

Enzim-enzim Yang Terlibat Dalam Bioteknologi (Kuliah S2)

Enzim : merupakan suatu protein yang berperan sebagai katalis dalam reaksi yang terjadi di dalam makhluk hidup (Biokatalis)

1. Struktur Enzim

- Ø Holoenzim: Enzim dengan struktur sempurna dan dapat mengkatalisis reaksi enzimatis
- Ø Pusat Aktif: Bagian dari enzim tempat bereaksinya dengan substrat
- Ø Bagian Protein : Apoenzim
- Ø Bagian bukan protein : Kofaktor
 - Gugus Prostetik : Gugus organik atau anorganik yang terikat kuat pada enzim (FAD)
 - Koenzim : Molekul organik kecil tahan panas, mudah terdisosiasi dan dipisahkan dari enzim (NAD⁺, NADP⁺, ATP)
 - Aktifator : Ion logam dapat terikat/mudah lepas (K⁺, Mn⁺², Mg⁺², Cu⁺², Zn⁺²).

2. Kekhasan Enzim

- Ø Biokatalis : mempercepat laju reaksi jutaan kali dari reaksi kimia biasa
- Ø Bekerja spesifik : (Substrat tertentu, amilase, glukosidase, polifenol oksidase, dll)

Ø Bekerja kondisi tertentu : (suhu, pH, Bufer, dll).

3. Klasifikasi Enzim

- Ø Oksidoreduktase : Pemindahan elektron
- Ø Transferase : pemindahan gugus fungsional
- Ø Hidrolase : reaksi hidrolisis
- Ø Liase : reaksi adisi atau eliminasi
- Ø Isomerase : pemindahan gugus dalam molekul
- Ø Ligase : pembentukan ikatan, C-C, C-S, C-O, C-N

4. Faktor-faktor yang mempengaruhi kerja enzim:

Ø Konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, suhu, pH, inhibitor

Konsentrasi substrat :

Persamaan Michaelis Menten :



Suhu : Bekerja pada suhu optimum

pH : Bekerja pada pH optimum

Inhibitor :

- Reversibel :

1. Bersaing : Inhibitor memiliki struktur mirip substrat, sehingga bersaing dalam merebut pusat aktif

2. Tidak bersaing : Inhibitor dapat berikatan dengan enzim di luar pusat aktif, membentuk EI atau ESI yang tidak dapat menghasilkan produk

- Irreversibel : merusak bagian pusat aktif enzim
- Allosterik : merusak bagian protein enzim, menyebabkan konformasi protein berubah.

5. Beberapa enzim yang digunakan dalam teknologi DNA rekombinan :

No.	Enzim	Fungsi
1.	Restriksi endonuklease tipe II	Memotong DNA pada urutan basa yang spesifik
2.	DNA Ligase	Menyambungkan dua molekul/ fragmen DNA
3.	DNA Polimerase I (<i>E.coli</i>).	Mengisi kekosongan dalam dupleks dengan penambahan nukleotida pada ujung 3'
4.	Transkriptase balik (reverse transcriptase)	Membuat salinan DNA dari molekul RNA
5.	Polinukleotida kinase	Menambah fosfat pada ujung 5'-OH polinukleotida untuk melabel atau melangsungkan terjadinya ligasi
6.	Terminal transferase	Menambahkan ekor homopolimer pada ujung 3-OH dupleks linier
7.	Endonuklease III	Menghilangkan residu nukleotida dari ujung 3' untai DNA
8.	Bakteriofaga lambda-	Menghilangkan residu nukleotida dari ujung 5' suatu dupleks untuk

	eksonuklease	membuka ujung 3' untai tunggal
9.	Fosfatase Basa	Menghilangkan terminal fosfat dari ujung 5' atau 3' atau keduanya

Nuklease: memotong asam nukleat dengan memutuskan ikatan fosfodiester

Ligase : menyambung asam nukleat (DNA ligase)

Polimerase : membuat *copy* dari molekul (DNA polimerase)

Topoisomerase : membuat atau mengubah DNA berlilitan

Nuklease :

- a. Eksonuklease
- b. Endonuklease : DNase I : memotong acak
- c. Endonuklease restriksi : memotong pada sisi pengenalan tertentu

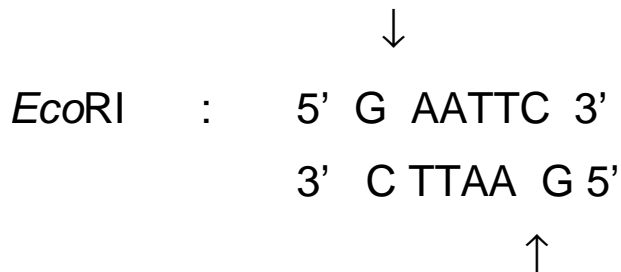
Enzim restriksi

Merupakan suatu endonuklease yang memiliki kemampuan memotong urutan nukleotida pada basa-basa secara spesifik, sehingga pemotongannya bersifat terarah.

DNA beruntai ganda, maka hasil pemotongannya dapat berupa ujung tumpul (*blunt ends*) dan ujung kohesif (*sticky ends*).

Tabel 1, merupakan tabel beberapa enzim restriksi yang sering digunakan pada proses kloning. Pemotongann

untai DNA oleh enzim restriksi ini bersifat palindrom, yang artinya bahwa arah pengenalan (5'→3') dari dua untai selalu sama. Sebagai contoh sisi pengenalan untuk enzim restriksi :



Keterangan: anak panah menunjukkan ikatan fosfodiester yang diputuskan oleh enzim restriksi

Tabel 1: Beberapa enzim restriksi, sisi pengenalan dan ujung pemotongannya.

Enzim	Organisme	Urutan Sisi pengenalan 5' → 3'	Ujung hasil pemotongan
<i>EcoRI</i>	<i>Escherichia coli</i>	G↓AATTC	Kohesif
<i>BamHI</i>	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	G↓GATCC	Kohesif
<i>BglII</i>	<i>Bacillus globigii</i>	AGATC↓T	Kohesif
<i>PvuI</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	CGAT↓CG	Kohesif
<i>PvuII</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	CAG↓CTG	Tumpul
<i>HindIII</i>	<i>Haemophilus influenzae Rd</i>	A↓AGCTT	Kohesif
<i>HinI</i>	<i>Haemophilus influenzae Rf</i>	G↓ANTC	Kohesif
<i>Sau3A</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	↓GATC	Kohesif
<i>AluI</i>	<i>Arthrobacter luteus</i>	AG↓CT	Tumpul
<i>TaqI</i>	<i>Thermus aquaticus</i>	T↓CGA	Kohesif

<i>Haelll</i>	<i>Haemophylus aegyptius</i>	GG↓CC	Tumpul
<i>Notl</i>	<i>Nocardia otitidis- caviarium</i>	GC↓GGCCGC	Kohesif