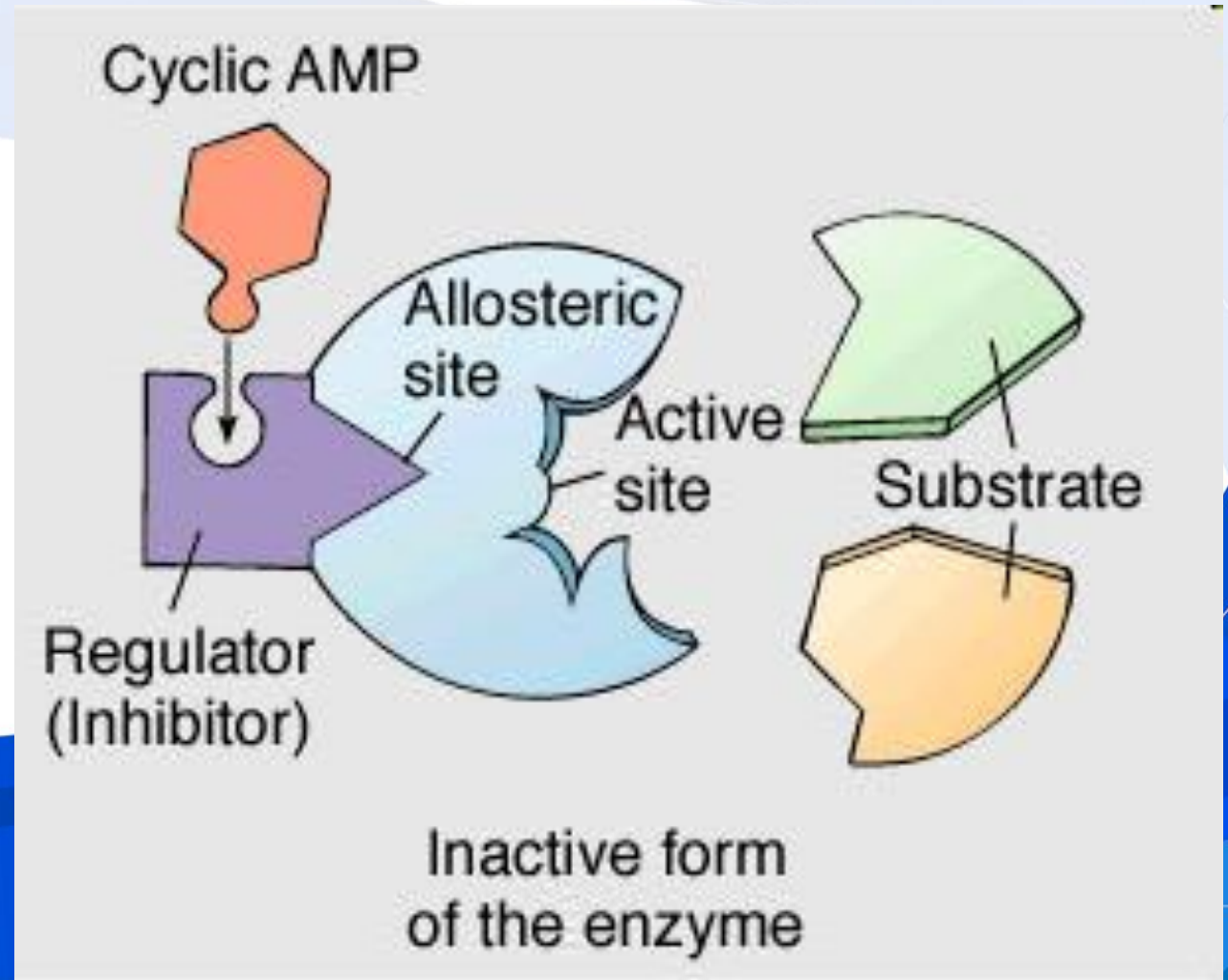
SUBSTRATE
CANNOT
BOND TO
ACTIVE SITE

Inhibisi kompetitif

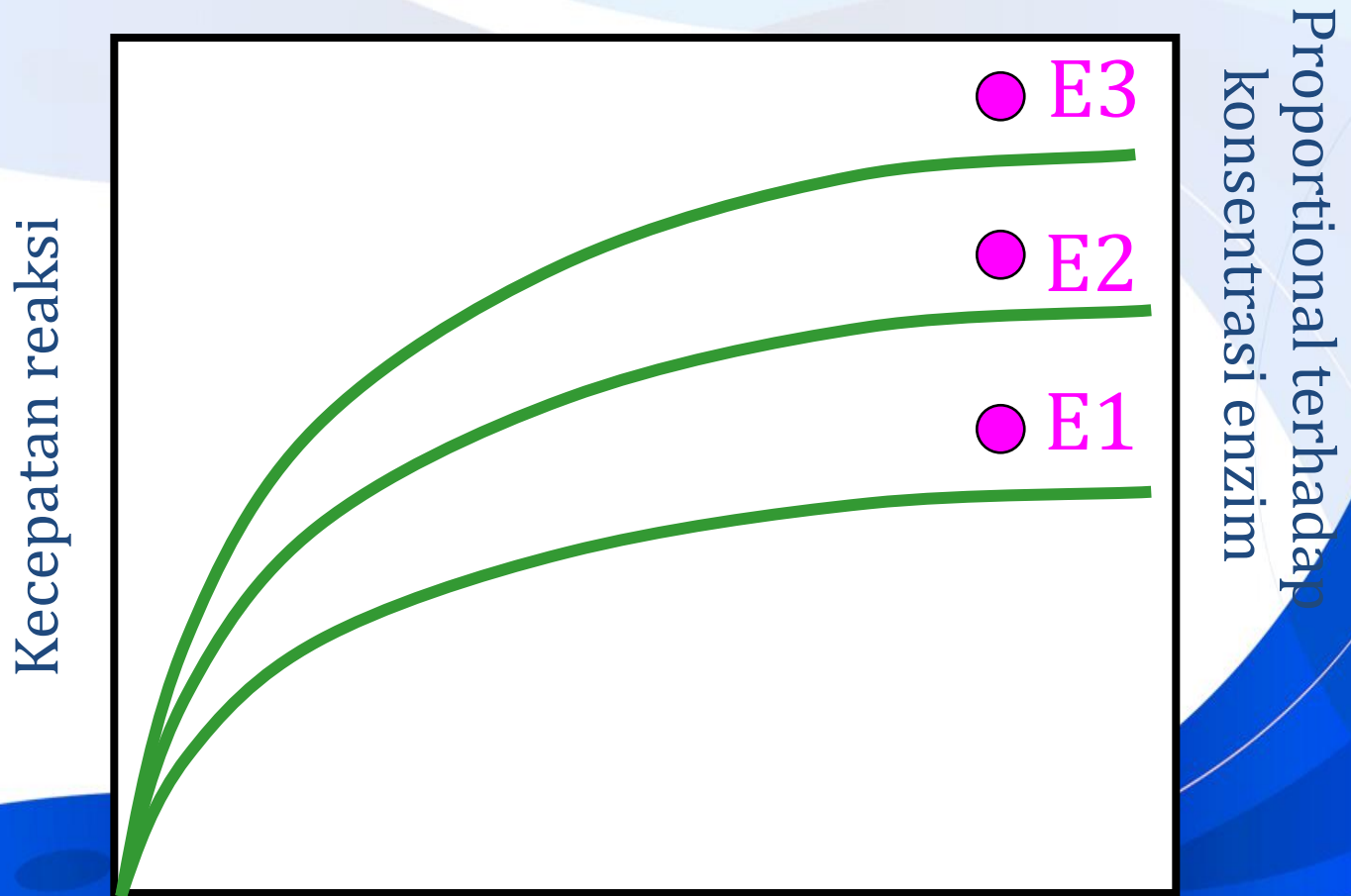


Competitive inhibition

Inhibisi non-kompetitif

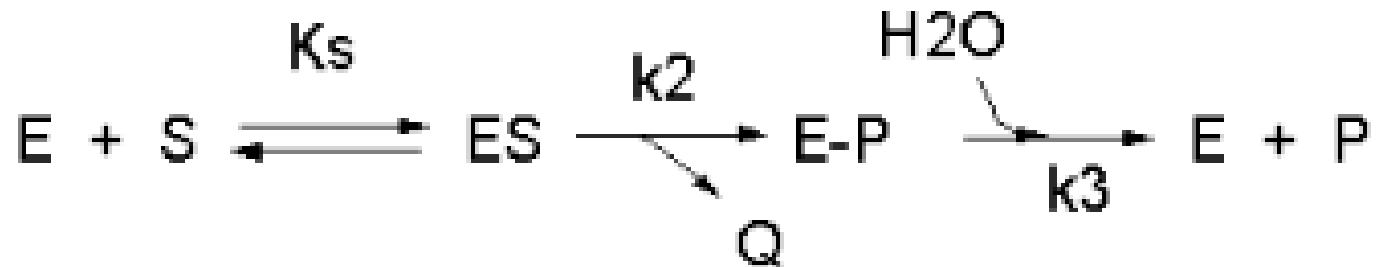


Pengaruh konsentrasi enzim



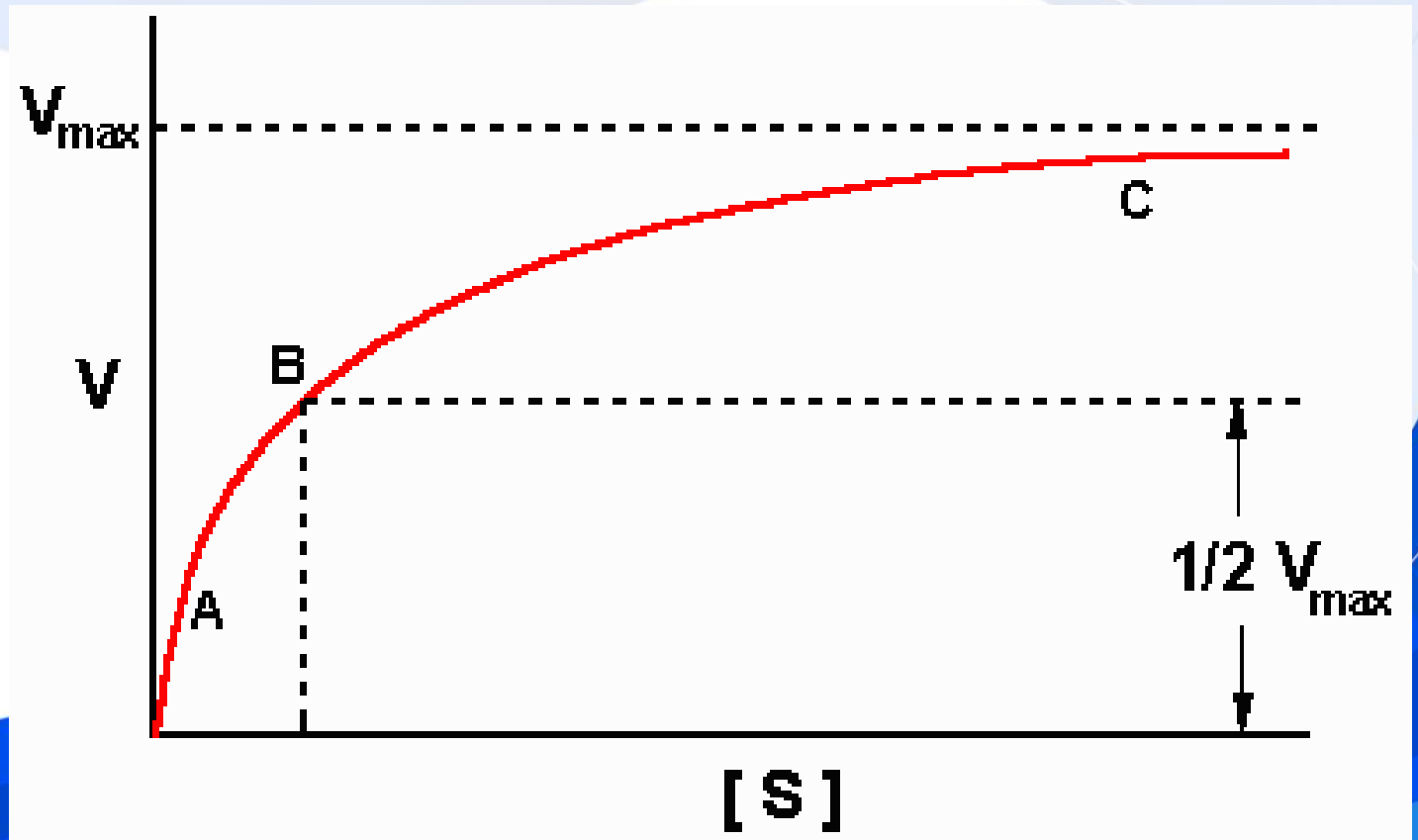
Kinetika Enzim

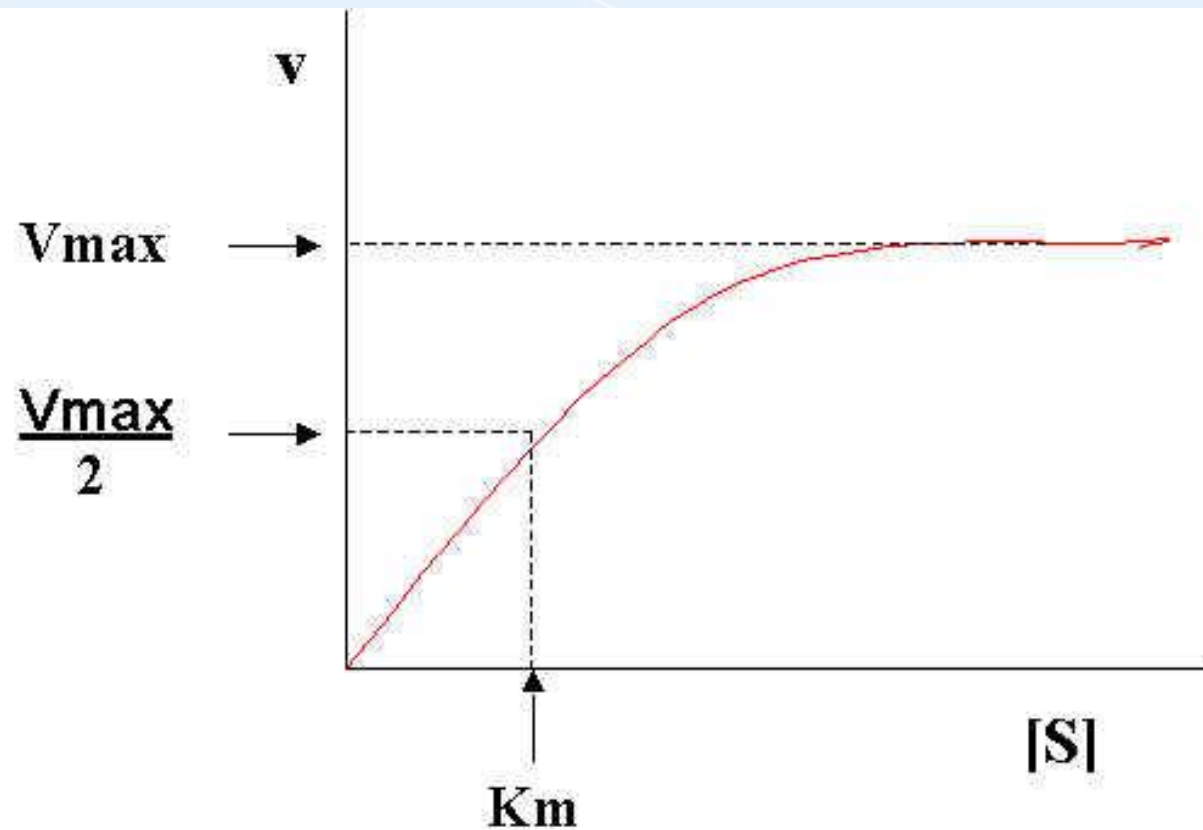
Mekanisme Reaksi Enzimatis



Pada kondisi *steady-state*
(kecepatan pembentukan {ES} = kecepatan penguraian {ES})

Plot V vs S





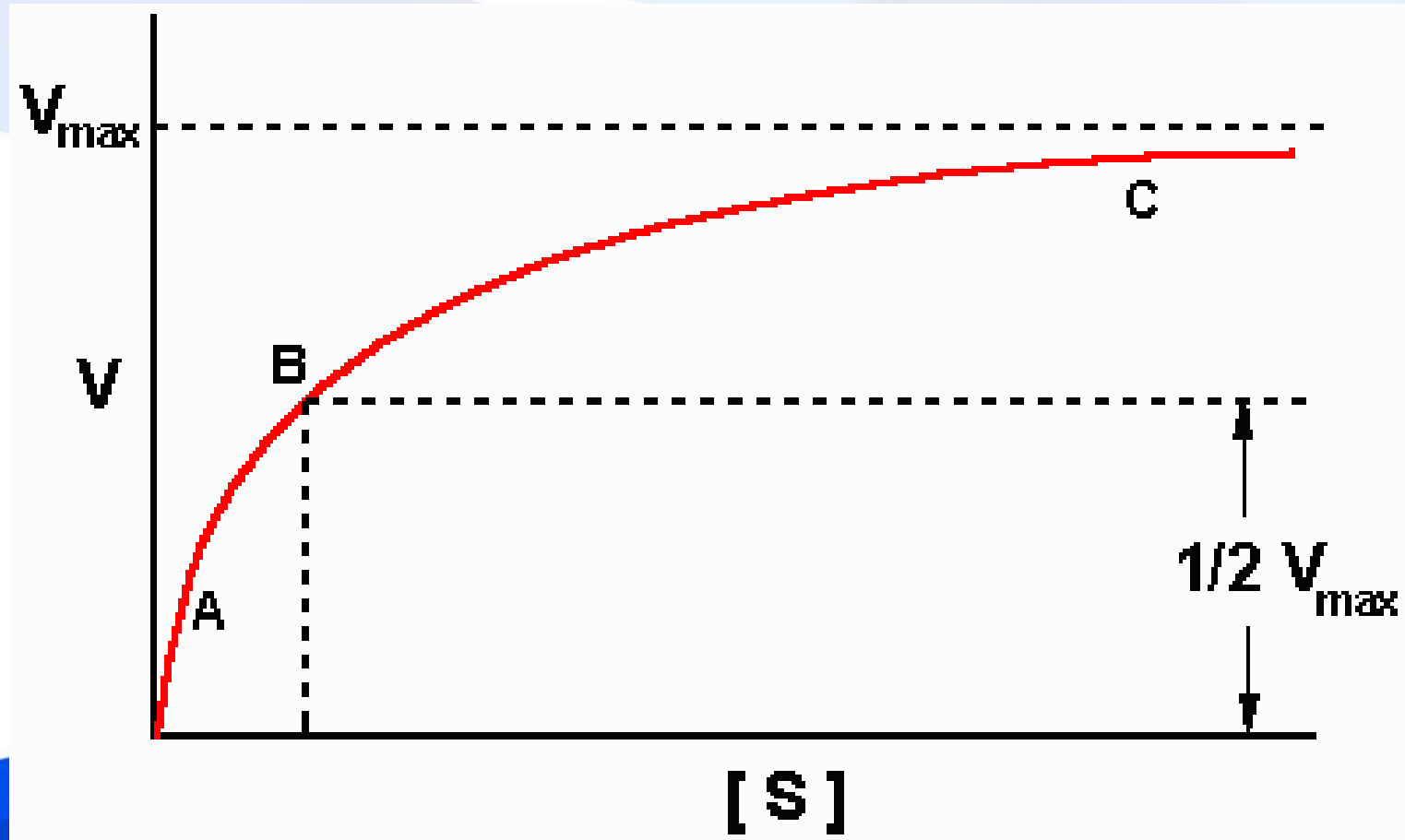
- $V_{\max}$ is maximal rate under saturating $[S]$
- $K_m = [S]$ saat $v = \frac{1}{2} V_{\max}$

- **V_{max}** is maximal rate under saturating [S]
- **K_m**, the **Michaelis constant**, is defined as the concentration of substrate at which initial rate, v , is equal to **$\frac{1}{2}$ of V_{max}**
- Thus when $v = \frac{1}{2}$ of V_{max}; [S] = K_m.

Persamaan Michaelis-Menten

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

Plot V vs S (Michaelis-Menten)



Konstanta Michaelis (K_m): konsentrasi substrat dengan v_i adalah $1/2 V_{\max}$ yg dapat dicapai pada konsentrasi tertentu enzim.

Soal-1

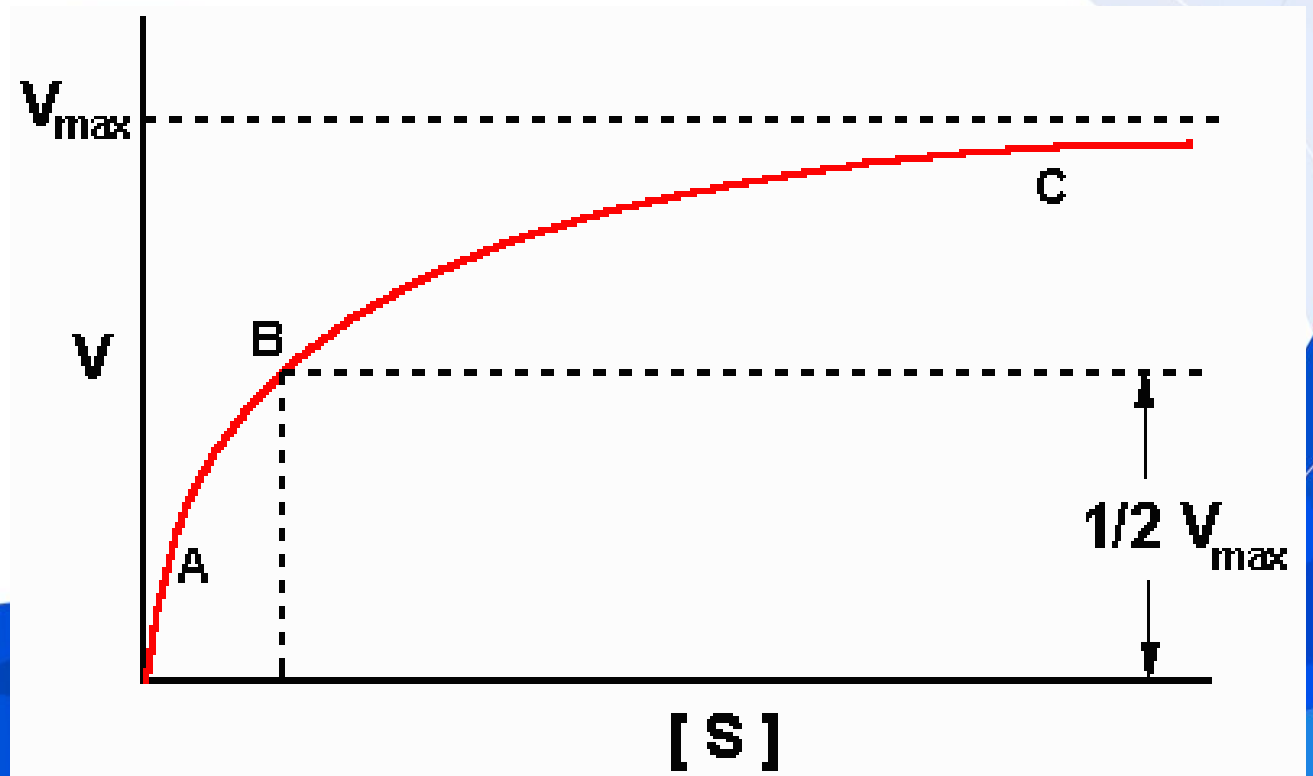
Anda adalah seorang peneliti yang sedang mempelajari karakteristik satu enzim yang baru ditemukan. Untuk itu Anda mengukur kecepatan reaksi enzimatik pada kadar substrat yang berbeda. Data yang diperoleh sebagai berikut:

[substrat] (mM)	Kecepatan awal reaksi (mmol/min)
3,0	10,4
5,0	14,5
10,0	22,5
30,0	33,8
90,0	40,0
120,0	40,0

Soal-1

- a) Buat kurva yang menunjukkan hubungan antara konsentrasi substrat dengan kecepatan reaksi, lalu tentukan nilai V_{max}
- b) Hitung K_m . Perlihatkan semua persamaan dan perhitungan yang Anda gunakan.
- c) Anda kemudian melakukan eksperimen kedua terhadap enzim ini menggunakan konsentrasi enzim yang lebih rendah, yaitu sepertiganya. Buat kurvanya kembali, dan tentukan nilai V_{max} dan K_m dari kurva yang kedua ini.

Plot V vs S (Michaelis-Menten)



The Michaelis-Menton Equation

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

The Lineweaver-Burke Equation

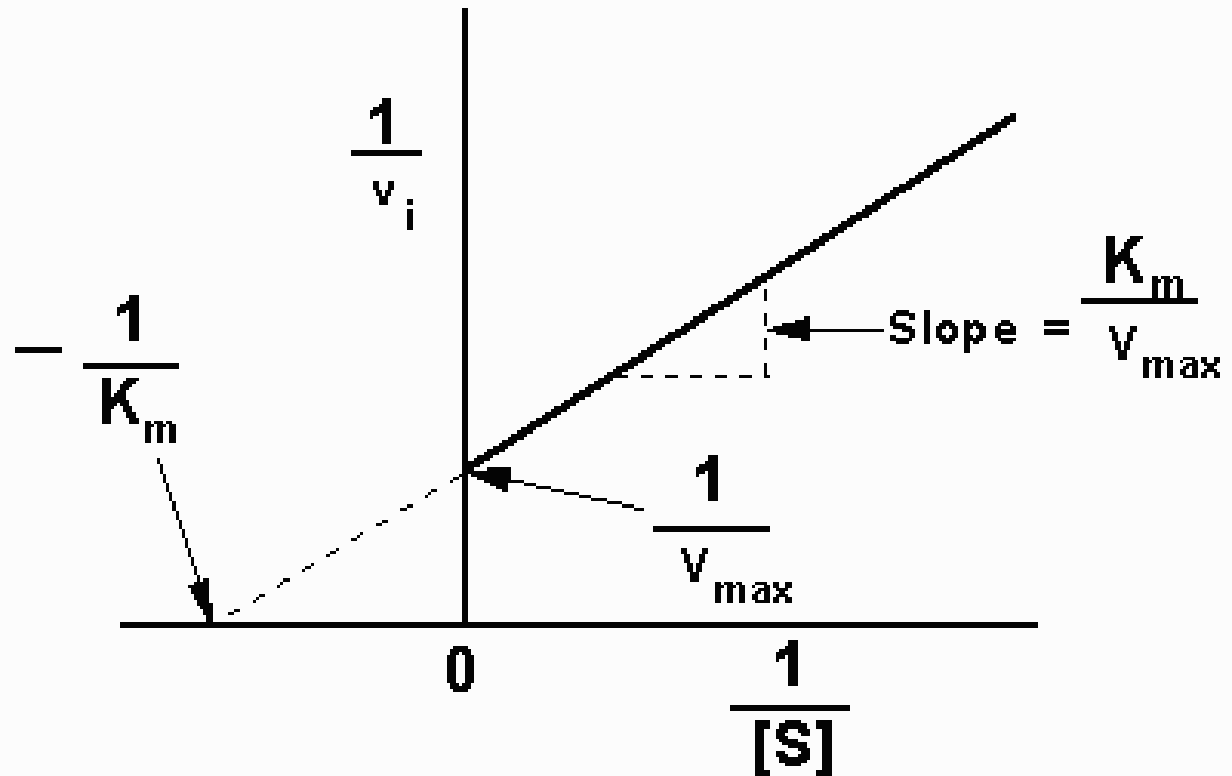
$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{v_{\max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{v_{\max}}$$

Jawaban

- $K_m = (\text{approximately}) 10\text{mM}$
- $V_{\text{max}} = (\text{approx}) 40 \text{ mmol/min}$
- K_m stays the same as in part a, $V_{\text{max}} = 1/3 \text{ original} \rightarrow V_{\text{max}} = (\text{approx}) 13$

Plot Lineweaver-Burk

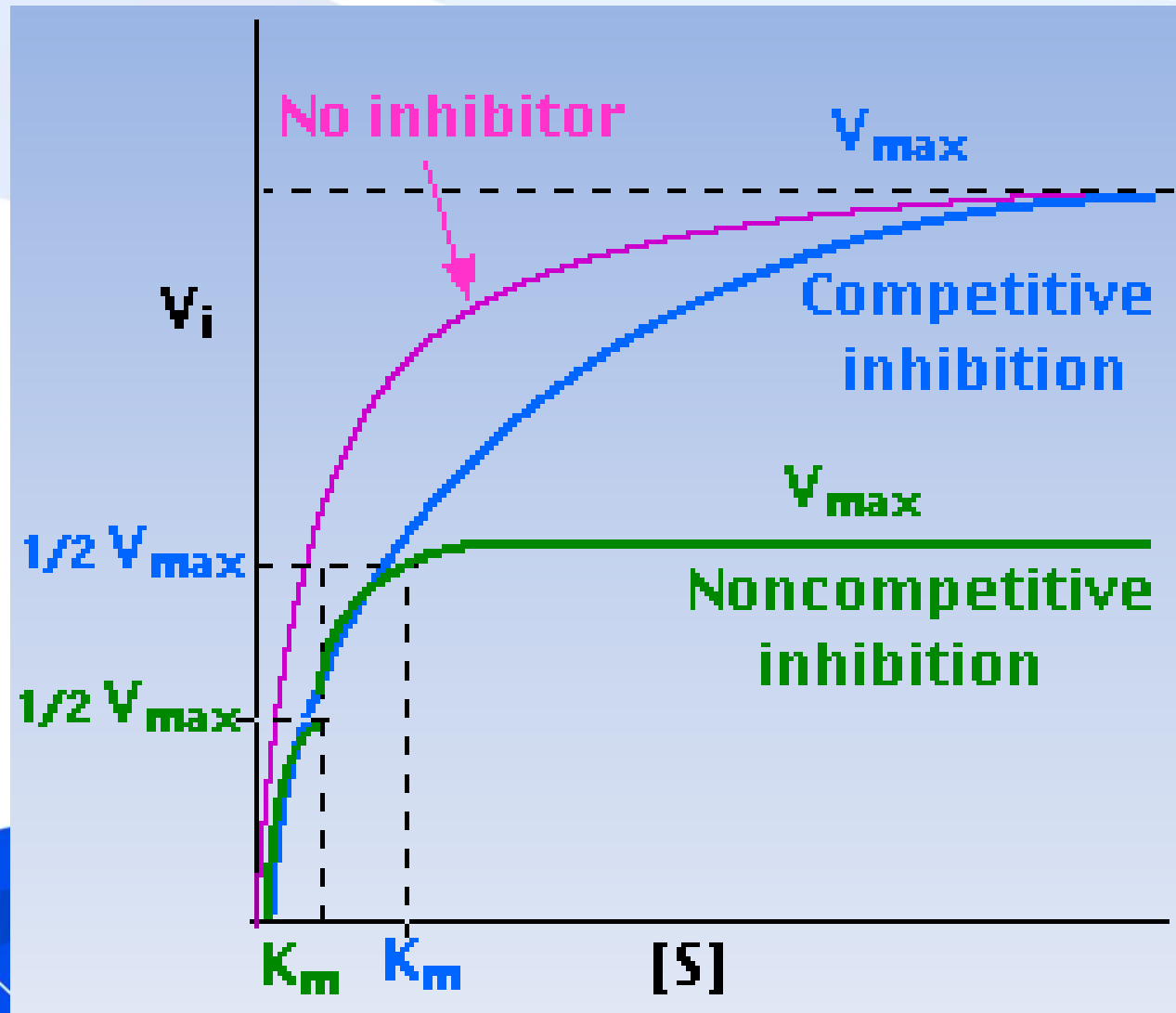
Plot $1/v$ versus $1/[S]$ menghasilkan **kurva garis lurus**, dengan *slope* adalah $K_m/V_{\max}$ dan *intercept* pada ordinat adalah $1/V_{\max}$.

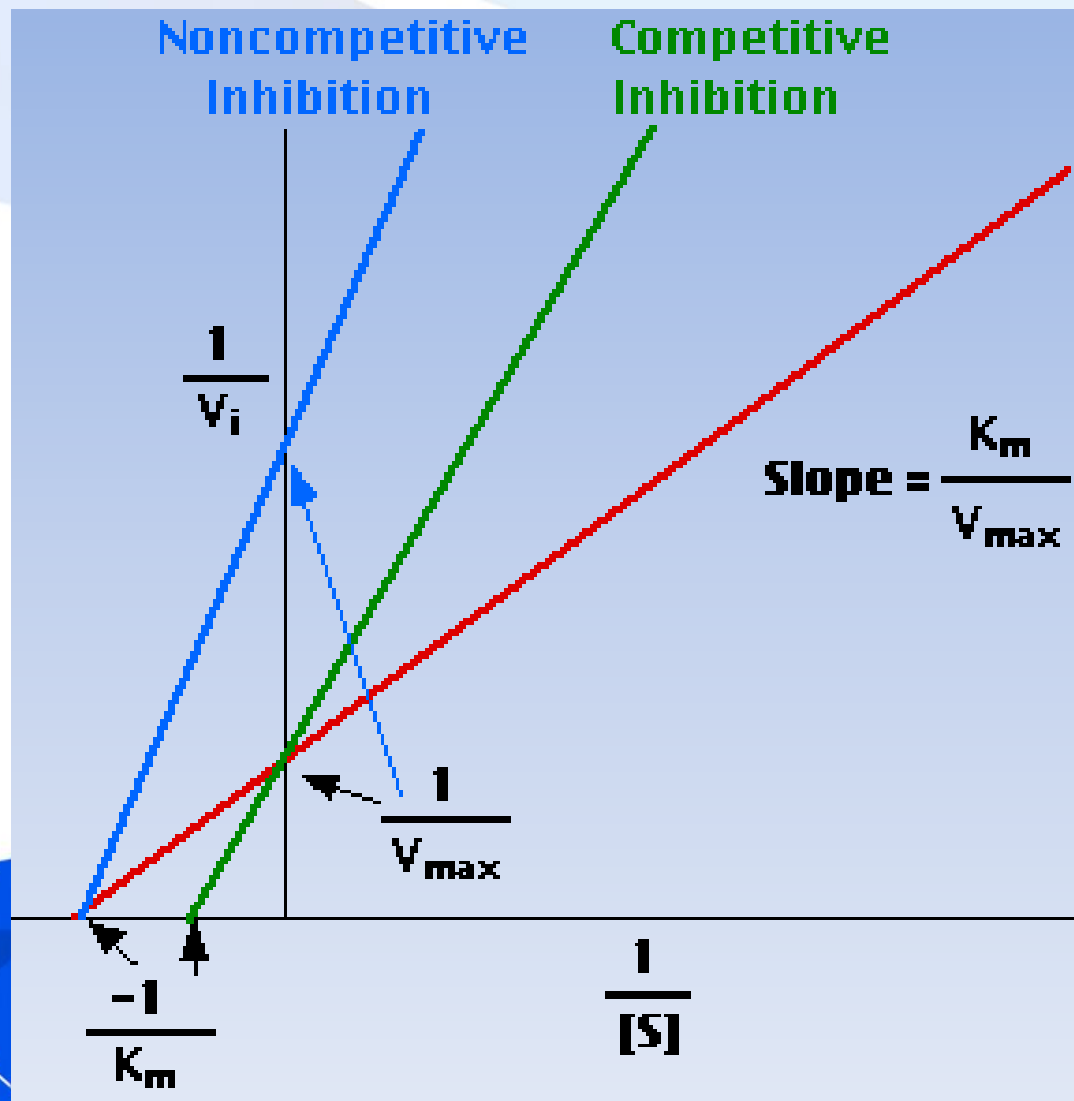


1	Substrat		Kec tanpa inhibitor		Kec dgn inhibitor	
2	[S]	1/[S]	V₀	1/V₀	V₀	1/V₀
3	3,0	0,333	10,40	0,096	0,11	9,091
4	5,0	0,200	14,50	0,069	0,12	8,333
5	10,0	0,100	22,50	0,044	0,14	7,143
6	30,0	0,033	33,80	0,030	0,16	6,250
7	90,0	0,011	40,00	0,025	0,20	5,000
8	120,0	0,008	40,00	0,025	0,23	4,348
9						
10	Tanpa inhibitor					
11	Intercept =	1/Vmax =	0,02	Vmax =	44,001	
12	Slope =	km/vmax =	0,22	km =	10	
13						
14						
15						
16	Dengan inhibitor					
17	Intercept =	1/Vmax =	5,17	Vmax =	0,193	
18	Slope =	km/vmax =	13,32	km =	3	

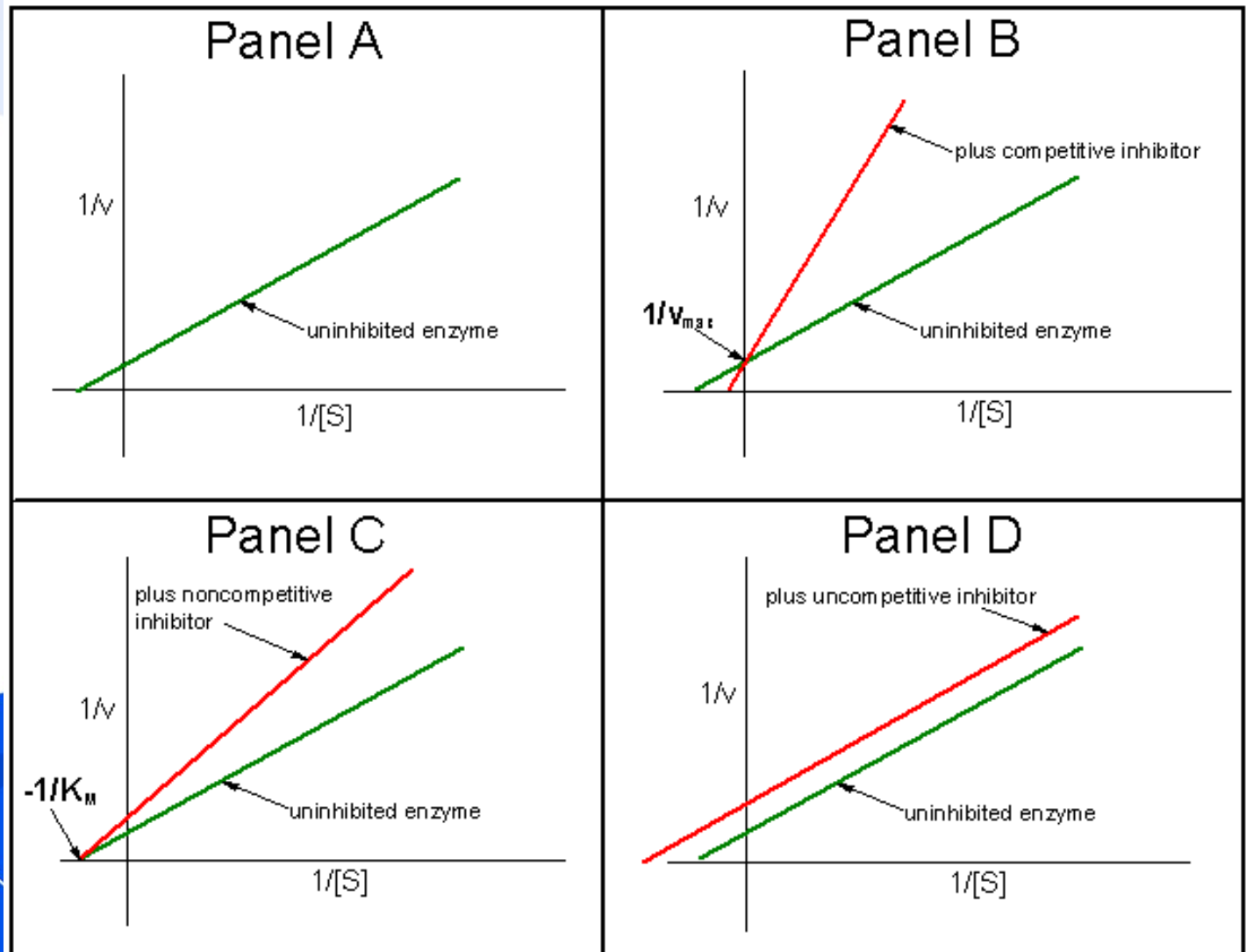
Inhibitor

Inhibitor Type	Binding Site on Enzyme	Kinetic effect
Competitive Inhibitor	Specifically at the <u>catalytic site</u> , where it competes with substrate for binding in a dynamic equilibrium- like process. Inhibition is <u>reversible by substrate</u> .	$V_{\max}$ is unchanged; K_m , as defined by [S] required for 1/2 maximal activity, is <u>increased</u> .
Noncompetitive Inhibitor	Binds <u>E or ES complex</u> other than at the <u>catalytic site</u> . Substrate binding unaltered, but <u>ESI complex cannot form products</u> . Inhibition cannot be reversed by substrate.	K_m appears unaltered; $V_{\max}$ is <u>decreased</u> proportionately to inhibitor concentration.
Uncompetitive Inhibitor	Binds only to <u>ES complexes</u> at locations other than the catalytic site. Substrate binding modifies enzyme structure, making inhibitor- binding site available. Inhibition cannot be reversed by substrate.	Apparent $V_{\max}$ <u>decreased</u> ; K_m , as defined by [S] required for 1/2 maximal activity, is <u>decreased</u> .





Lineweaver-Burk Plots of Inhibited Enzymes



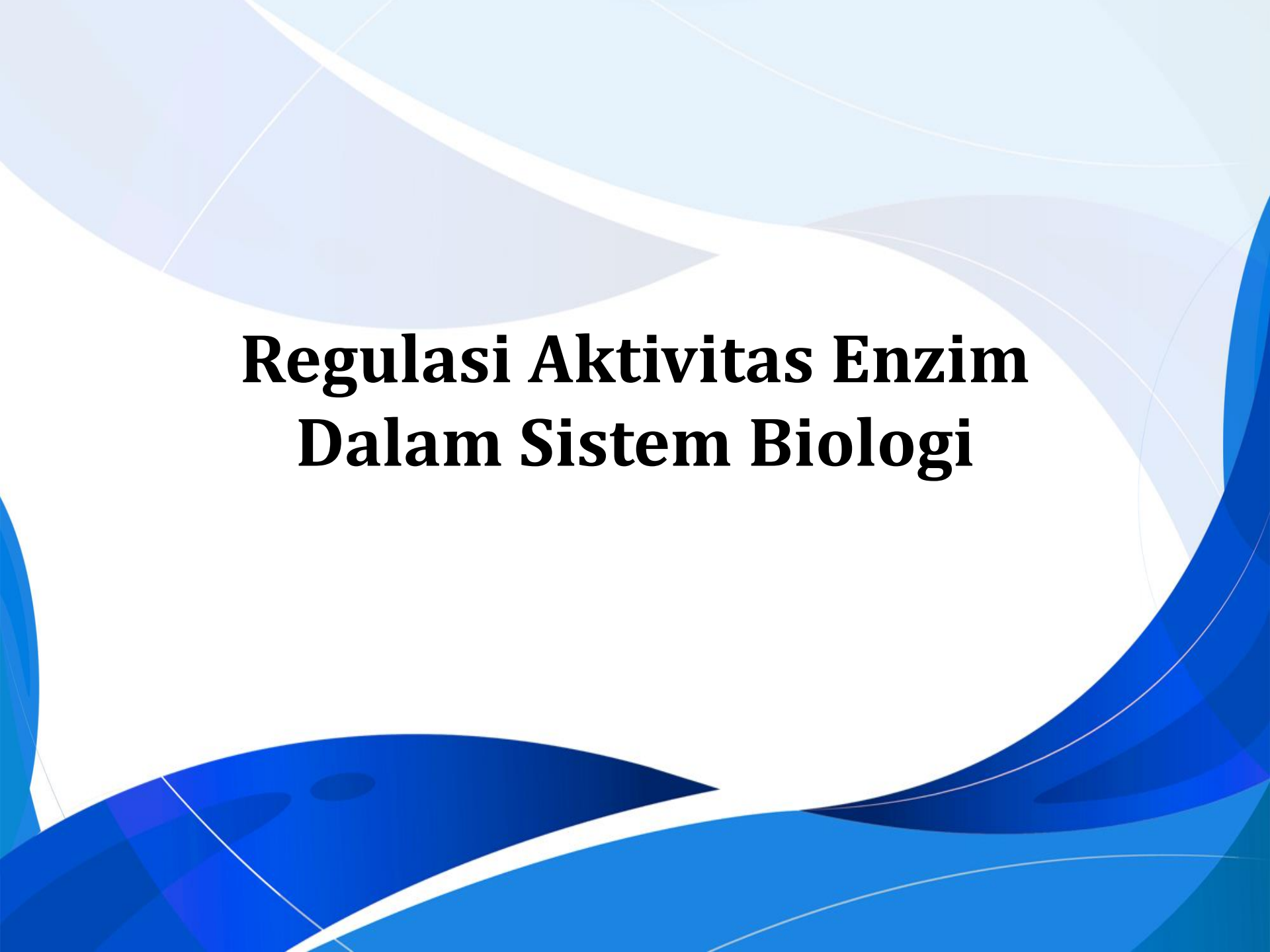
Suatu eksperimen dilakukan untuk mempelajari karakteristik suatu enzim menggunakan enzim dengan kadar 10^{-9} M . Data yang diperoleh sebagai berikut:

Soal-2

[substrate] (μ M)	initial reaction velocity (μ mol/min)
2	7
5	17
10	29
20	44
50	67
100	80
200	89
500	95
1000	98

Soal-2

- a. Hitung nilai K_m and V_{max} , menggunakan plot Lineweaver-Burke
- b. Apabila eksperimen diulang menggunakan enzim dengan kadar lima kali lipat, bagaimana pengaruhnya terhadap nilai K_m dan V_{max} ? Kalau ada perubahan, hitung nilai K_m dan V_{max} tersebut
- c. Sebuah toksin ditambahkan pada campuran reaksi, dan diketahui toksin tersebut terikat dengan enzim pada suatu tempat yang berbeda dengan tempat pengikatan substrat. Toksin ini tidak menghalangi ikatan antara substrat dengan enzim, tetapi menghambat pembentukan produk. Jelaskan apa pengaruh racun ini terhadap nilai K_m dan V_{max} enzim tersebut.



Regulasi Aktivitas Enzim Dalam Sistem Biologi

Regulasi Aktivitas Enzim dalam Sistem Biologi

✦ Jumlah molekul enzim:

- ✦ Kecepatan sintesis dan degradasi
- ✦ Modifikasi kovalen:
 - ✦ Aktivasi Prekursor/proenzim
 - ✦ Fosforilasi-defosforilasi

✦ Jumlah substrat dan produk

✦ Efisiensi katalisis:

- ✦ Pengikatan kovalen
- ✦ Efek alosterik:
 - ✦ *Feed back inhibition*
 - ✦ Aktivasi prekursor

Regulasi enzim melalui kecepatan sintesis

- ✦ Regulasi **ekspresi gen** akan mempengaruhi kecepatan dan jumlah enzim yang disintesis
- ✦ Pengendalian kecepatan sintesis enzim berlangsung antara lain melalui **sistem operon**
- ✦ Contoh lac-operon

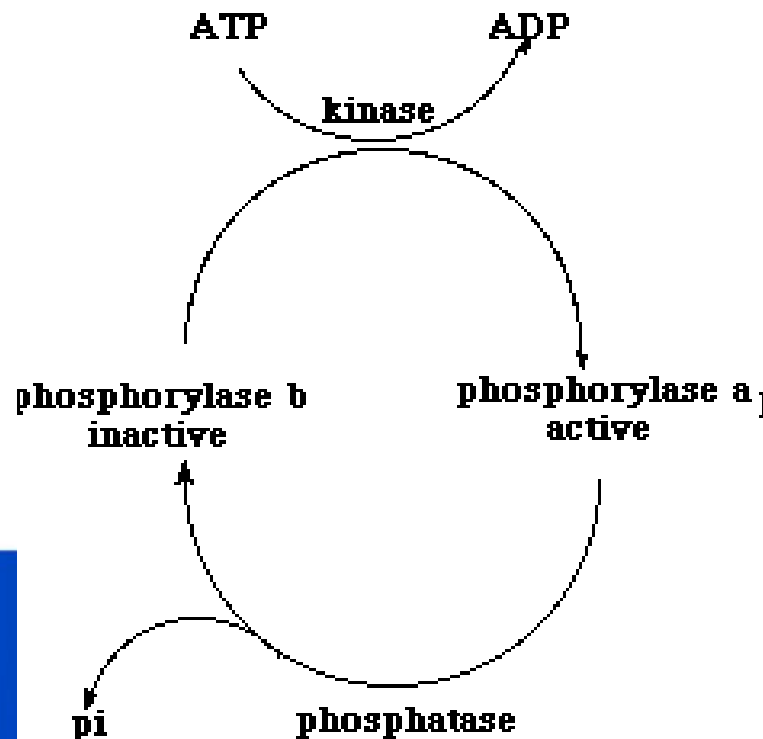
Regulasi enzim melalui kecepatan degradasi

- ✦ Enzim yang mendegradasi enzim → **enzim proteolitik**. Kecepatan kerja enzim proteolitik tersebut akan menentukan kecepatan degradasi enzim
- ✦ Kecepatan degradasi enzim dalam sistem biologis berbeda-beda → **half life** (waktu paruh)
- ✦ Ornithine decarboxylase: $t_{1/2}$ dalam sel mamalia 10 menit

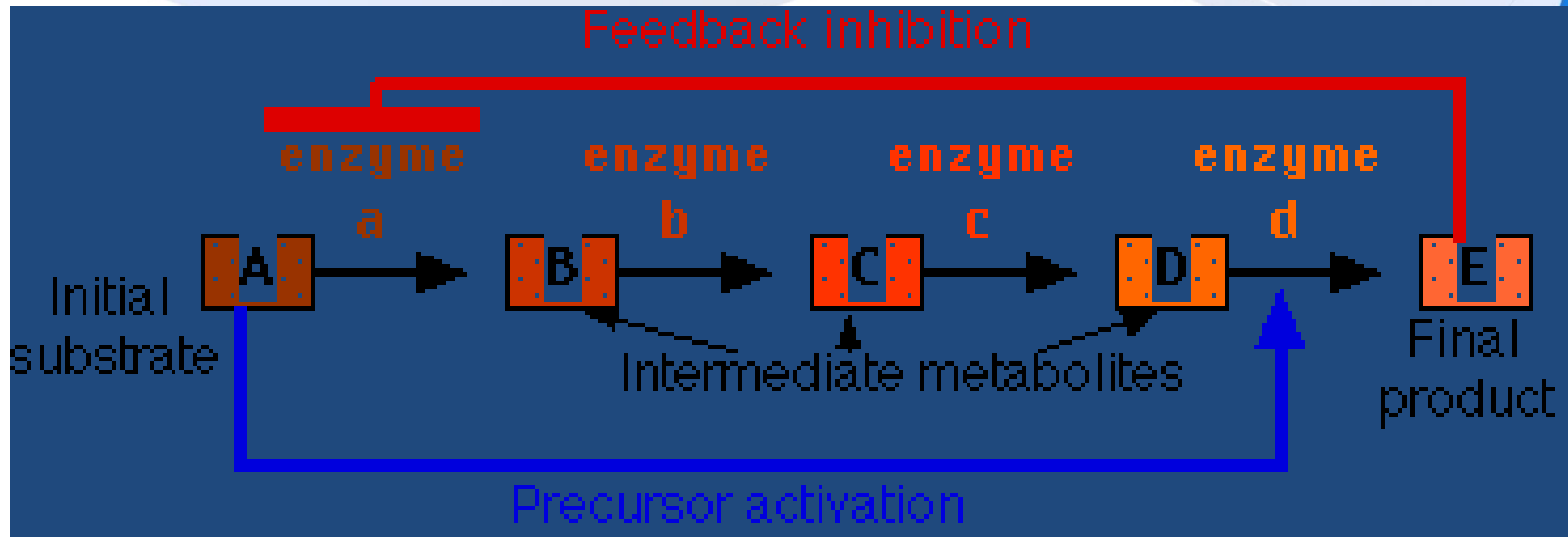
Regulasi enzim (aktivasi-deaktivasi enzim) melalui modifikasi kovalen

- ✦ **Modifikasi kovalen** dari proenzim yang inaktif (umumnya proenzim sudah tersedia → pool koenzim) akan menghasilkan enzim yang aktif
- ✦ Kecepatan reaksi modifikasi ini akan mempengaruhi jumlah enzim yang aktif di dalam sel/tubuh

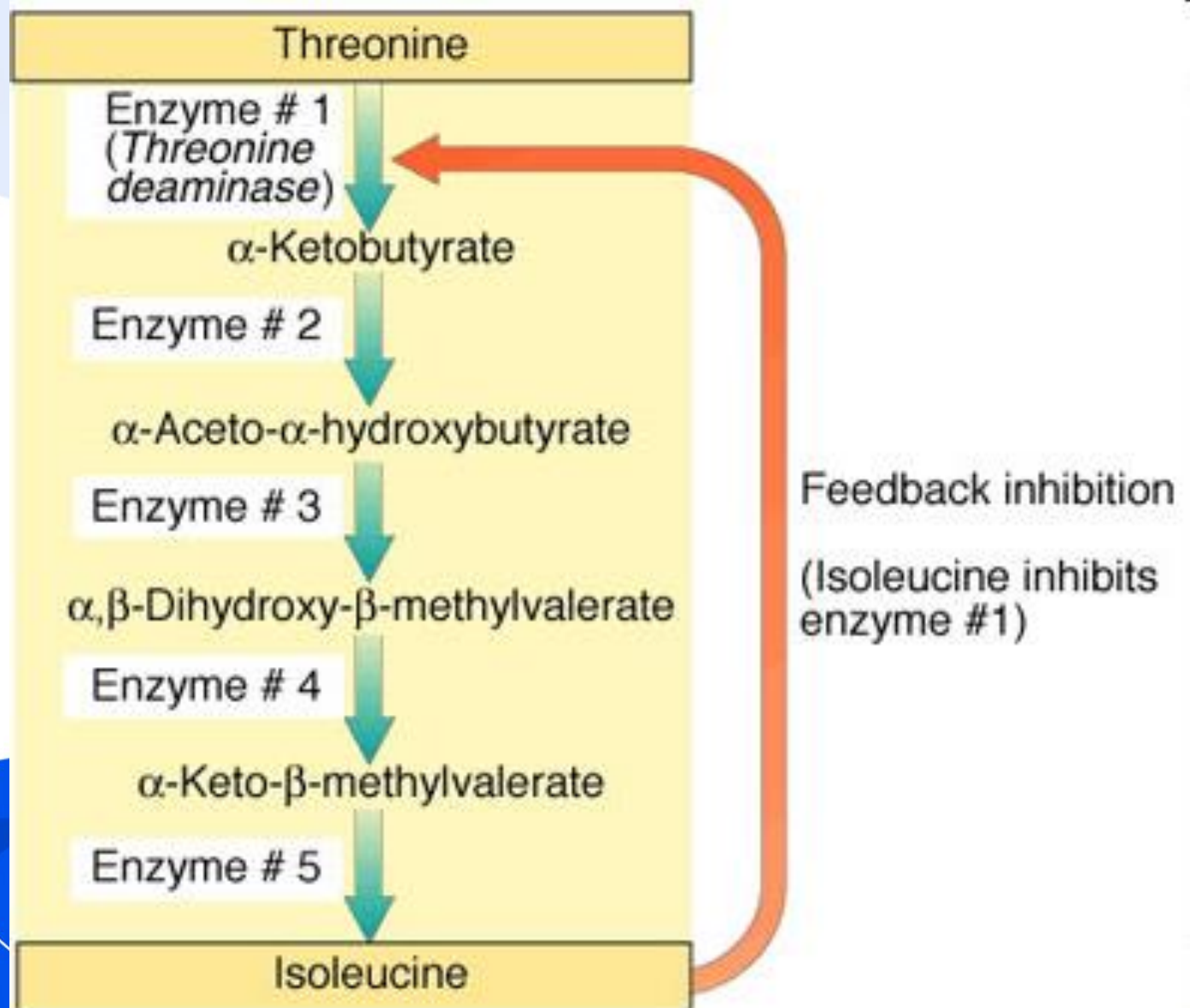
Regulasi enzim melalui fosforilasi-defosforilasi



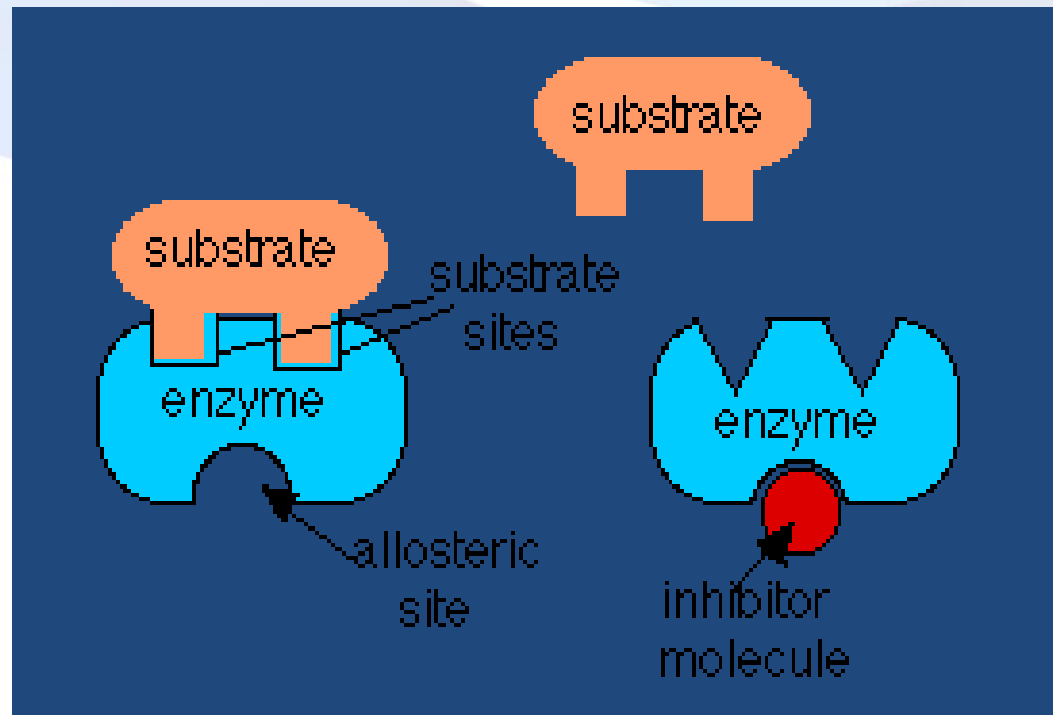
Feedback Inhibition



Contoh Feedback Inhibition

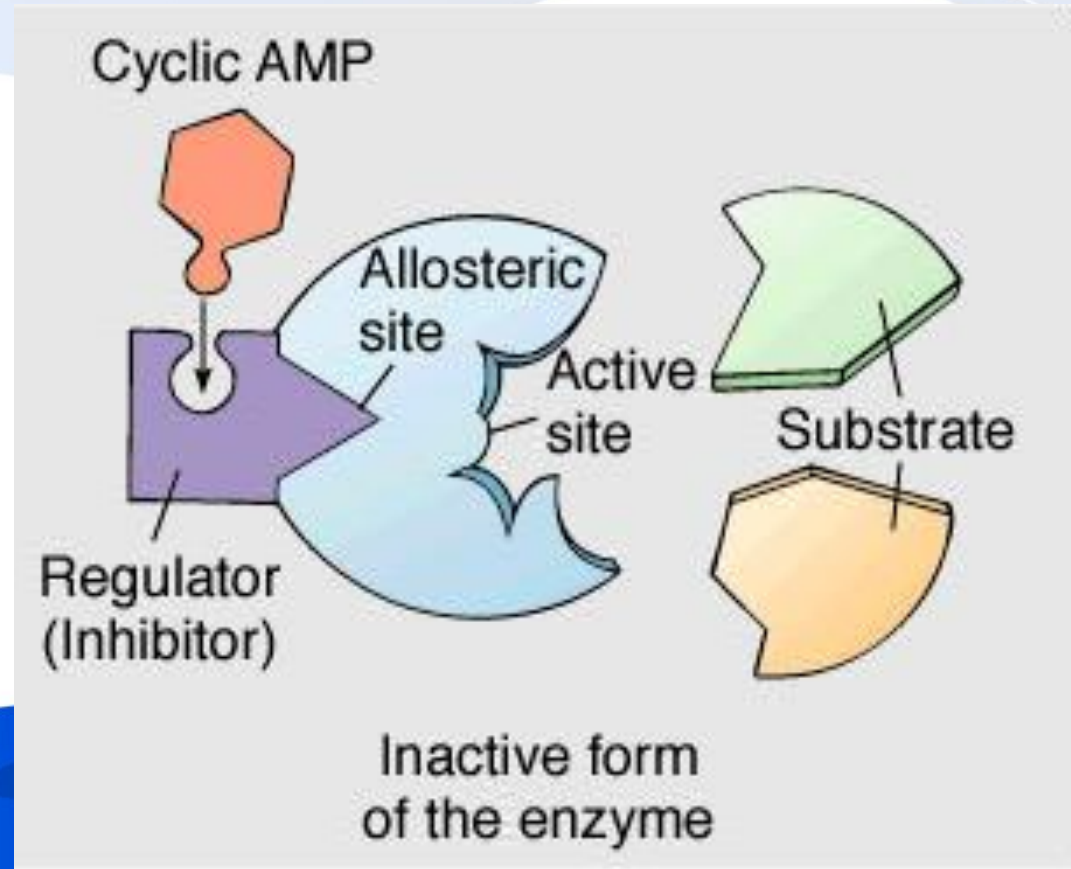


Efek Allosterik



- In feedback inhibition, the *allosteric effect lowers the affinity of the enzyme for its substrate*

Efek Allosterik → Inhibisi non kompetitif





**UNIVERSITAS
PANCASILA**
"A PLACE TO CREATE YOUR SUCCESS"

Terakreditasi "A" BAN-PT



UP Green Campus

TERIMA KASIH



KAMPUS PROGRAM DIPLOMA (D3), SARJANA (S1) & PROFESI :

Srengseng Sawah, Jagakarsa Jakarta Selatan
Telp. 021 - 7270086 ext. 123, 126, 139 / 7270130 / 7874344
Fax. 021 7271868 / 78880305
Email. humas@univpancasila.ac.id

SEKOLAH PASCASARJANA (S2) & (S3) :

Jalan Borobudur No.7. Jakarta Pusat

www.univpancasila.ac.id