



Pengaruh Inhibitor Terhadap Aktivitas Enzim

**Silvia Febriana, Dyas Angraini, Erlita Lakapu, Elvi Hidayati, Kerinandhila,
Nofita Riska N.M., Eli Hendrik Sanjaya***

Universitas Negeri Malang, Jl. Semarang No. 5 Malang, Jawa Timur, Indonesia

Corresponding author, email: eli.hendrik.fmipa@um.ac.id

Paper received: 3-5-2023; accepted: 15-5-2023; published: 31-5-2023

Abstrak

Pada dasarnya semua enzim adalah protein sehingga adanya perubahan kondisi lingkungan dapat memengaruhi struktur tiga dimensinya. Aktivitas enzim dipengaruhi oleh beberapa hal antara lain pH, suhu, konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, dan adanya inhibitor enzim. Inhibitor enzim adalah molekul yang dapat berinteraksi dengan enzim yang dapat mengurangi laju reaksi yang dikatalisis enzim atau mencegah enzim bekerja secara normal. Untuk membuktikan adanya pengaruh inhibitor kompetitif terhadap aktivitas enzim dan seberapa besarnya pengaruhnya maka perlu dilakukan penelitian ini. Tahapan yang dilakukan pada penelitian ini meliputi pengamatan pengaruh adanya malonat terhadap aktivitas enzim suksinat dehidrogenase. Hasil penelitian menunjukkan adanya malonat yang berperan sebagai inhibitor kompetitif dapat menghambat kerja enzim suksinat dehidrogenase dalam mengorversi suksinat menjadi fumarat. Besarnya pengaruh malonat ditentukan oleh konsentrasi malonat. Semakin banyak konsentrasi malonat maka semakin lama kerja enzim suksinat dehidrogenase dalam mengkatalisis suatu reaksi.

Kata kunci: Inhibitor kompetitif, Enzim suksinat dehidrogenase, Aktivitas enzim, Malonat

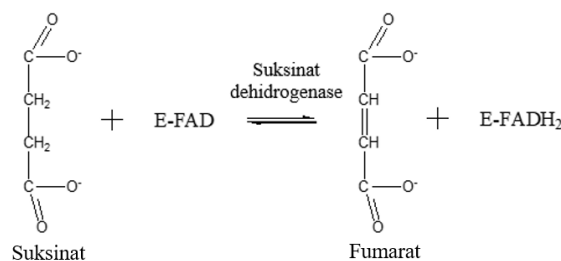
1. Introduction

Enzim merupakan molekul biokatalis yang memainkan peran penting pada banyak reaksi kimia yang terjadi pada makhluk hidup. Selain itu, enzim juga sering digunakan pada berbagai industri karena kemampuan katalitiknya. Berdasarkan jenis reaksi yang dikatalisis, enzim dibagi menjadi tujuh kelas antara lain transferase, hidrolase, oksidoreduktase, isomerase, liase, ligase, dan translokase (Porto de Souza Vandenberghe et al., 2020).

Pada dasarnya semua enzim adalah protein (Lewis & Stone, 2024) sehingga adanya perubahan kondisi lingkungan dapat memengaruhi struktur tiga dimensinya. Enzim memiliki kondisi optimum, yaitu kondisi dimana enzim dapat bekerja secara optimal dalam mengkatalisis suatu reaksi kimia. Setiap enzim memiliki kondisi optimum yang berbeda-beda, contohnya enzim protease bekerja optimum pada pH 8,0 dan suhu 50 °C (Fahmy & El-Deeb, 2023), sedangkan enzim lipase optimum pada pH 7,5 dan suhu 35 °C (Hiol et al., 2000). Aktivitas enzim dipengaruhi oleh beberapa hal antara lain pH, suhu, konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, dan adanya inhibitor enzim.

Inhibitor enzim adalah molekul yang dapat berinteraksi dengan enzim yang dapat mengurangi laju reaksi yang dikatalisis enzim atau mencegah enzim bekerja secara normal (Kuddus, 2019). Inhibitor enzim ada yang bersifat irreversibel (tidak dapat kembali) dan reversibel (dapat kembali). Jenis penghambatan oleh inhibitor reversibel biasanya dibagi menjadi empat kategori yaitu kompetitif, tidak kompetitif, non kompetitif, dan campuran (Miyanağa & Unno, 2011). Inhibitor kompetitif seringkali bersaing dengan substrat untuk terikat pada situs aktif enzim karena bentuk inhibitor tersebut mirip dengan substrat (Palmer & Bonner, 2011).

Untuk membuktikan adanya pengaruh inhibitor kompetitif terhadap aktivitas enzim dan seberapa besarnya pengaruh inhibitor kompetitif maka perlu dilakukan penelitian ini. Enzim yang digunakan pada penelitian ini merupakan salah satu enzim di dalam tubuh, yaitu enzim suksinat dehidrogenase (salah satu jenis enzim oksidoreduktase). Pada daur asam sitrat, suksinat dehidrogenase mengkatalisis oksidasi suksinat menjadi fumarat dengan mengubah atom C jenuh pada suksinat menjadi tidak jenuh atau berikatan rangkap (**Gambar 1**). Sedangkan inhibitor yang digunakan adalah malonat yang memiliki struktur yang mirip dengan suksinat sehingga dapat berikatan dengan sisi aktif enzim suksinat dehidrogenase membentuk kompleks EI dan menyebabkan tidak terbentuknya fumarat. Malonat merupakan salah satu inhibitor kompetitif. Percobaan ini dilakukan pada kondisi optimum enzim suksinat dehidrogenase yaitu pH 7 dan suhu 38 °C.



Gambar 1. Reaksi Katalisis Suksinat oleh Enzim Suksinat Dehidrogenase menjadi Fumarat

2. Method

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain tabung reaksi, batang pengaduk, pipet tetes, gelas ukur, dan waterbath.

Sedangkan bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain metilen blue 0,05%, buffer fosfat 0,1 M (pH 7,4), natrium suksinat 0,1 M, natrium malonat 0,1 M, homogenat hati, inyak parafin, dan akuades.

Pengaruh Inhibitor terhadap Aktivitas Enzim

Disiapkan 6 tabung reaksi yang berisi reagen-reagen sesuai dengan **Tabel 1**, kemudian diaduk hingga homogen. Ditambahkan 2,5 mL homogenat hati pada masing-masing tabung secara bersamaan. Diaduk sesegera mungkin dengan perlahan hingga homogen dan ditambahkan parafin untuk menutup permukaan larutan, kemudian dicatat waktu sebagai $t=0$. Diinkubasi tabung-tabung reaksi tersebut pada waterbath pada suhu 38 °C. Diamati perubahan warna larutan pada tabung reaksi setiap 2 menit. Kemudian, dicatat waktu apabila perubahan warna larutan telah sempurna. Pada pengamatan perubahan warna larutan menggunakan larutan pada tabung 5 sebagai standar perubahan warna dan tabung 0 sebagai standar warna awal.

Tabel 1. Volume Reagen yang dimasukkan pada Tiap Tabung Reaksi

| Tabung | MB (mL) | H ₂ O (mL) | BF (mL) | NS (mL) | NM (mL) |
|--------|---------|-----------------------|---------|---------|---------|
| 0 | 0,5 | 5,0 | 2,0 | - | - |
| 1 | 0,5 | 3,0 | 2,0 | 2,0 | - |
| 2 | 0,5 | 2,8 | 2,0 | 2,0 | 0,2 |
| 3 | 0,5 | 2,6 | 2,0 | 2,0 | 0,4 |
| 4 | 0,5 | 0,6 | 2,0 | 4,0 | 0,4 |
| 5 | - | 6,0 | 2,0 | - | - |

Catatan:

MB = Metilen blue 0,05%

H₂O = akuades

BF = Buffer fosfat 0,1 M (pH 7,4)

NS = Natrium suksinat 0,1 M

NM = Natrium malonat 0,1 M

3. Results and Discussion

Pengaruh Inhibitor terhadap Aktivitas Enzim

Berdasarkan hasil penelitian, campuran yang terdapat pada tabung 1-4 mengalami perubahan warna dari hijau kebiruan menjadi coklat kekuningan (**Gambar 3**). Hal ini terjadi

Tabel 2. Perubahan Warna yang Terjadi pada Setiap Tabung

| Tabung | Terjadi Perubahan Warna | Perubahan Warna pada Menit Ke- |
|--------|-------------------------|--------------------------------|
| 0 | Tidak | - |
| 1 | Ya | 10 |
| 2 | Ya | 18 |
| 3 | Ya | 26 |
| 4 | Ya | 18 |
| 5 | Tidak | - |

Perbedaan kecepatan perubahan warna yang terjadi pada setiap tabung menunjukkan adanya pengaruh inhibitor enzim. Tabung 1 mengalami perubahan warna paling cepat karena pada campuran tidak terdapat malonat yang berperan sebagai inhibitor enzim suksinat dehidrogenase dalam mengkatalisis reaksi suksinat menjadi fumarat. Sedangkan Tabung 3 mengalami perubahan warna paling lambat. Hal ini terjadi karena campuran yang terdapat pada Tabung 3 mengandung malonat dengan rasio malonat:suksinat yang lebih tinggi daripada tabung lain yaitu sebesar 0,2. Tabung 2 dan 4 mengandung malonat dengan rasio malonat:suksinat sebesar 0,1. Sehingga besarnya pengaruh inhibitor malonat ditentukan oleh konsentrasi inhibitor yang terdapat pada campuran. Semakin banyak konsentrasi inhibitor atau malonat dalam campuran maka semakin lama kerja enzim suksinat dehidrogenase dalam mengonversi suksinat menjadi fumarat (Dalla Pozza et al., 2020).

Malonat memiliki struktur yang mirip dengan suksinat (Bae et al., 2021; Greene & Greenamyre, 1995). Adanya kemiripan struktur ini menyebabkan persaingan dalam berikatan dengan enzim suksinat dehidrogenase (Pardee & Potter, 1949; Thorn, 1953; Valls-Lacalle et al., 2016). Malonat merupakan jenis inhibitor kompetitif sehingga adanya malonat dapat menghambat kerja enzim suksinat dehidrogenase dalam mengonversi suksinat menjadi fumarat.

4. Conclusion

Adanya malonat yang berperan sebagai inhibitor kompetitif dapat menghambat kerja enzim suksinat dehidrogenase dalam mengonversi suksinat menjadi fumarat. Besarnya pengaruh malonat ditentukan oleh konsentrasi malonat. Semakin banyak konsentrasi malonat maka semakin lama kerja enzim suksinat dehidrogenase dalam mengkatalisis suatu reaksi.

References

- Bae, J., Salamon, R. J., Brandt, E. B., Paltzer, W. G., Zhang, Z., Britt, E. C., Hacker, T. A., Fan, J., & Mahmoud, A. I. (2021). Malonate Promotes Adult Cardiomyocyte Proliferation and Heart Regeneration. *Circulation*, *143*(20), 1973–1986. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.049952>
- Dalla Pozza, E., Dando, I., Pacchiana, R., Liboi, E., Scupoli, M. T., Donadelli, M., & Palmieri, M. (2020). Regulation of succinate dehydrogenase and role of succinate in cancer. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, *98*, 4–14. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2019.04.013>
- Fahmy, N. M., & El-Deeb, B. (2023). Optimization, partial purification, and characterization of a novel high molecular weight alkaline protease produced by *Halobacillus* sp. HAL1 using fish wastes as a substrate. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, *21*(1). <https://doi.org/10.1186/s43141-023-00509-6>
- Greene, J. G., & Greenamyre, J. T. (1995). Characterization of the Excitotoxic Potential of the Reversible Succinate Dehydrogenase Inhibitor Malonate. *Journal of Neurochemistry*, *64*(1), 430–436. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1995.64010430.x>

- Hiol, A., Jonzo, M. D., Rugani, N., Druet, D., Sarda, L., & Comeau, L. C. (2000). Purification and characterization of an extracellular lipase from a thermophilic *Rhizopus oryzae* strain isolated from palm fruit. *Enzyme and Microbial Technology*, 26(5-6), 421-430. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(99\)00173-8](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(99)00173-8)
- Kuddus, M. (2019). Introduction to Food Enzymes. In *Enzymes in Food Biotechnology* (pp. 1-18). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813280-7.00001-3>
- Lewis, T., & Stone, W. L. (2024). *Biochemistry, Proteins Enzymes*.
- Miyana, K., & Unno, H. (2011). Reaction Kinetics and Stoichiometry. In *Comprehensive Biotechnology* (pp. 33-46). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-088504-9.00085-4>
- Palmer, T., & Bonner, P. L. (2011). Enzyme Inhibition. In *Enzymes* (pp. 126-152). Elsevier. <https://doi.org/10.1533/9780857099921.2.126>
- Pardee, A. B., & Potter, V. R. (1949). MALONATE INHIBITION OF OXIDATIONS IN THE KREBS TRICARBOXYLIC ACID CYCLE. *Journal of Biological Chemistry*, 178(1), 241-250. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)56954-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)56954-4)
- Porto de Souza Vandenberghe, L., Karp, S. G., Binder Pagnoncelli, M. G., von Linsingen Tavares, M., Libardi Junior, N., Valladares Diestra, K., Viesser, J. A., & Soccol, C. R. (2020). Classification of enzymes and catalytic properties. In *Biomass, Biofuels, Biochemicals* (pp. 11-30). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819820-9.00002-8>
- Thorn, M. B. (1953). Inhibition by malonate of succinic dehydrogenase in heart-muscle preparations. *Biochemical Journal*, 54(4), 540-547. <https://doi.org/10.1042/bj0540540>
- Valls-Lacalle, L., Barba, I., Miró-Casas, E., Alburquerque-Béjar, J. J., Ruiz-Meana, M., Fuertes-Agudo, M., Rodríguez-Sinovas, A., & García-Dorado, D. (2016). Succinate dehydrogenase inhibition with malonate during reperfusion reduces infarct size by preventing mitochondrial permeability transition. *Cardiovascular Research*, 109(3), 374-384. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvv279>
- Vishwanathan, A. S., Devkota, R., Siva Sankara Sai, S., & Rao, G. (2015). DREAM Assay for Studying Microbial Electron Transfer. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 177(8), 1767-1775. <https://doi.org/10.1007/s12010-015-1852-3>