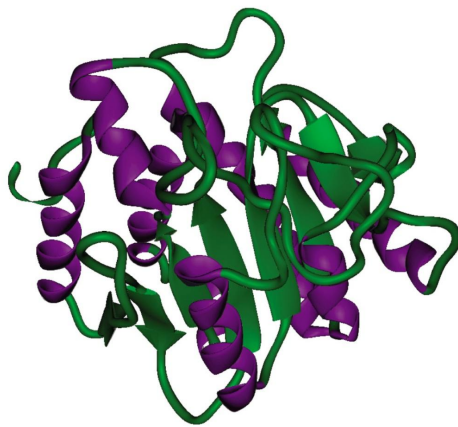


BUKU AJAR BLOK 3 BIOLOGI SEL 1

Asam amino, Peptida, dan Protein

Adelina Simamora, S.Si., MS

2015



FAKULTAS KEDOKTERAN UKRIDA

Daftar isi

Daftar isi.....	ii
Kata pengantar.....	iv
1. PENDAHULUAN.....	1
2. ASAM AMINO.....	1
2.1 Atom C asimetrik dan stereokimia asam amino.....	1
2.2 Penggolongan asam amino ¹	3
2.2.1 Asam amino dengan gugus R nonpolar alifatik.....	4
2.2.2 Asam amino dengan gugus R aromatik.....	5
2.2.3 Asam amino dengan gugus R polar tidak bermuatan.....	6
2.2.4 Asam amino dengan gugus R yang bermuatan negatif.....	8
2.2.5 Asam amino dengan gugus R yang bermuatan positif.....	8
2.3 Sifat asam basa asam amino.....	9
2.4 Kurva titrasi asam amino.....	10
2.5 Ringkasan asam amino.....	15
2.6 Soal-soal latihan asam amino.....	16
3. POLIPEPTIDA.....	18
3.1 Penamaan peptida.....	18
3.2 Reaksi kimia pada peptida.....	19
3.3 Polipeptida yang mempunyai reaktivitas biologi ^{3,4}	19
4. PROTEIN.....	20
4.1 Sifat -sifat protein.....	20
4.1.1 Peranan gugus R dalam aktifitas enzim.....	21
4.2 Penggolongan protein.....	21
4.2.1 Penggolongan protein berdasar fungsi biologis.....	22
4.2.2 Penggolongan protein berdasar bentuk.....	23
4.2.3 Penggolongan protein berdasar komposisi.....	26
4.3 Struktur protein.....	27
4.3.1 Struktur primer.....	27
4.3.2 Struktur sekunder.....	29
4.3.3 Struktur tersier.....	31
4.3.4 Struktur kuartener.....	32
4.3.5 Denaturasi protein ⁵	33

4.4	Uji kualitatif terhadap protein.....	3iii
4.4.1	Uji biuret.....	36
4.4.2	Uji ninhidrin.....	37
4.4.3	Uji xantoprotein.....	38
4.4.4	Uji Hopkins-Cole.....	39
4.4.5	Uji Millon.....	39
4.5	Ringkasan protein.....	39
4.6	Soal-soal latihan peptida dan protein.....	41

Kata pengantar

Mata ajar *Asam amino dan protein* pada blok 3 (Dasar Biologi Sel 1) bertujuan melengkapi mahasiswa dengan dasar-dasar pengetahuan tentang struktur dan reaktifitas asam-asam amino pembentuk protein. Dasar ini penting sebagai bekal memahami metabolisme protein yang akan diberikan pada blok 11. Dalam mata ajar *Asam amino dan protein*, mahasiswa diharapkan mengenal ke-20 asam amino penyusun protein, penggolongan, dan sifat kimianya dalam larutan. Penting juga dipahami pembentukan ikatan kovalen antar asam-asam amino, yang adalah ikatan primer dalam polipeptida dan protein. Mahasiswa juga diharapkan memahami kestabilan struktur yang diperoleh melalui pembentukan struktur sekunder, tertier, dan kuartener. Keempat tingkatan struktur ini berperan sentral dalam memahami keberagaman fungsi, sifat, klasifikasi, dan struktur protein. Mengingat telah ditiadakannya praktikum biokimia, beberapa uji umum yang digunakan untuk mengidentifikasi protein dan asam amino juga diberikan dalam mata ajar ini. Diharapkan mahasiswa memahami reaksi kimia yang mendasari uji kualitatif tersebut.

Disadari bahwa durasi tatap muka kuliah sangat singkat untuk dapat mencapai sasaran belajar di atas. Di samping itu, terbatasnya bahan materi kuliah dalam modul blok 3 dapat menjadi hambatan para mahasiswa memahami mata ajar *Asam amino dan protein*. Perlu kembali ditekankan bahwa keberhasilan proses belajar dalam kurikulum berbasis kompetensi amat bergantung kepada keaktifan mahasiswa dalam belajar mandiri. Dilatarbelangi oleh hal-hal di atas, buku ajar ini hadir untuk mendampingi mahasiswa dalam belajar mandiri. Buku ajar dilengkapi dengan penjelasan mendalam setiap topik dengan menggunakan gambar dan struktur kimia dalam tampilan menarik. Buku ajar juga dilengkapi dengan latihan soal baik untuk topik asam amino maupun protein. Diharapkan buku ajar ini akan membantu mahasiswa mencapai sasaran belajar diatas.

Semoga Tuhan memberkati.

Penulis

ASAM AMINO DAN PROTEIN

1. PENDAHULUAN

Protein adalah makromolekul yang paling berlimpah. Protein ditemukan dalam semua sel dan pada semua bagian sel dalam tubuh. Semua protein dibangun dari subunit dasar yang sama yaitu asam α -L- amino. Meskipun telah dapat diisolasi lebih dari 100 jenis asam amino, hanya terdapat 20 macam asam α -L- amino penyusun protein pada mamalia. Sel dapat membentuk berbagai jenis protein dengan merangkai ke-20 macam asam amino melalui ikatan kovalen. Variasi dalam kombinasi, urutan dan jumlah asam-asam amino tersebut menghasilkan protein yang memiliki berbagai ragam sifat dan aktivitas yang berbeda-beda, seperti enzim, hormon, racun, jaringan pembangun, dan lain-lain. Untuk memahami keragaman protein, perlu dipahami terlebih dahulu sifat kimia asam amino.

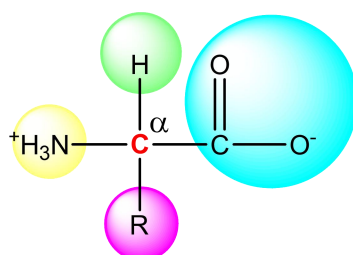
2. ASAM AMINO

Asam amino adalah asam alkanoat yang mengandung gugus amino. Ke-20 macam asam amino pembentuk protein memiliki kesamaan struktur (kecuali prolin) yaitu gugus karboksilat dan amino terikat pada atom C yang sama yaitu pada atom C- α . Perbedaan satu asam amino dengan asam amino yang lain terletak pada rantai sampingnya (gugus R), yang bervariasi dalam struktur, ukuran, dan muatan listriknya. Variasi sifat gugus R menentukan kelarutan asam amino dalam air. Ciri struktur umum asam amino terlihat pada **Gambar 1**.

2.1 Atom C asimetrik dan stereokimia asam amino

Pada hampir semua asam amino, atom C- α mengikat empat gugus yang berbeda, yaitu gugus karboksil, amino (kation amonium), R, dan H (**Gambar 1**). Pengecualian hanya pada glisin dimana R adalah atom H. Dengan demikian atom C- α pada hampir semua asam amino merupakan atom C asimetrik dan menjadi pusat khiral. Senyawaan

yang mempunyai pusat khiral bersifat optis aktif. Jika suatu molekul bersifat optis 2 aktif, molekul tersebut dapat memutar bidang cahaya terpolarisasi ke kiri atau ke kanan.



Gambar 1 Struktur umum asam amino. Kecuali pada prolin (asam amino siklik), struktur ini sama untuk semua asam amino, dimana gugus karboksilat dan amino terikat pada atom C posisi α . Rantai samping (R) juga terikat pada C- α . Ke-20 macam asam amino berbeda dalam struktur gugus R.

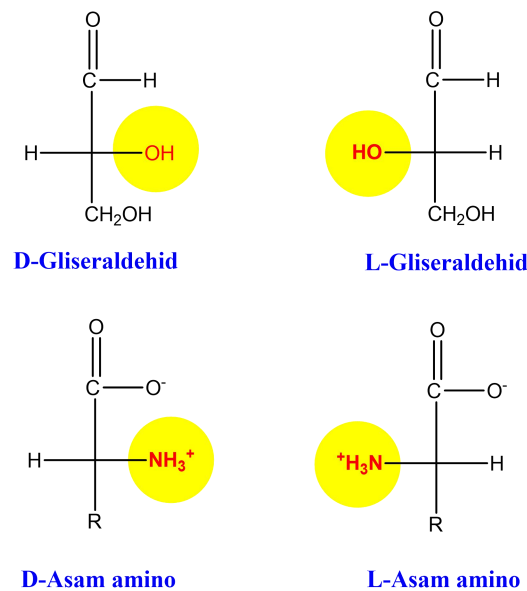
Pada penggambaran molekul berdasarkan proyeksi Fischer, keempat gugus yang berbeda di sekitar atom C asimetrik dapat menempati dua susunan ruang yang berbeda sehingga membentuk dua jenis stereoisomer. Kedua stereoisomer merupakan benda dan bayangan cerminnya dan tidak dapat ditumpang-tindihkan satu terhadap yang lain. Stereoisomer ini disebut **enantiomer**.

Stereoisomer dinamakan berdasarkan konfigurasi absolut yaitu konfigurasi D- dan L-. Pembanding untuk konfigurasi absolut adalah gliseraldehid. Stereoisomer semua senyawaan khiral yang setara dengan D-gliseraldehid disebut konfigurasi D-. Sedangkan yang setara dengan L-gliseraldehid disebut konfigurasi L-. Pada asam α -L amino, gugus fungsi -NH₃⁺ pada atom C- α berada di sisi kiri setara dengan gugus -OH pada L- gliseraldehid. Demikian juga untuk asam α -D amino, gugus -NH₃⁺ pada atom C- α berada di sebelah kanan, dan setara dengan gugus -OH pada D-gliseraldehid (**Gambar 2**). Jumlah stereoisomer bergantung pada banyaknya atom C asimetris (khiral) pada asam amino. Jika asam amino memiliki lebih dari satu atom C khiral, jumlah isomer adalah 2ⁿ, dengan n adalah jumlah pusat khiral.

Pada umumnya, sintesis suatu senyawaan menghasilkan campuran stereoisomer D- dan L-. Kedua stereoisomer ini sangat sulit dibedakan dan dipisahkan karena mempunyai kemiripan sifat kimia. Namun demikian, pada hampir semua senyawaan

biologi di alam yang mempunyai atom C khiral, hanya ditemukan satu jenis stereoisomer, yaitu bentuk stereoisomer D- saja atau L- saja. 3

Alam memiliki kemampuan membentuk satu jenis stereoisomer saja. Pada protein, hanya ditemukan satu jenis konfigurasi asam amino pembentuk protein yaitu stereoisomer L-. Sel secara spesifik dapat mensintesis asam amino L- karena enzim yang terlibat dalam sintesis protein memiliki pusat aktif asimetris. Ini mengakibatkan reaksi yang dikatalisis menghasilkan senyawaan yang stereospesifik.



Gambar 2 Stereoisomer dari asam amino dibandingkan dengan konfigurasi absolut gliseraldehid. Asam α -D-amino memiliki gugus α -amino di sisi kanan, sedangkan asam α -L-amino memiliki gugus α -amino di sisi kiri.¹

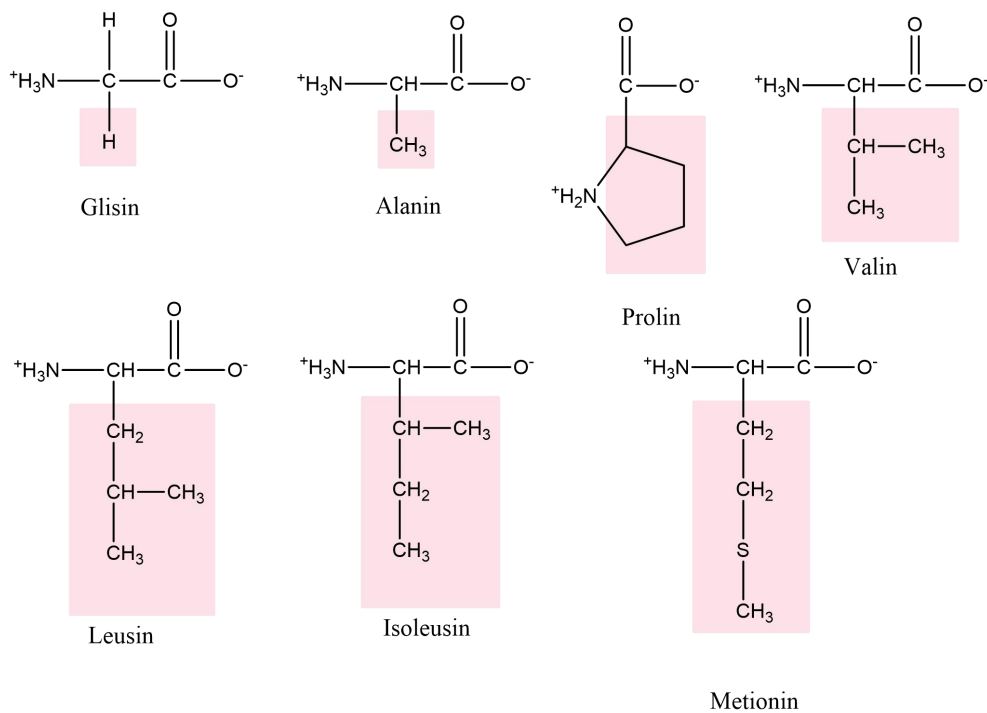
2.2 Penggolongan asam amino¹

Dalam memahami sifat protein, perlu dipahami sebelumnya sifat asam-asam amino pembentuknya. Cara paling sederhana adalah dengan mengelompokkan kedua puluh macam asam-asam amino berdasarkan sifat kepolaran dari rantai sampingnya (gugus R). Penggolongan ini didasarkan pada interaksi gugus R dengan air pada kondisi pH biologis (pH \approx 7). Kepolaran gugus R sangat bervariasi, mulai dari asam amino yang bersifat nonpolar dan hidrofobik (tidak larut dalam air), hingga asam amino yang bersifat polar dan hidrofilik (larut dalam air).

Berikut ini adalah penggolongan asam amino. Dalam setiap kelompok terdapat gradasi perbedaan sifat kepolaran masing-masing asam amino. 4

2.2.1 Asam amino dengan gugus R nonpolar alifatik

Gugus R pada kelompok asam amino ini bersifat hidrofobik karena didominasi oleh rantai hidrokarbon dengan kepolaran yang rendah. Sifat kepolaran asam amino alifatik dipengaruhi oleh jumlah gugus alkil dalam struktur asam amino.² Semakin banyak jumlah gugus alkil, asam amino tersebut akan semakin nonpolar. Dalam struktur protein, asam-asam amino nonpolar ini mengelompok bersama melalui interaksi hidrofobik dan menstabilkan struktur protein.



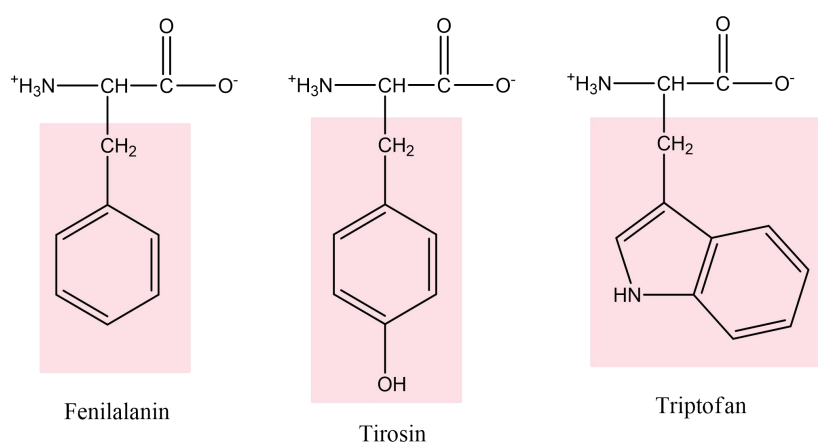
Gambar 3 Kelompok asam amino dengan gugus R alifatik bersifat nonpolar.

Yang termasuk dalam kelompok ini adalah glisin, alanin, prolin, valin, leusin, isoleusin, dan metionin (**Gambar 3**). Glisin merupakan asam amino alifatik yang paling sederhana. Namun demikian, satu atom H di posisi R tidak secara signifikan berkontribusi dalam interaksi hidrofobik. Metionin termasuk dalam kelompok asam amino nonpolar karena memiliki gugus tioeter yang bersifat nonpolar di rantai samping. Prolin adalah satu-satunya asam amino dengan gugus amino yang terikat dalam struktur melingkar. Gugus amino sekunder ini terikat dalam konformasi yang

rigid (kaku). Karenanya, adanya prolin dalam suatu rantai polipeptida mengurangi 5 fleksibilitas struktur di daerah tersebut.

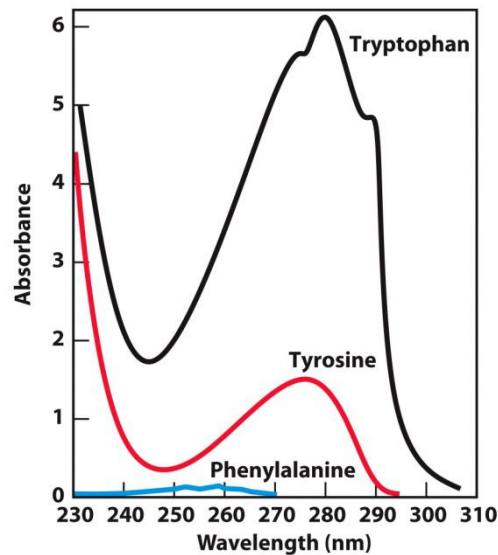
2.2.2 Asam amino dengan gugus R aromatik

Terdapat tiga asam amino yang mempunyai gugus R dengan cincin aromatik, yaitu fenilalanin, tirosin dan triptofan (**Gambar 4**). Cincin aromatik bersifat relatif nonpolar dan dapat saling berinteraksi hidrofobik. Namun demikian, tirosin dan triptofan bersifat lebih polar dari pada fenilalanin. Pada tirosin, kepolaran disebabkan adanya gugus -OH yang dapat membentuk jembatan hidrogen dengan air. Sedangkan pada triptofan, kepolaran disebabkan adanya atom N dalam cincin indolil.



Gambar 4 Kelompok asam amino dengan gugus R aromatik nonpolar. Tirosin dan triptofan lebih polar dibandingkan fenilalanin karena adanya gugus -OH (tirosin) dan atom N pada cincin indolil (triptofan).

Adanya gugus aromatik menyebabkan asam amino triptofan, tirosin, dan fenilalanin dapat mengabsorpsi sinar UV. Ketiganya mengabsorpsi sinar UV pada panjang gelombang 280 nm, meskipun dengan absorbtivitas molar yang berbeda. Pada konsentrasi dan kondisi pengukuran yang sama, triptofan mengabsorpsi empat kali lebih besar daripada tirosin, sementara fenilalanin sangat lemah mengabsorpsi sinar UV, (**Gambar 5**). Sifat spektroskopi ini, yaitu absorpsi pada panjang gelombang 280 nm, dimanfaatkan untuk uji karakterisasi protein.

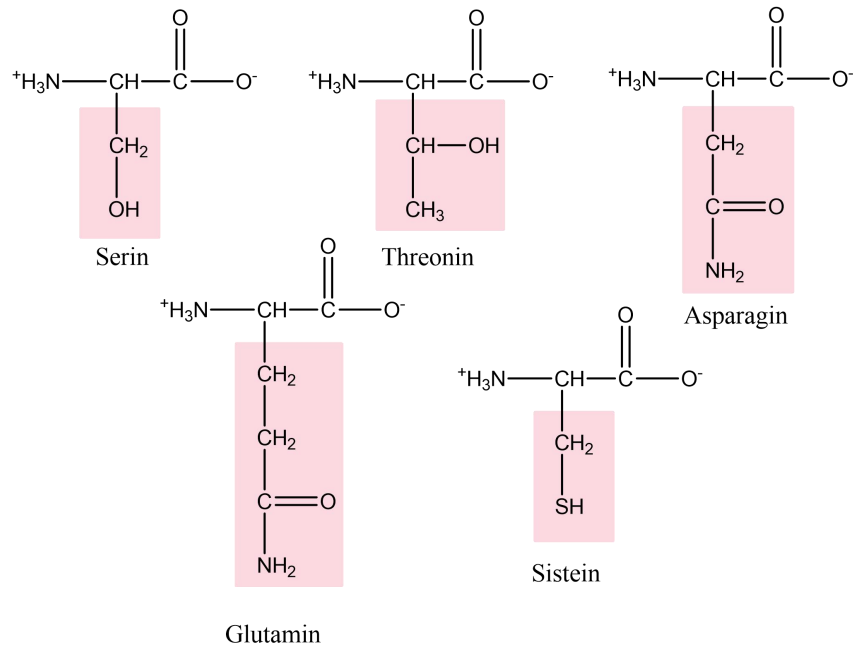


Gambar 5 Penyerapan sinar UV oleh asam amino aromatik. Pada konsentrasi yang sama, serapan triptofan empat kali lebih kuat daripada tirosin. Serapan fenilalanin sangat lemah dibanding keduanya. Serapan pada panjang gelombang 280 nm dipakai untuk karakterisasi protein. ¹

2.2.3 Asam amino dengan gugus R polar tidak bermuatan

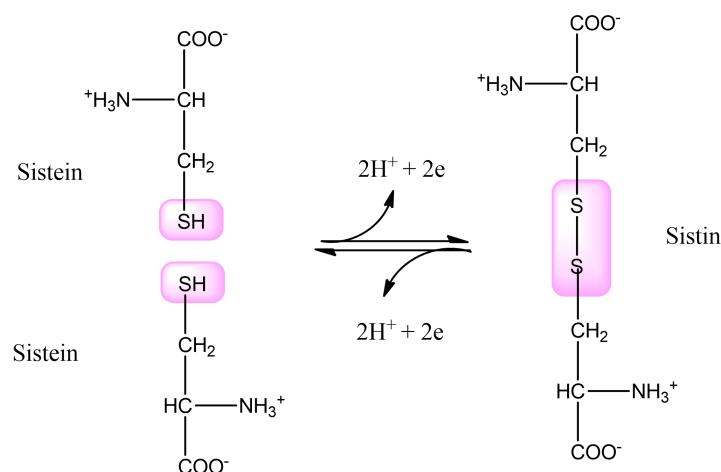
Gugus R pada kelompok asam amino ini lebih mudah larut dalam air atau lebih bersifat hidrofilik dibanding dengan asam amino alifatik nonpolar. Asam-asam amino dalam kelompok ini memiliki gugus fungsi polar, misalnya gugus asam, amida, alkohol, dan amina. Gugus fungsi ini dapat membentuk ikatan hidrogen dengan air. Tingkat kepolaran asam amino selain dipengaruhi oleh kepolaran gugus fungsi, juga bergantung pada jumlah atom karbon-hidrogen dalam rantai alkana. Semakin panjang rantai alkana akan semakin mengurangi sifat kepolaran asam amino. Keberadaan cincin aromatik juga akan mengurangi kepolaran asam amino. Termasuk dalam kelompok ini adalah serin, treonin, asparagin, glutamin, dan sistein (**Gambar 6**).

Asparagin dan glutamin adalah bentuk amida dari asam aspartat dan asam glutamat. Keduanya mudah terhidrolisis oleh asam dan basa. Sifat polar asparagin dan glutamin disebabkan oleh adanya gugus fungsi amida ($-\text{CONH}_2$). Kepolaran serin, dan treonin disebabkan oleh gugus hidroksil ($-\text{OH}$), sementara kepolaran sistein disebabkan oleh gugus sulfhidril atau tiol ($-\text{SH}$).



Gambar 6 Kelompok asam amino dengan gugus R polar.

Sistein mudah teroksidasi membentuk dimer yang disebut sistin, yang terbentuk melalui jembatan disulfida (**Gambar 7**). Walaupun sistein merupakan asam amino polar, residu protein yang mengandung jembatan disulfida bersifat sangat hidrofobik (nonpolar). Jembatan disulfida memegang peranan penting dalam struktur protein. Antar satu bagian protein dapat berikatan secara kovalen dengan satu bagian protein yang lain melalui jembatan disulfida. Sistin dijumpai pada hormon insulin dan imunoglobulin, dimana sistin menggabungkan dua rantai polipeptida melalui jembatan disulfida.



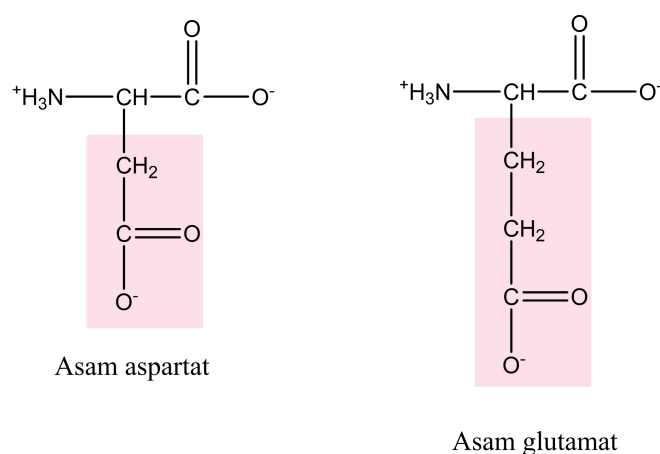
Gambar 7 Pembentukan jembatan disulfida terjadi melalui oksidasi dua molekul sistein. Adanya residu sistin membantu menstabilkan struktur protein.

2.2.4 Asam amino dengan gugus R yang bermuatan negatif

8

Gugus R yang paling bersifat hidrofilik adalah gugus R yang mempunyai muatan netto negatif ataupun positif. Asam amino yang pada $\text{pH} \approx 7$ mempunyai muatan netto negatif adalah asam aspartat dan asam glutamat (**Gambar 8**). Kedua asam amino ini mempunyai gugus karboksilat kedua pada rantai R-nya yang terionisasi pada $\text{pH} \approx 7$.

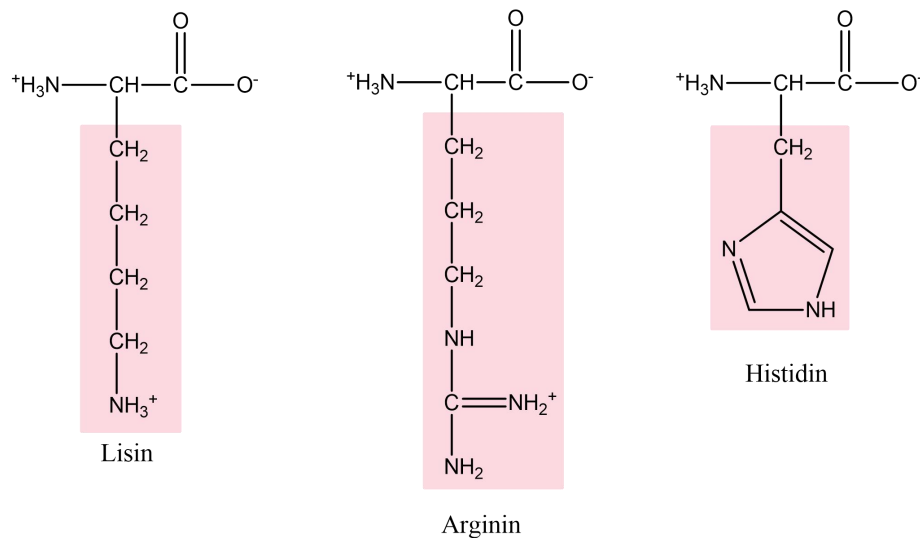
Pada asam amino dengan satu gugus amino dan satu gugus karboksilat, bentuk larutannya bersifat netral karena gugus asam dan gugus amino pada atom C- α saling menetralkan. Akan tetapi, jika struktur asam amino mengandung dua gugus asam dan satu gugus amino, maka terdapat satu gugus asam yang tidak ternetralisir. Karenanya, pada asam aspartat dan asam glutamat, keseluruhan asam amino menghasilkan larutan bersifat asam.



Gambar 8 Asam amino dengan gugus R bermuatan negatif.

2.2.5 Asam amino dengan gugus R yang bermuatan positif

Asam amino yang bermuatan netto positif pada $\text{pH} \approx 7$ adalah lisin, arginin, dan histidin (**Gambar 9**). Ketiga asam amino ini mempunyai tambahan gugus amino sehingga tidak ternetralisir oleh gugus asam. Muatan positif lisin berasal dari ionisasi gugus ϵ -amino pada rantai alifatiknya. Muatan positif arginin berasal dari gugus guanidino bermuatan positif. Sementara histidin mengandung cincin imidazol yang mengion pada pH tersebut. Histidin adalah satu-satunya asam amino yang mempunyai $\text{p}K_a$ pada $\text{pH} \approx 7$. Pada reaksi-reaksi yang dikatalisis enzim, residu histidin pada enzim berperan sebagai donor dan akseptor proton.



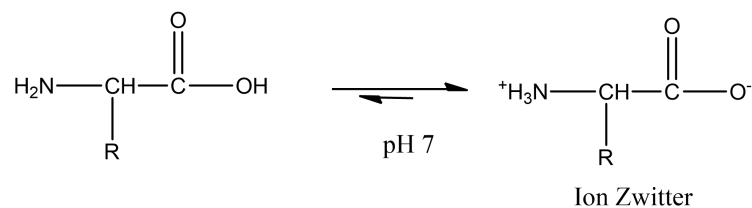
Gambar 9 Asam amino dengan gugus R bermuatan positif.

Gugus amino berbeda sifat dengan gugus amida. Apabila gugus amino dalam larutan bersifat basa, gugus amida seperti yang terdapat pada asparagin dan glutamin tidak bersifat basa. Karenanya, kedua asam amino ini dikelompokkan dalam asam amino dengan gugus R polar.

2.3 Sifat asam basa asam amino

Di dalam larutan, asam amino terionisasi membentuk ion dipolar (*Zwitter ion*),

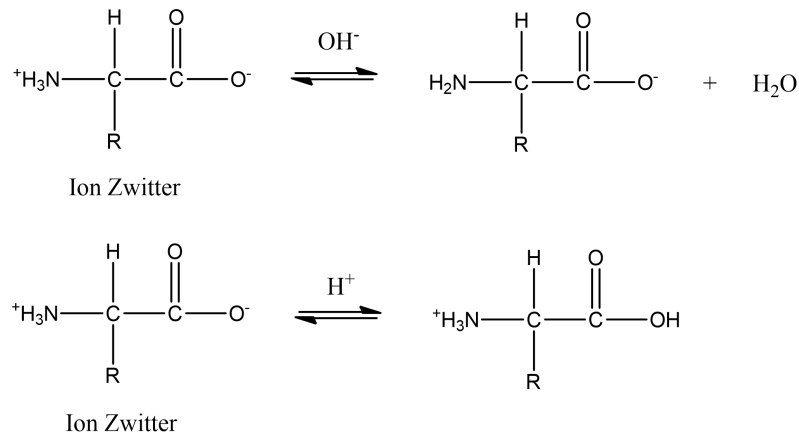
Gambar 10. Pada asam α -amino dengan gugus amino tunggal dan gugus karboksilat tunggal, ionisasinya menghasilkan bentuk dipolar dengan muatan listrik netral dan tidak bergerak di dalam medan listrik.



Gambar 10 Asam amino nonionik dan asam amino dalam bentuk dipolar (ion Zwitter). Di dalam larutan, bentuk nonionik terbentuk dalam jumlah yang tidak signifikan. Pada larutan dengan $\text{pH} \approx 7$, bentuk dipolar mendominasi bentuk nonionik.

Asam amino dalam bentuk ion dipolar dapat bersifat asam (donor proton) atau basa (akseptor proton) bergantung dengan siapa asam amino tersebut bereaksi. Sifat ini disebut sifat amfoter. Sifat asam amino sebagai asam dan basa dijelaskan pada

Gambar 11. Gugus amonium bersifat asam. Dalam reaksi dengan basa, gugus amonium dapat mendonorkan protonnya membentuk gugus amino. Sementara gugus karboksil bersifat basa. Reaksinya dengan asam membentuk gugus karboksilat.



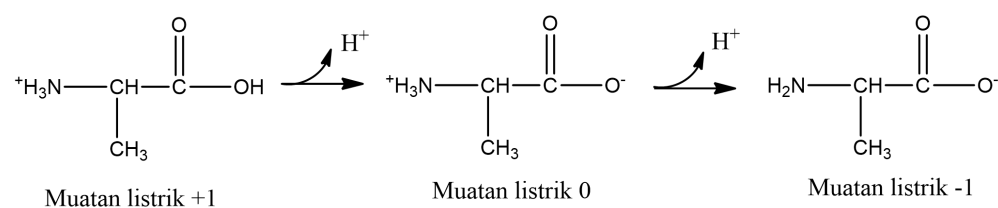
Gambar 11 Sifat amfoter asam amino. Asam amino dapat berperan sebagai asam (donor proton) dari gugus $-\text{NH}_3^+$ dan bersifat basa (akseptor proton) dari gugus $-\text{COO}^-$.

Sifat dipolar asam amino ditunjukkan oleh titik lebur kristal asam amino yang sangat tinggi seperti yang lazim ditunjukkan oleh senyawaan ionik lainnya. Kisi kristal asam amino dipertahankan oleh gaya tarik menarik elektrostatik antar muatan yang berlawanan. Karenanya dibutuhkan temperatur yang tinggi untuk melepaskan interaksi antar-ion ini agar kristal dapat melebur.

2.4 Kurva titrasi asam amino

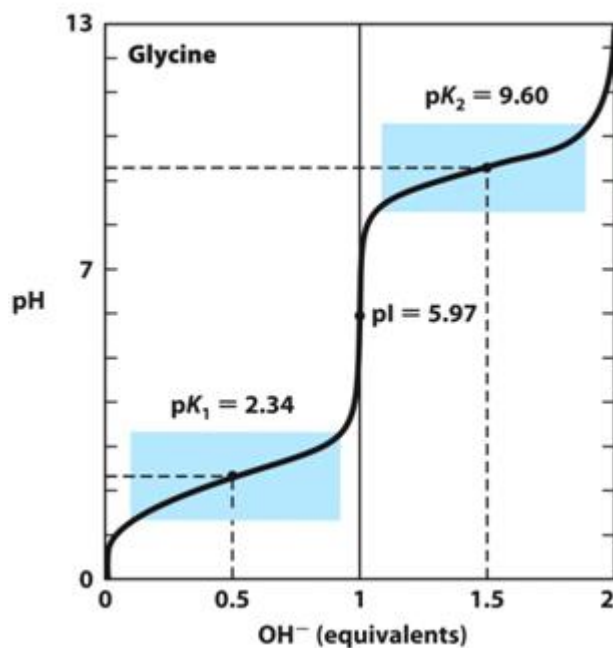
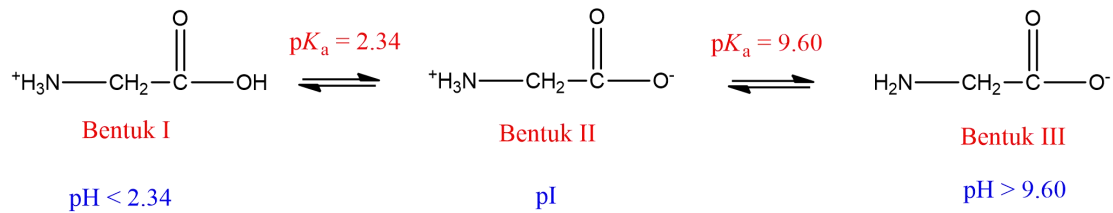
Asam monoamino monokarboksilat sederhana seperti alanin merupakan asam diprotik dalam keadaan terprotonasi penuh, yaitu pada pH rendah. Alanin memiliki dua gugus yang dapat medonasikan proton (sifat asam) yaitu gugus $-\text{COOH}$ dan $-\text{NH}_3^+$. Bentuk diprotik ini dalam titrasi dengan basa mengalami dua tahap pelepasan proton,

Gambar 12.



Gambar 12 Bentuk diprotik alanin terjadi pada pH sangat rendah. Penambahan basa bertahap (titrasi dengan basa) mengakibatkan dua tahap pelepasan proton.

Dalam suatu titrasi yang dimulai pada keadaan pH sangat rendah, larutan basa 11 ditambahkan secara bertahap sehingga terjadi pelepasan proton secara bertahap. Contoh di bawah ini memperlihatkan titrasi glisin dan deprotonasi bertahap karena penambahan basa (NaOH), **Gambar 13**.



Gambar 13 Ionisasi glisin dan bentuk kurva titrasi glisin. Deprotonasi bertahap glisin mengakibatkan berbagai bentuk ion glisin dengan kenaikan pH.

Pada awal titrasi, hanya terdapat bentuk I (**Gambar 13**). Penambahan NaOH secara bertahap mengakibatkan pelepasan proton yang pertama. Oleh karena gugus karboksilat merupakan asam yang lebih kuat dibandingkan dengan gugus amonium, pelepasan proton yang pertama berasal dari gugus karboksilat. Pelepasan proton pertama menghasilkan akseptor proton yaitu ion bentuk II. Pada titik tengah titrasi dimana konsentrasi ion bentuk I = bentuk II diperoleh nilai pH = 2.34. Ini merupakan nilai pK_{a1} dari gugus karboksilat pada glisin. Pelepasan proton kedua berasal dari gugus amonium pada ion bentuk II yang akan menghasilkan ion bentuk III. Pada titik

tengah titrasi kedua dimana konsentrasi ion bentuk II = ion bentuk III diperoleh 12 nilai pH = 9.60. Ini merupakan nilai pK_{a2} glisin yang berasal dari gugus amonium. Titrasi yang sempurna terjadi pada pH kira-kira 12 dimana semua ion bentuk II telah berubah menjadi ion bentuk III.

Dengan melihat kurva titrasi glisin terhadap NaOH, dapat dipahami bahwa asam amino glisin mempunyai dua daerah yang mempunyai daya buffer. Daerah buffer pertama adalah daerah yang relatif datar yang berpusat pada pH = pK_{a1} (2.34). Pada daerah ini, glisin mempunyai daya buffer yang paling baik. Daerah buffer yang kedua adalah di sekitar pH 9.60. Dengan melihat kedua daerah buffer ini, dapat disimpulkan bahwa glisin bukan merupakan buffer yang efektif pada pH cairan antar sel atau pH darah (≈ 7.4).

Pada kurva titrasi terlihat hubungan antara muatan listrik asam amino dengan pH. Pada pH sangat rendah (di bawah pK_{a1}), asam amino bermuatan positif, sedangkan pada pH tinggi (di atas pK_{a2}), asam amino akan berada pada keadaan bermuatan negatif. Nilai pH dimana asam amino berada pada keadaan netral (muatan listrik netto = 0) disebut pH titik isoelektrik (pI). Titik isoelektrik adalah rata-rata nilai pK_a .

$$pI = \frac{1}{2} (pK_{a1} + pK_{a2})$$

untuk glisin :

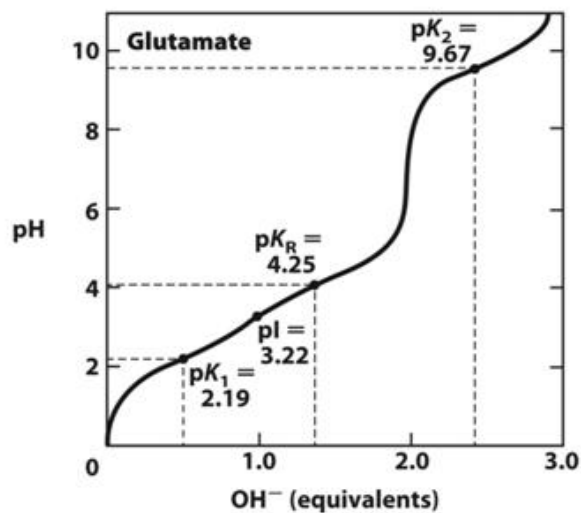
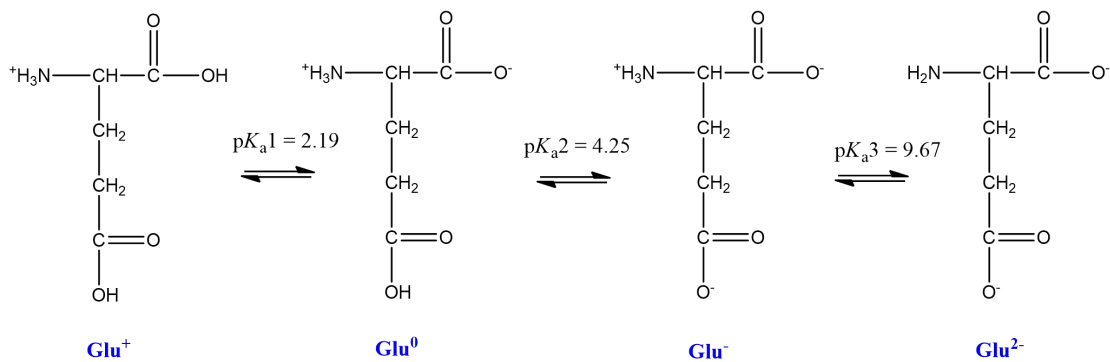
$$pI = \frac{1}{2} (2.34 + 9.60) = 5.97$$

Semua asam amino yang gugus R-nya tidak mengion mempunyai kurva titrasi yang mirip dengan glisin (ionisasi dua tahap, **Gambar 13**). Nilai pK_{a1} akan berkisar antara 2.0 sampai 3.0 dan nilai pK_{a2} berkisar antara 9.0 sampai 10.0. Dengan demikian nilai pI juga akan berada di daerah sekitar 6 (pI glisin = 5.97).

Kurva yang lebih kompleks akan diperoleh pada asam-asam amino yang gugus R-nya dapat mengionisasi. Dalam hal ini terjadi ionisasi tiga tahap dengan tambahan ionisasi yang berasal dari gugus R. Jika gugus R bersifat asam, contohnya pada asam aspartat dan asam glutamat, ionisasi kedua (nilai pK_{a2}) berasal dari gugus karboksilat pada gugus R. Sementara ionisasi ketiga berasal dari gugus α -amonium (pK_{a3}). Sebaliknya, jika gugus R bersifat basa (lisin, arginin, dan histidin), ionisasi dari gugus R akan

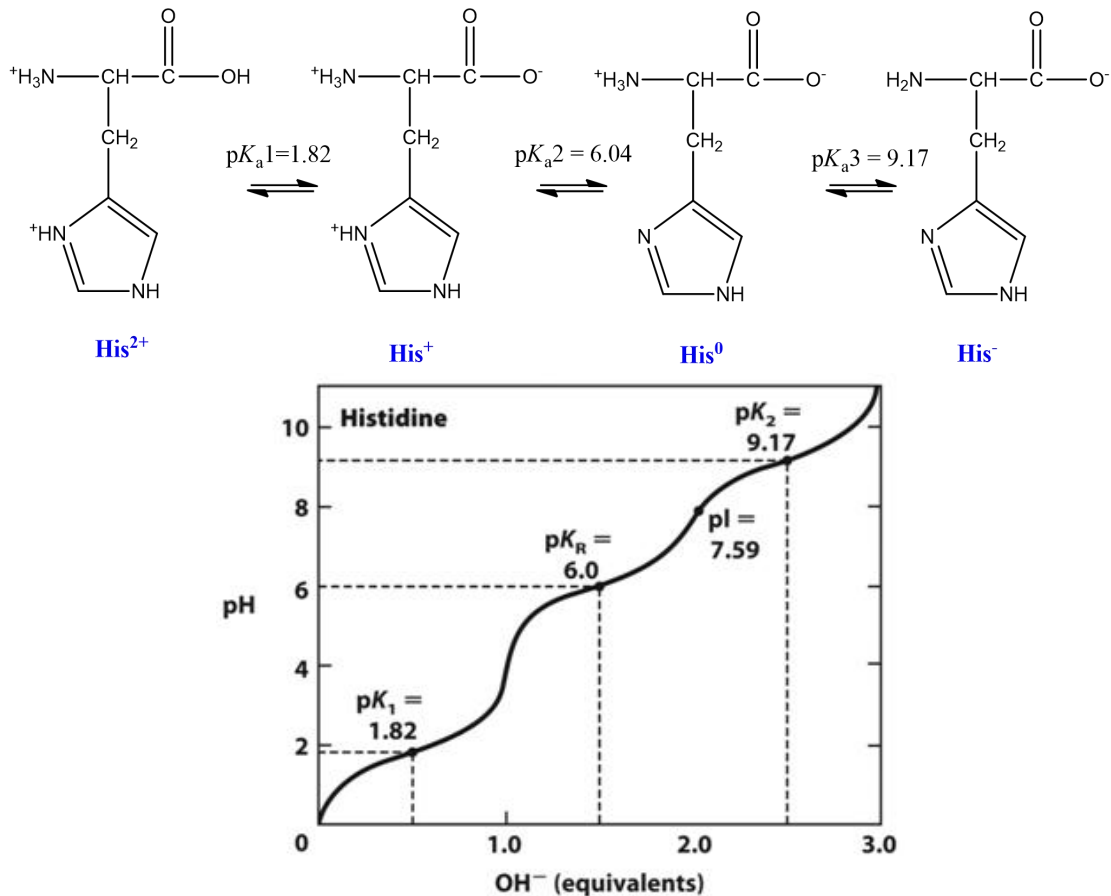
terjadi setelah ionisasi gugus α -amonium. Ini berarti asam-asam amino yang bersifat asam akan mempunyai harga pI lebih rendah daripada glisin dan asam-asam amino yang bersifat basa akan mempunyai pI lebih besar dari glisin. Nilai pK_a masing-masing asam amino dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Kurva titrasi di bawah ini adalah ionisasi untuk asam glutamat dan histidin, **Gambar 14** dan **Gambar 15**. Asam glutamat mempunyai gugus R dengan tambahan gugus karboksilat. Karenanya kurva titrasi asam glutamat (dan juga asam aspartat) memiliki tiga daerah mendatar, yang masing-masing berkaitan dengan deprotonasi dari kedua gugus karboksilat dan satu gugus amonium. Harga pK_a gugus R berada di antara harga pK_{a1} dan pK_{a3} (**Gambar 14**). Bagian mendatar kedua pada kurva titrasi berkaitan dengan deprotonasi dari gugus R ini. Bentuk ion zwitter (muatan listrik nol) berada di antara pK_{a1} dan pK_{a2} , sehingga nilai pI dihitung dari harga rata-rata kedua harga pK_a ini.



Gambar 14 Ionisasi asam glutamat dan bentuk kurva titrasinya. Asam glutamat adalah asam amino bersifat asam.

Histidin memiliki gugus R dengan cincin imidazol. Gugus ini dapat terdeprotonasi 14 dengan harga pK_a 6.04. Karena memiliki tiga tahap deprotonasi (bersama dengan gugus karboksilat dan amonium), kurva titrasi histidin memiliki tiga daerah mendatar (**Gambar 15**). Bentuk ion zwitter terjadi pada pH antara pK_a2 (gugus imidazol) dan pK_a3 (gugus amonium). Harga pI untuk histidin dihitung berdasar nilai rata-rata pK_a2 dan pK_a3 , yaitu 7.59. Karena memiliki harga pK_a2 pada pH \approx netral, histidin berperan penting sebagai buffer pada larutan yang mengandung protein.



Gambar 15 Ionisasi histidin dan bentuk kurva titrasinya.

Tabel 1 Penamaan asam-asam amino dan harga pK_a .

Asam amino	Simbol	pK_a1 (COOH)	pK_a2 (NH ₂)	pK gugus R
------------	--------	-------------------	-------------------------------	-----------------

Asam amino dengan gugus R nonpolar alifatik

Glisin	Gly	G	2.34	9.60
Alanin	Ala	A	2.34	9.69
Leusin	Leu	L	2.36	9.60
Isoleusin	Ile	I	2.36	9.68

Asam amino	Simbol		pK_{a1} (COOH)	pK_{a2} (NH ₂)	pK gugus R
Valin	Val	V	2.32	9.62	
Metionin	Met	M	2.28	9.21	
Prolin	Pro	P	1.99	10.96	
Asam amino dengan gugus R nonpolar aromatik					
Fenilalanin	Phe	F	1.83	9.13	
Tirosin	Tyr	Y	2.20	9.11	
Triptofan	Trp	W	2.38	9.39	
Asam amino dengan gugus R polar yang tidak bermuatan					
Serin	Ser	S	2.21	9.15	~ 13
Threonin	Thr	T	2.11	9.62	~ 13
Sistein	Cys	C	1.96	10.28	8.18
Asparagin	Asn	N	2.02	8.8	
Glutamin	Gln	Q	2.17	9.13	
Asam amino dengan gugus R bermuatan positif					
Lisin	Lys	K	2.18	8.95	10.53
Histidin	His	H	1.82	9.17	6.00
Arginin	Arg	R	2.17	9.04	12.48
Asam amino dengan gugus R bermuatan negatif					
Aspartat	Asp	D	1.88	9.60	3.65
Glutamat	Glu	E	2.19	9.67	4.25

2.5 Ringkasan asam amino

- Ke-20 macam asam amino pada protein merupakan asam amino yang memiliki gugus α -karboksil, gugus α -amino, dan gugus R pada atom C- α . Kecuali pada glisin, atom C- α pada asam amino bersifat asimetris, karenanya asam amino memiliki paling tidak dua stereoisomer. Namun demikian, hanya asam amino konfigurasi L- yang dijumpai pada protein.
- Asam amino dikelompokkan berdasarkan kepolaran dan muatan listrik gugus R pada pH 7.

c. Asam-asam amino bervariasi dalam sifat asam-basa dan masing-masing memiliki 16 kurva titrasi yang khas. Asam monoamino monokarboksilat dengan gugus R nonpolar tidak terionisasi, pada pH rendah merupakan asam diprotik. Apabila pH dinaikkan, asam amino diprotik akan terdeprotonasi bertahap. Untuk asam amino dengan gugus R terionisasi, gugus ini menghasilkan spesies ionik tambahan bergantung pada kondisi pH lingkungan.

2.6 Soal-soal latihan asam amino

1. Selain gugus fungsi karboksil, tuliskan gugus fungsi lain yang terdapat pada:

a. asparagin c. sistein

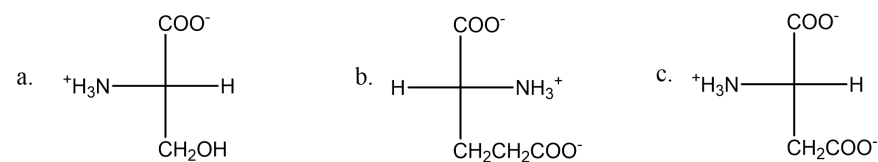
b. serin

2. Gambarkan proyeksi Fischer untuk asam amino berikut:

a. L-leusin

b. D-sistein

3. Di antara ketiga asam amino di bawah ini, manakah yang terdapat di alam?



4. Tuliskan struktur asam amino tirosin (Tyr) pada:

a. pH = 6

b. pH = 2

c. pH = 11

d. Hitung pI dari tirosin!

17

e. Spesies mana yang dominan terdapat pada titik isoelektrik?

5. Gambarkan struktur asam amino fenilalanin (Phe) dalam keadaan bermuatan:

a. positif

(b) netral

(c) negatif

d. Spesies mana yang dominan terdapat pada pH 11?

e. Spesies mana yang dominan terdapat pada pH 1?

f. Hitung pI dari fenilalanin!

g. Spesies mana yang dominan terdapat pada titik isoelektrik?

6. Asam amino di bawah ini yang merupakan asam amino tidak bermuatan yang berasal dari turunan asam amino bersifat asam adalah:

a. Sistein.

c. Glutamin.

b. Tirosin.

d. Serin

7. Asam amino di bawah ini yang merupakan asam amino bersifat hidrofobik pada pH 7.4 adalah:

a. Isoleusin.

c. Asam aspartat.

b. Arginin.

d. Treonin.

8. Kemampuan mendapar protein paling efektif apabila protein kaya dengan asam amino berikut:

a. Serin.

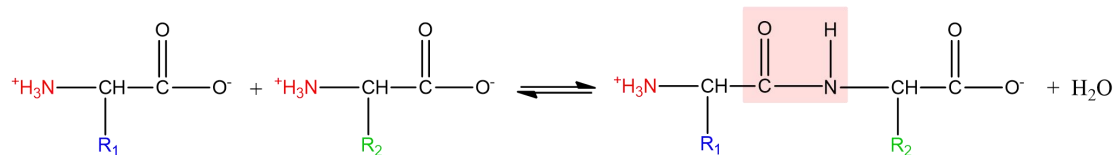
c. Alanin.

b. Sistein.

d. Histidin.

Polipeptida dan protein merupakan polimer asam amino. Perbedaan polipeptida dan protein terletak pada jumlah asam amino pembentuknya. Istilah polipeptida diberikan pada polimer asam amino yang mempunyai jumlah satuan asam amino lebih kecil daripada protein. Sebagai aturan umum, istilah polipeptida merujuk pada senyawaan-senyawaan peptida dengan jumlah monomer asam amino kurang dari 50. Sedangkan protein memiliki jumlah monomer asam amino lebih dari 50.

Dalam senyawaan peptida, dua atau lebih asam amino saling bertautan melalui ikatan peptida. Ikatan peptida terjadi bila gugus α -amino dari satu asam amino bergabung dengan gugus α -karboksil dari asam amino yang lain dengan mengeluarkan satu molekul air (**Gambar 16**). Istilah dipeptida diberikan kepada senyawaan peptida yang mengandung dua asam amino. Sedangkan tripeptida mengandung tiga asam amino.

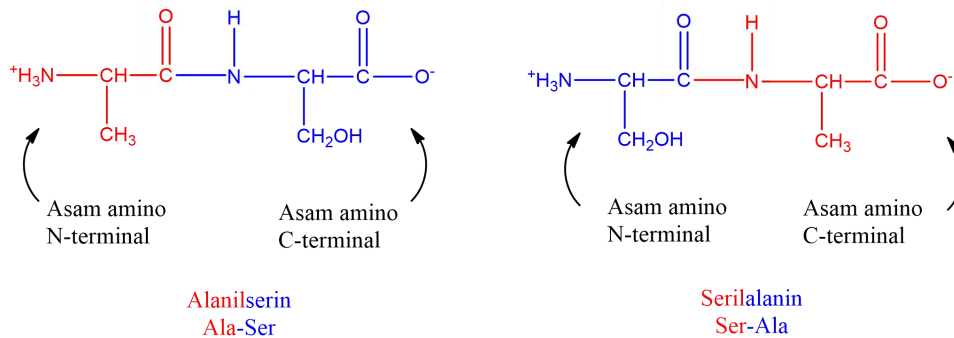


Gambar 16 Pembentukan ikatan peptida.

Setiap peptida mempunyai gugus $-\text{NH}_3^+$ bebas, yang disebut N-terminal, dan gugus $-\text{COO}^-$ bebas yang disebut C-terminal. Berdasar perjanjian, ujung $-\text{NH}_3^+$ bebas dituliskan pada bagian sebelah kiri, dari rantai dan ujung $-\text{COO}^-$ bebas pada bagian sebelah kanan rantai.

3.1 Penamaan peptida

Senyawaan peptida dinamakan berdasarkan penggabungan asam-asam amino pembentuknya, dengan mengubah akhiran -in dan -at menjadi -il, kecuali untuk asam amino yang mengandung gugus karboksil bebas. Penamaan diawali dari asam amino dengan ujung amino ($-\text{NH}_3^+$) bebas (N-terminal) dan berakhir dengan asam amino dengan ujung karboksil ($-\text{COO}^-$) bebas (C-terminal). Berdasar perjanjian, nama asam amino $-\text{NH}_3^+$ ujung ditulis disebelah kiri dan asam amino $-\text{COO}^-$ ujung ditulis di sebelah kanan.



Gambar 17 Penamaan peptida, dimulai dari asam amino N-terminal berakhir di asam amino C-terminal.

3.2 Reaksi kimia pada peptida

Peptida dapat terhidrolisis menjadi asam-asam amino pembentuknya, baik secara nonspesifik maupun secara spesifik. Senyawaan peptida dapat terhidrolisis secara tidak spesifik dengan pemberian asam kuat atau basa kuat. Sedangkan hidrolisis secara spesifik terjadi dengan bantuan enzim. Beberapa contoh enzim yang terlibat dalam reaksi hidrolisis spesifik adalah tripsin yang menghidrolisis peptida pada gugus karboksil lisin dan arginin. Sedangkan khimotripsin menghidrolisis peptida pada gugus karboksil dari phenilalanin, triptofan, dan tyrosin.

3.3 Polipeptida yang mempunyai reaktivitas biologi^{3,4}

Banyak peptida alamiah ditemukan bebas dalam sel hewan, tumbuhan, dan bakteri. Dari peptida ini ada yang fungsinya sudah dipahami dan ada pula yang belum. Dari peptida yang telah diketahui fungsinya, terdapat golongan peptida yang berfungsi sebagai hormon. Hormon adalah pembawa pesan kimia untuk merangsang fungsi khusus jaringan atau organ. Hormon dihasilkan oleh kelenjar endokrin seperti pankreas, pituitary, atau adrenal korteks. Contohnya adalah:

- Insulin terdiri dari 2 rantai polipeptida, masing-masing 30 residu dan 21 residu.
- Oksitosin (9 residu) dihasilkan oleh pituitary posterior, berfungsi merangsang kontraksi.
- Bradikinin (9 residu) berfungsi menghambat inflamasi otot.

Terdapat juga peptida yang berfungsi sebagai antibiotika. Contohnya *gramisidin-S* dan *tyrocidin*. Keduanya adalah peptida berbentuk siklik. Gramisidin-S mengandung

asam amino ornitin yang tidak terdapat dalam protein dan mengandung 2 asam amino dengan konfigurasi D- 20

4. PROTEIN

Seperti disebutkan di atas, protein merupakan polimer kondensasi asam-asam amino melalui ikatan peptida. Istilah protein merujuk pada makromolekul yang memiliki jumlah asam amino lebih banyak dari pada polipeptida. Sebagian besar protein memiliki komposisi dasar unsur-unsur pembentuknya yang agak tetap, yaitu:

Karbon	51 – 55 %
Hidrogen	6.3 – 7.3 %
Oksigen	20 - 23 %
Nitrogen	12 – 19 % (dengan kadar rata-rata : 16 %)
Sulfur	0.2 – 3 %
Posfor	kurang dari 1 %

4.1 Sifat -sifat protein

a. Sifat koloid

Protein mempunyai bobot molekul yang cukup besar. Karenanya, di dalam air protein membentuk sistem koloid dan mempunyai sifat-sifat seperti sistem koloid umumnya, diantaranya mempunyai efek Tyndall dan gerak Brown. Oleh karena terdapat banyak gugus-gugus hidrofilik dalam protein ($-\text{NH}_2$, $-\text{COOH}$, $-\text{OH}$), dispersi koloid yang terbentuk bersifat hidrofilik. Ukuran molekul protein yang besar tidak memungkinkan protein untuk berdifusi melalui membran.

b. Sifat asam – basa

Dalam larutan, ionisasi gugus R menentukan sifat protein. Dengan adanya gugus-gugus R yang bersifat asam atau basa, protein dalam larutan bersifat amfoter. Sama halnya seperti pada asam amino, karena ionisasi gugus R, dalam pH tertentu protein dapat merupakan campuran dapar. Akan tetapi, daya mendapar protein lebih lemah

dari pada asam amino. Protein juga memiliki titik pI. Nilai pI ditentukan oleh gugus21-gugus yang terionisasi.

4.1.1 Peranan gugus R dalam aktifitas enzim

Gugus R berperan penting dalam aktifitas enzim. Pada protein, rantai R hidrofobik dijumpai di bagian dalam struktur protein sehingga menjauhkannya dari kontak dengan air. Sebaliknya, rantai R hidrofilik dijumpai di bagian luar protein dan di bagian sisi aktif enzim.

Pada enzim, sifat gugus R menentukan reaksi enzimatik yang terjadi. Cincin imidazol pada histidin berperan sebagai donor dan akseptor proton pada kondisi pH fisiologis. Karenanya histidin dijumpai pada pusat aktif enzim. Pada molekul hemoglobin, histidin berperan penting sebagai dapar. Histidin menetralkan ion H^+ hasil ionisasi asam karbonat pada sel darah merah. Sifat hemoglobin inilah yang menyebabkan terjadinya pertukaran O_2 dan CO_2 dalam jaringan dan paru-paru.

Gugus fungsi pada asam amino polar berperan penting dalam reaksi-reaksi enzimatik. Gugus alkohol (-OH) pada serin dan treonin, serta gugus tiol (-SH) pada sistein menyebabkan asam-asam amino ini bertindak sebagai nukleofil selama reaksi enzimatik. Disamping itu, gugus tiol pada sistein membentuk jembatan disulfida dalam sistin. Pada kebanyakan protein, jembatan disulfida bertindak sebagai sisi aktif. Pada insulin, jembatan disulfida menggabungkan rantai polipeptida yang berbeda dan bertindak sebagai reseptor.

4.2 Penggolongan protein

Dalam tubuh manusia, terdapat lebih dari 100 000 jenis protein dengan fungsi yang berbeda-beda. Karena protein merupakan makromolekul yang sangat kompleks, amatlah sulit untuk mengklasifikasikan protein hanya berdasarkan strukturnya seperti yang dapat dilakukan pada makromolekul lain seperti karbohidrat. Berbagai pendekatan dipakai untuk mengklasifikasikan protein, di antaranya berdasarkan:

1. Fungsi biologis
2. Bentuk
3. Komposisi

4.2.1 Penggolongan protein berdasar fungsi biologis

22

Protein memainkan peranan penting dalam hampir semua proses biokimia dalam tubuh. Keragaman fungsi protein jauh melebihi fungsi makromolekul lain seperti lipid dan karbohidrat. Keragaman fungsi protein disebabkan oleh kemampuan protein mengikat gugus molekul kecil secara spesifik atau mengikat gugus protein lain. Hal lain yang berkontribusi adalah protein dapat terikat dan terintegrasi pada struktur membran sel. Berdasarkan fungsi biologisnya, protein dapat digolongkan seperti tampak pada **Tabel 2**.

Tabel 2 Penggolongan protein berdasar fungsi biologis.

Golongan protein	Fungsi dalam tubuh	Contoh
Struktur	membentuk struktur yang memberi kekuatan pada jaringan.	Kolagen : komponen utama tendon dan tulang rawan. Elastin : pada persendian. Keratin : rambut, kulit, kuku, bulu burung, wool.
Kontraktile	Berperan dalam proses kontraksi atau gerak pada sel dan organisme.	Aktin dan miosin mengkontraksi serat otot. Tubulin terdapat pada flagela dan silia.
Transport	Membawa zat esensial ke seluruh tubuh.	Hemoglobin mengikat O ₂ di paru-paru. Myoglobin mengikat O ₂ di otot. Lipoprotein mengangkut lipid.
Penyimpanan	Menyimpan nutrien.	Kasein menyimpan protein pada susu. Ovalbumin menyimpan protein pada putih telur, Ferritin menyimpan cadangan besi dalam limfa.
Hormon	Mengatur dan menstimulasi keberlangsungan reaksi biokimia.	insulin mengatur metabolisme gula. <i>Growth hormone</i> menstimulasi pertumbuhan sel pada hewan dan tanaman.
Enzim	Mengkatalisis reaksi-reaksi biokimia dalam sel	Sucrase menghidrolisis sukrosa. Tripsin menghidrolisis protein.

Golongan protein	Fungsi dalam tubuh	Contoh
Pertahanan	Mengenali dan membunuh benda asing	Imunoglobulin sebagai antibodi pada vertebrata. Fibrinogen dan trombin sebagai penggumpal darah. Bisa ular, toksin bakteri, dan lain-lain.
Racun	Jenis protein yang diproduksi suatu makhluk hidup akan tetapi bersifat racun terhadap makhluk hidup lain	Racun ular mengandung ribuan jenis protein yang dapat bersifat toksin atau neurotoksin (contohnya α -bungarotoxin dan α -cobratoxin). Racun ular juga banyak mengandung enzim hidrolase, contohnya enzim fosfolipase A2 yang menghidrolisis fosfolipid dari membran sel darah merah.

4.2.2 Penggolongan protein berdasar bentuk

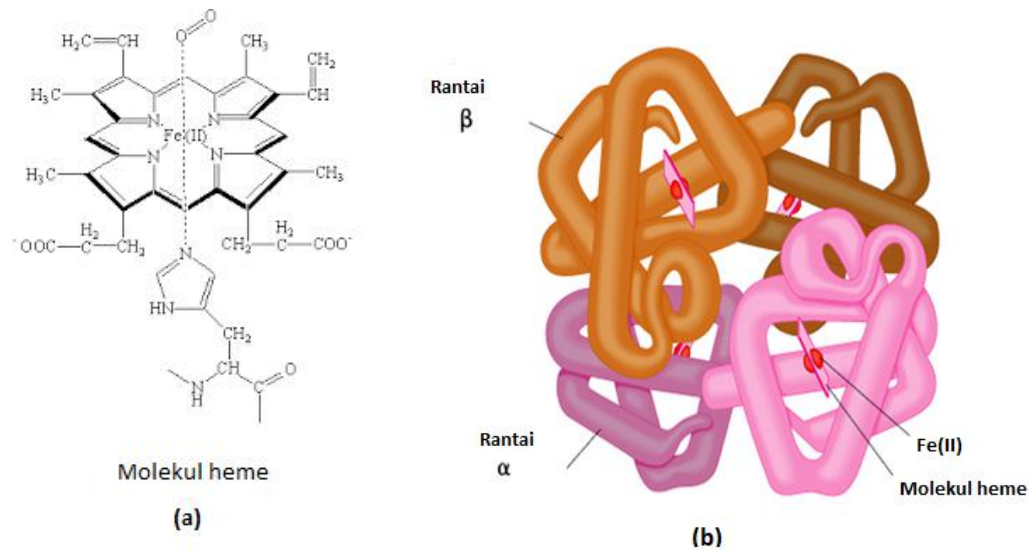
Protein dapat digolongkan menurut bentuk tiga dimensinya, yaitu protein globular dan protein serabut.

Protein globular

Pada protein berbentuk globular, rantai polipeptida melipat secara rapat dengan asam-asam amino hidrofilik berada di sisi luar. Struktur ini membuat protein globular larut dalam air. Berbagai jenis enzim dan protein pengangkut (transport) mempunyai bentuk protein globular sehingga dapat larut dalam darah atau media cair.

Hemoglobin dan myoglobin adalah dua contoh protein globular yang berperan sebagai protein pengangkut. Keduanya merupakan protein konyugasi antara molekul protein dan gugus prostetik berupa molekul heme (**Gambar 18 a**). Hemoglobin terdiri dari empat rantai polipeptida (dua subunit α - dan dua subunit β -). Setiap subunit mengikat satu unit heme (**Gambar 18 b**). Ketika ke-4 subunit polipeptida saling melipat, asam-asam amino nonpolar tetap berada di bagian dalam. Gaya dispersi

London antar gugus nonpolar ini berperan penting menstabilkan struktur kuartener 24 antar subunit dalam hemoglobin.



Gambar 18 Molekul Fe(II)-heme berikatan dengan O₂ (a) dan molekul heme terikat dalam hemoglobin (b).

Seperti disebut di atas, setiap satu molekul hemoglobin mengandung 4 unit gugus heme. Di dalam molekul heme terdapat cincin porfirin yang mengandung atom-atom nitrogen dan ion Fe²⁺. Ion Fe²⁺ dalam molekul heme membentuk ikatan koordinasi 6, yaitu dengan 4 ikatan koordinasi dengan atom-atom nitrogen dalam sistem porfirin, 1 ikatan koordinasi dengan molekul oksigen, dan 1 ikatan koordinasi dengan atom N dari asam amino histidin. Kelarutan oksigen dalam darah sangat rendah. Akan tetapi dengan adanya molekul Fe²⁺-heme dalam hemoglobin, sel darah merah mampu mengikat oksigen dan membawanya ke seluruh bagian tubuh.

Karbon monoksida (CO) beracun bagi tubuh karena ion Fe²⁺ dalam heme dapat mengikat CO lebih kuat 200 kali dibanding ikatannya dengan O₂. Hemoglobin yang terkompleks dengan CO tidak lagi dapat membawa O₂ ke jaringan untuk metabolisme, sehingga fungsi sel terganggu.

Myoglobin mengandung 153 residu asam amino dalam satu rantai polipeptida. Myoglobin mengandung asam amino nonpolar lebih sedikit dibanding hemoglobin. Dalam myoglobin, terdapat 8 bagian α-heliks dan satu gugus heme yang terikat di bagian dalam rantai polipeptida. Myoglobin memberi warna merah khas pada otot jantung. Fungsi myoglobin adalah menyimpan oksigen di jaringan.

Fungsi dan sifat protein bergantung pada bentuk tiga dimensi protein. Bentuk tiga 25 dimensi ini sangat ditentukan oleh ikatan primer antar asam-asam amino pembentuk protein. Apabila satu asam amino digantikan dengan asam amino yang lain, fungsi protein akan terganggu. Contoh kasus untuk menjelaskan hal ini adalah pada kasus hemoglobin sel sickle (sickle cell hemoglobine). Pada hemoglobin sel sickle, satu asam amino pada kedua subunit β - diganti dari asam glutamat menjadi valin. Penggantian asam amino polar (asam glutamat) dengan asam amino nonpolar (valin) mengubah bentuk hemoglobin, dan berefek sangat drastis mengganggu fungsi hemoglobin. Sel darah merah yang mengandung hemoglobin sel sickle berbentuk bulan sabit dan lebih memanjang dibanding sel darah merah normal, dan biasanya juga sangat rapuh. Karenanya, sel abnormal ini mudah pecah dan menyumbat pembuluh darah kapiler dan mengakibatkan inflamasi dan rasa sakit. Selanjutnya akan mengakibatkan anemia berat dan kerusakan organ.

Protein serabut

Protein serabut terbentuk dari rantai polipeptida yang disusun sepanjang satu sumbu. Protein ini tidak larut dalam air. Protein serabut berperan dalam pembentuk struktur, memberi kekuatan dan perlindungan pada jaringan dan sel.

Termasuk dalam protein ini adalah α -keratin dan kolagen. Keratin banyak ditemukan di rambut, kuku, kulit, dan wool. Protein terbentuk dari unit-unit α -heliks yang sebagian besar mengandung residu alanin dan leusin. Kedua asam amino nonpolar ini tersusun memanjang ke luar dari rantai α -heliks. Adanya asam-asam amino nonpolar di bagian luar struktur protein mengakibatkan protein ini sangat tidak larut dalam air. Dua susunan heliks keratin melingkar satu dengan yang lain membentuk serat yang lebih tebal. Demikian seterusnya hingga membentuk lebaran rambut. α -Keratin juga mengandung sejumlah besar residu sistein sehingga dapat membentuk jembatan disulfida antar heliks terdekat. Jumlah jembatan disulfida dalam α -keratin menentukan kekerasan material yang terbentuk. Tanduk, cakar hewan, dan kuku banyak mengandung jaringan jembatan disulfida.

Kolagen adalah protein yang paling banyak dijumpai pada vertebrata. Banyak terdapat pada jaringan penyambung seperti tulang, tendon, gigi, dan pembuluh darah. Residu terbanyak pada kolagen adalah glisin dan prolin. Bentuk molekul glisin yang kecil memungkinkan antar rantai heliks kolagen dapat saling melingkar satu dengan

yang lain. Dalam struktur kolagen, tiga rantai polipeptida saling melingkar menghasilkan struktur yang rapat. Banyaknya residu glisin memungkinkan terbentuknya jembatan hidrogen sehingga menstabilkan struktur kolagen. Reaksi pembentukan jembatan hidrogen antar glisin membutuhkan vitamin C untuk memodifikasi asam-asam amino agar dapat tersusun dalam rantai kolagen. Karenanya defisiensi vitamin C dapat mengakibatkan serat kolagen tidak terbentuk sempurna. Dinding pembuluh darah yang lemah mengakibatkan gusi berdarah.

4.2.3 Penggolongan protein berdasar komposisi

Kebanyakan protein hanya terdiri dari rangkaian asam-asam amino dan tidak mengandung gugus kimia yang lain. Protein ini disebut **protein sederhana**. Disamping protein sederhana, terdapat juga jenis protein yang hanya dapat menjalankan fungsinya apabila protein melekat pada gugus lain. Protein ini disebut **protein terkonyugasi**. Bagian non gugus amino dalam protein terkonyugasi disebut gugus prostetik. Gugus prostetik dapat berupa gugus organik atau inorganik dan terikat kepada gugus protein melalui interaksi nonkovalen atau terikat secara kovalen.

Protein terkonyugasi digolongkan berdasar sifat kimia gugus prostetiknya. Tabel 3 memperlihatkan klasifikasi protein berdasarkan komposisinya.

Tabel 3 Protein konyugasi

Golongan protein	Gugus prostetik	Contoh
Protein sederhana	Tidak ada. dihidrolisis menjadi asam-asam amino.	
Glikoprotein	Karbohidrat	γ - Globulin darah
Lipoprotein: protein berkonyugasi dengan lipid.	Lipid, kolesterol, fosfolipid.	β -lipoprotein dalam darah
Nukleoprotein	Asam nukleat	DNA dan RNA terdapat dalam inti sel.
fosfoprotein	Gugus fosfat	Kasein dalam susu.
Hemoprotein	Heme (forfirin besi)	Hemoglobin
Metaloprotein: protein	Besi (Fe), seng (Zn),	Transferrin dapat

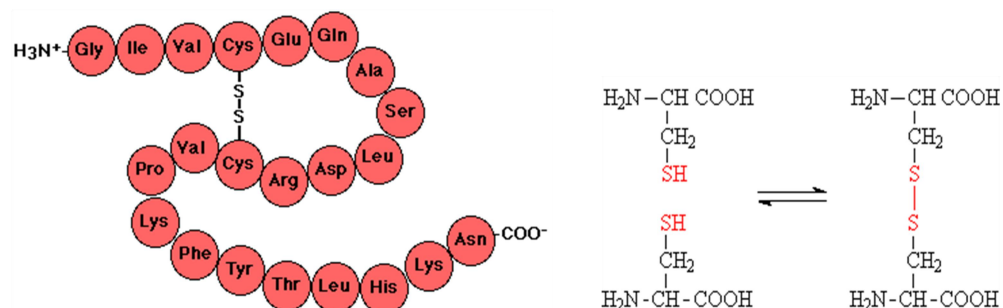
yang berikatan dengan logam.	tembaga (Cu), cobalt (Co)	mengikat Fe, Zn, dan Cu. Cerruloplasmin mengikat tembaga.
Kromoprotein: gugus prostetik mengandung kromofor atau pigmen.	Flavoprotein, haemoglobin, sitokrom, carotenoid.	

4.3 Struktur protein

Seperti telah disebutkan sebelumnya, protein merupakan polimer dari lebih dari 50 asam amino. Perbedaan antar protein disebabkan oleh perbedaan urutan, variasi, dan jumlah ke-20 macam asam amino pembentuk protein. Untuk dapat menjalankan fungsinya, asam-asam amino ini terikat dengan cara tertentu untuk menstabilkan struktur protein. Agar dapat memahami keberagaman fungsi protein, kita harus memahami empat tingkatan struktur tiga dimensi protein, yaitu struktur primer, sekunder, tersier, dan kuartener.

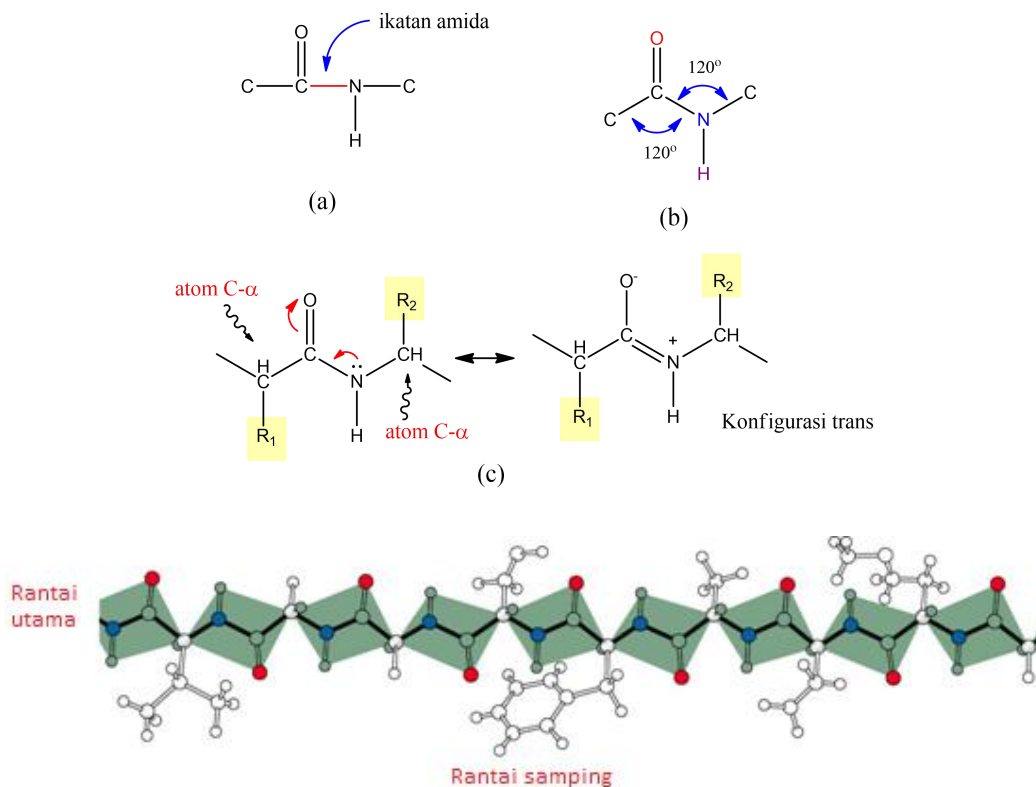
4.3.1 Struktur primer

Struktur primer protein adalah urutan linier asam-asam amino pembentuk protein. Antar asam amino berikatan kovalen melalui ikatan peptida dan dapat distabilkan oleh ikatan kovalen yang terjadi antar asam amino sistein (**Gambar 19**).



Gambar 19 Struktur primer protein merupakan urutan linier asam amino dihubungkan satu dengan yang lain melalui ikatan peptida dan distabilkan oleh jembatan disulfida.

Bagian terpenting dalam struktur primer adalah ikatan amida yang menghubungkan 28 satu asam amino dengan asam amino yang lain. Atom C karbonil dalam ikatan amida mempunyai geometri berbentuk trigonal planar (**Gambar 20 b**). Amida mengalami resonansi ikatan yang melibatkan ikatan ganda pada atom C karbonil dan pasangan elektron bebas pada atom N. Karena, ikatan C-N dalam amida juga mempunyai karakter ikatan ganda (**Gambar 20 c**). Ini mengakibatkan keenam atom yang ada dalam satu ikatan amida (**Gambar 20 a dan b**) berada dalam satu bidang datar dengan sudut ikatan 120° dan antara ikatan C=O dan N-H terorientasi 180° satu terhadap yang lain. Gugus R berada pada posisi trans dan ikatan peptida berada pada bidang datar (planar).



Gambar 20 Ikatan amida (a), sudut ikatan (b) dan struktur resonansi dalam ikatan peptida (c). Struktur peptida (d) menggambarkan susunan tiga dimensi rantai utama terhadap gugus R.

Adanya ikatan peptida didukung dengan beberapa fakta berikut:

- Protein hanya memiliki sedikit gugus karboksil dan amino bebas. Apabila dihidrolisis, gugus karboksil dan amino bebas akan bertambah dengan jumlah yang sama sehingga hanya sedikit merubah harga pH.

- b. Sintesis protein dapat dilakukan dengan menggabungkan gugus karboksilat²⁹ dari satu asam amino dengan gugus amino asam amino lain (ikatan peptida) dengan urutan asam amino yang berkesesuaian dengan protein alaminya.
- c. Protein sintesis mempunyai aktifitas biologis yang sama dengan jenis protein alaminya. Protein sintesis ini pun dapat dihidrolisis dengan enzim yang sama yang dipergunakan untuk menghidrolisis protein alaminya.
- d. Protein sintesis bereaksi positif (berwarna lembayung) dengan reagents Biuret. Ini menandakan bahwa didalam protein tersebut terdapat ikatan peptida.
- e. Analisis spektra IR dan sinar-X memperlihatkan adanya ikatan peptida.

4.3.2 Struktur sekunder

Struktur sekunder adalah penyusunan ruang atom-atom dalam satu daerah dalam rantai polipeptida atau protein. Struktur sekunder tidak lain adalah jembatan hidrogen antara atom H pada N-H dari satu amida dengan atom O gugus karbonil (C=O) dari amida yang lain. Struktur sekunder distabilkan oleh jembatan disulfida. Terdapat dua macam struktur sekunder:

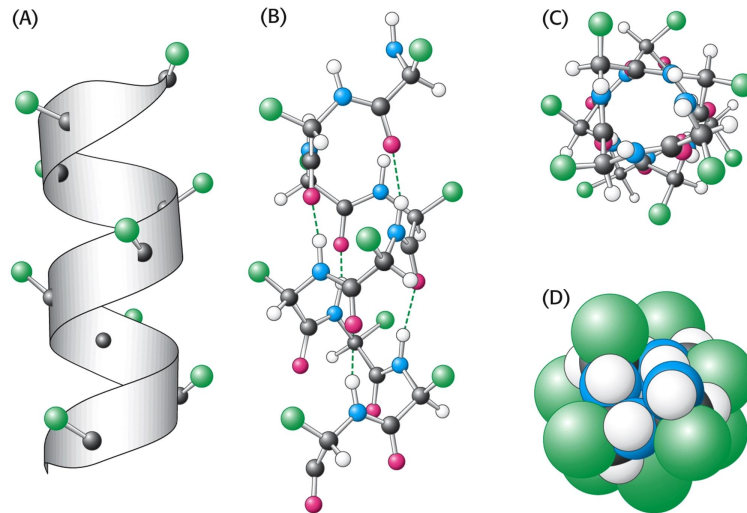
a. **Konformasi α -heliks.** Terbentuk dalam satu rantai peptida dimana rantai peptida memutar searah jarum jam atau ke arah kanan membentuk spiral (**Gambar 21**).

Konformasi α -heliks memiliki karakteristik sebagai berikut:

- Jarak antar satu struktur melingkar dengan yang berikutnya adalah 5.4 Å dan terdapat sebanyak 3.6 residu asam amino dalam setiap putaran heliks.
- Jembatan hidrogen antara N-H dan C=O berada pada posisi paralel mengikuti sumbu α -heliks.
- Gugus C=O membentuk jembatan hidrogen dengan N-H dari asam amino ke-4 berikutnya.
- posisi gugus R mengarah keluar dari pusat α -heliks.

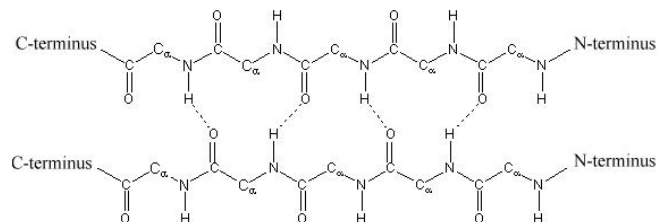
Konformasi α -heliks ini menghasilkan struktur yang kuat dan tidak larut dalam air.

Termasuk dalam protein dengan konformasi ini adalah myosin pada otot dan α -keratin pada rambut.

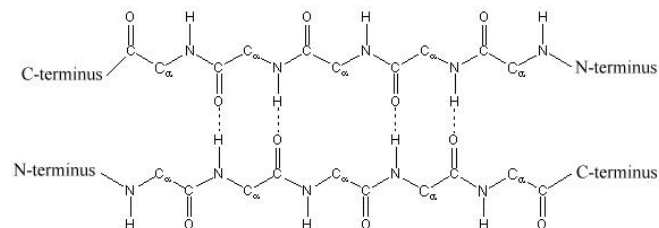


Gambar 21 Konformasi α -heliks. Terbentuk dalam satu rantai polipeptida yang tersusun melingkar searah jarum jam (a). Jembatan hidrogen terletak paralel terhadap sumbu α -heliks dan gugus R menjauh dari pusat α -heliks (b). Konformasi α -heliks tampak dari atas (c) dan (d).

Parallel β Sheet



Antiparalel β Sheet

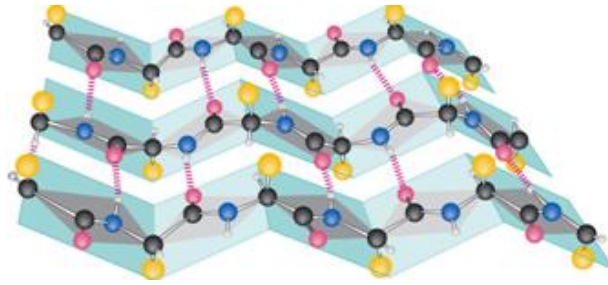


Gambar 22 Konformasi lembaran β paralel dan antiparalel.

b. Lembaran β

Struktur ini terbentuk apabila jembatan hidrogen dan jembatan disulfidanya terbentuk antaradua rantai peptida. Ikatan antara satu rantai peptida dengan rantai peptida yang lain dapat terjadi pada daerah arah yang sama (paralel) atau arah berlawanan

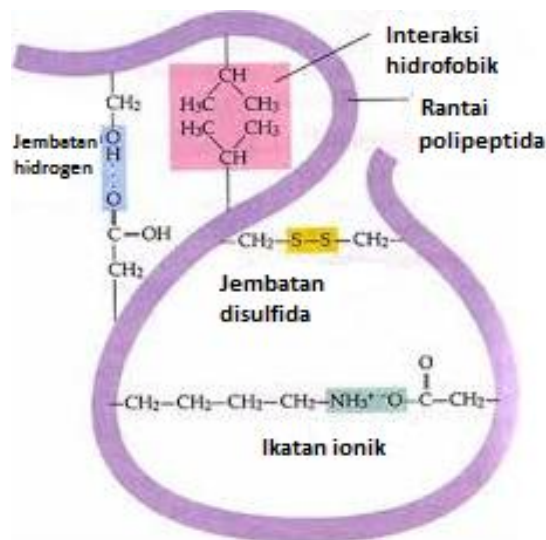
(antiparalel), **Gambar 22.** Contoh protein dengan konformasi lembaran β adalah 31 protein dalam serat sutera.



Gambar 23 Gambaran tiga dimensi konformasi lembaran β .

4.3.3 Struktur tersier

Struktur tersier berkaitan dengan penyusunan tiga dimensi keseluruhan rantai polipeptida. Keberadaan struktur tersier didukung oleh fakta bahwa molekul polipeptida atau protein merupakan molekul yang padat dengan kurang dari lima molekul air di bagian dalam protein.



Gambar 24 Struktur tertier merupakan interaksi antar rantai samping (gugus R). Empat jenis ikatan yang menstabilkan struktur tertier adalah jembatan disulfida, jembatan hidrogen, interaksi hidrofobik dan ikatan ionik.

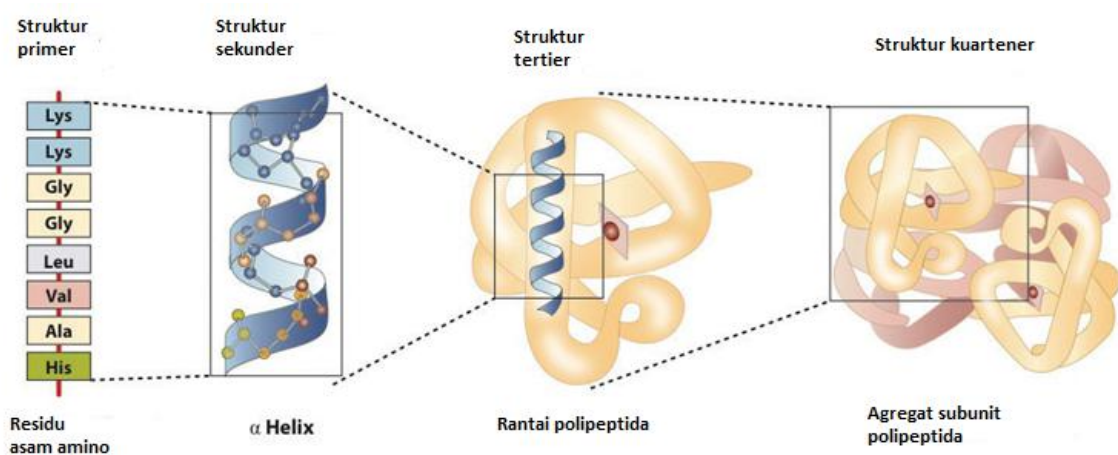
Rantai polipeptida umumnya melipat strukturnya untuk mendapatkan kestabilan yang maksimal. Dalam lingkungan cairan sel, protein melipat sedemikian sehingga sebagian besar bagian gugus yang polar dan bermuatan berada pada sisi luar dan

dengan demikian memaksimalkan jembatan hidrogen dengan air. Antar gugus- 32
 gugus yang polar juga dapat membentuk jembatan hidrogen (tidak hanya dengan air)
 dan berinteraksi dipol-dipol. Gugus-gugus yang bermuatan berlawanan seperti gugus
 COO^- dan NH_3^+ pada rantai samping juga dapat berinteraksi ionik. Sebaliknya, gugus-
 gugus nonpolar akan mengambil sisi di bagian dalam protein dan menjauh dari air,
 sehingga dapat memaksimalkan interaksi gaya dispersi London. Di samping berbagai
 interaksi antar gugus R di atas, dapat juga terbentuk ikatan kovalen antar gugus R
 yang mengandung sulfur. Pembentukan jembatan disulfida merupakan satu-satunya
 ikatan kovalen yang dapat terbentuk antar gugus R (**Gambar 24**). Keseluruhan
 interaksi dan jembatan disulfida membantu menstabilkan molekul protein.

4.3.4 Struktur kuartener

Pada kebanyakan protein, bentuk fungsional protein tidak hanya terdiri dari rantai
 peptida tunggal tapi merupakan agregat beberapa polipeptida. Agregat dari dua atau
 lebih rantai polipeptida disebut struktur kuartener. Ikatan yang menstabilkan struktur
 kuartener dapat berupa jembatan hidrogen, ikatan elektrostatik, dan interaksi
 hidrofobik. Sebagai contoh adalah protein hemoglobin yang merupakan agregat dua
 rantai peptida α -heliks dan dua rantai peptida β - (**Gambar 18**). Hanya jika keempat
 rantai peptida ini bergabung maka protein hemoglobin tersebut dapat berfungsi.

Sebagai rangkuman, **Gambar 25** di bawah ini memperlihatkan keempat tingkatan
 struktur protein.

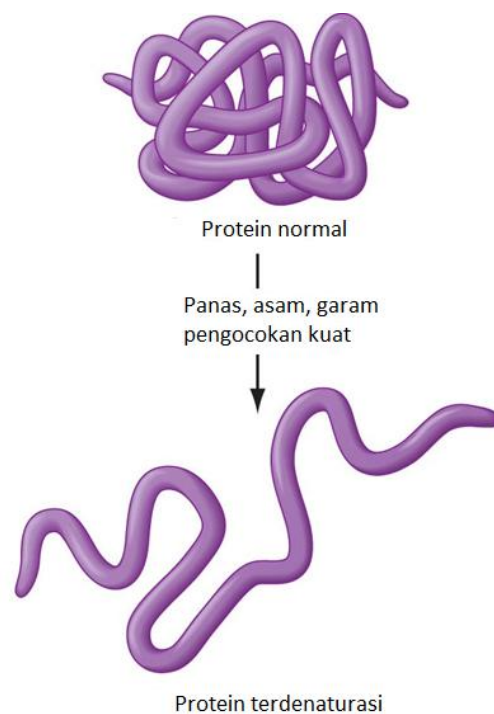


Gambar 25 Keempat tingkatan struktur dalam protein: struktur primer, sekunder, tertier, dan kuartener.

Aktifitas biologis protein bergantung pada struktur tiga dimensi protein yang meliputi keempat tingkatan struktur protein (**Gambar 25**). Berbagai ikatan intramolekuler seperti ikatan hidrogen dan interaksi ionik baik dalam struktur sekunder, tertier, dan kuartener turut menstabilkan struktur protein untuk menjalankan fungsinya.

Karenanya, rusaknya struktur protein akan mengakibatkan hilangnya aktifitas biologis protein.

Denaturasi protein adalah perubahan bentuk tiga dimensi protein karena rusaknya struktur sekunder, tertier, dan kuartener dalam protein (**Gambar 26**). Denaturasi protein tidak merusak struktur primer atau ikatan kovalen dalam protein.



Gambar 26 Denaturasi protein. Rusaknya struktur protein secara irrevesibel tanpa memecah rantai peptida protein.

Hal-hal yang dapat menyebabkan denaturasi protein:

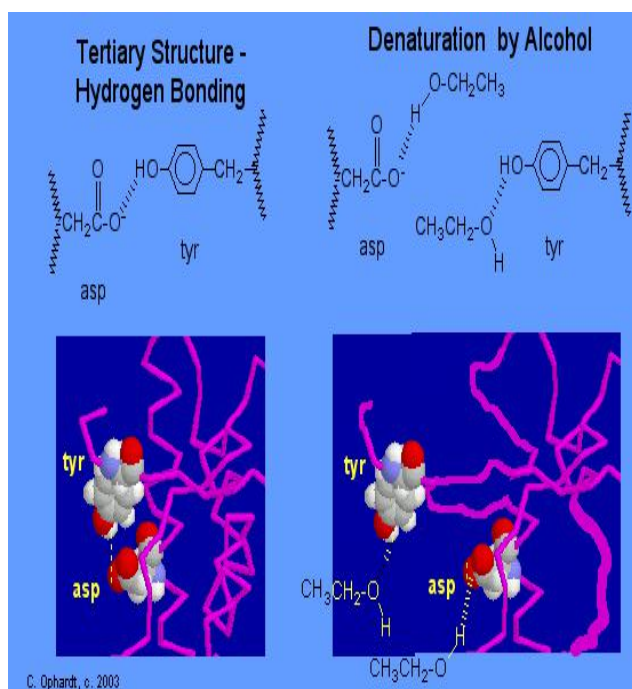
- a. Panas dan radiasi sinar ultraviolet

Pemberian energi memutuskan ikatan hidrogen dan menyebabkan penggumpalan protein.

Pemberian urea merusak ikatan hidrogen yang terjadi antar gugus R karena urea membentuk ikatan hidrogen lebih kuat dengan gugus R.

c. Pelarut organik

Etanol dapat membentuk ikatan intramolekuler dengan protein sehingga ikatan hidrogen intramolekuler protein akan terputus (**Gambar 27**).



Gambar 27 Denaturasi protein dengan memutus jembatan hidrogen dalam struktur tertier. Dapat terjadi karena penambahan alkohol, urea dan penambahan detergen.⁵

d. Asam dan basa kuat

Asam dan basa kuat merusak jembatan garam yang terbentuk dari interaksi ionik antar gugus R yang muatan listrik berlawanan. Dalam hal ini, asam dan basa yang ditambahkan menetralkan ion positif dan negatif dalam gugus R (**Gambar 28**).

Apabila dibiarkan cukup lama, ikatan peptida akan terhidrolisis.

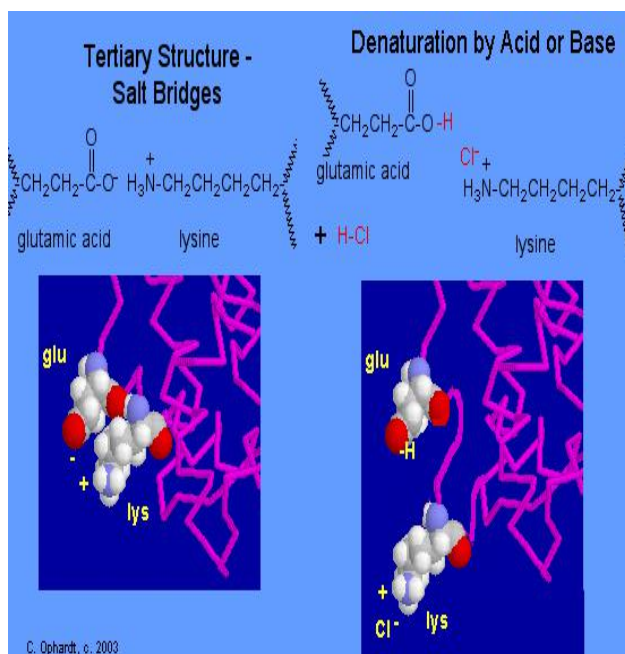
e. Detergen

Dapat memutuskan ikatan hidrogen dari protein.

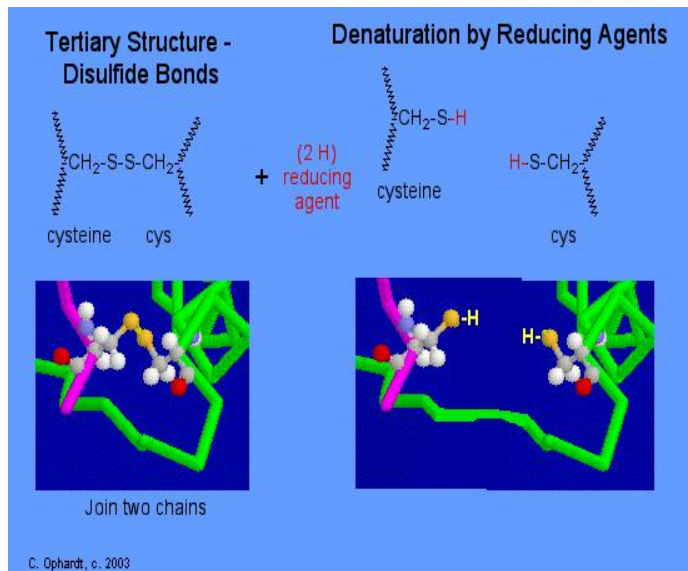
Garam-garam dari logam berat seperti Hg^{2+} , Ag^+ , dan Pb^{2+} dapat berikatan dengan gugus tiol ($-\text{SH}$) dalam protein. Disamping itu, ion-ion logam berat dapat membentuk ikatan yang sangat kuat dengan gugus $-\text{COO}^-$ dari asam aspartat dan asam glutamat. Ini akan merusak ikatan ion protein dan protein akan mengendap.

g. Pengocokan kuat

Pengocokan kuat akan menyebabkan terbentuknya lapisan tipis pada protein yang terdenaturasi.



Gambar 28 Denaturasi protein karena pemutusan jembatan garam dalam struktur tersier. ⁵



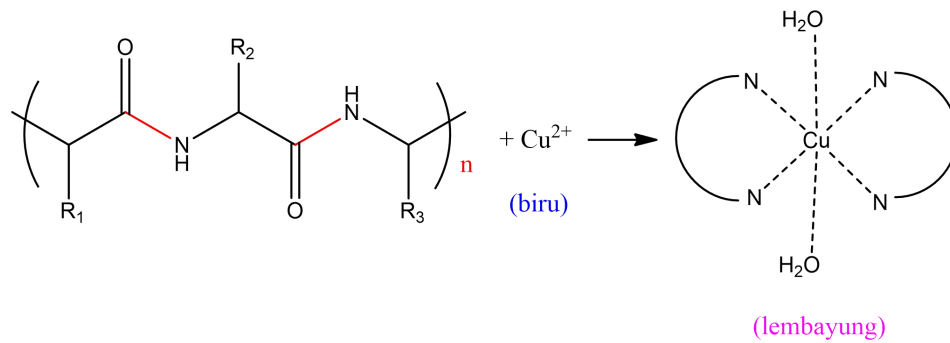
Gambar 29 Denaturasi protein karena pemutusan jembatan disulfida. Jembatan disulfida putus karena penambahan ion logam berat yang berperan sebagai agen pereduksi.⁵

4.4 Uji kualitatif terhadap protein

Adanya protein dalam suatu larutan dapat dideteksi melalui uji umum dan uji khusus terhadap asam-asam amino tertentu yang terdapat dalam protein. Beberapa tes kualitatif yang umum digunakan adalah sebagai berikut:

4.4.1 Uji biuret

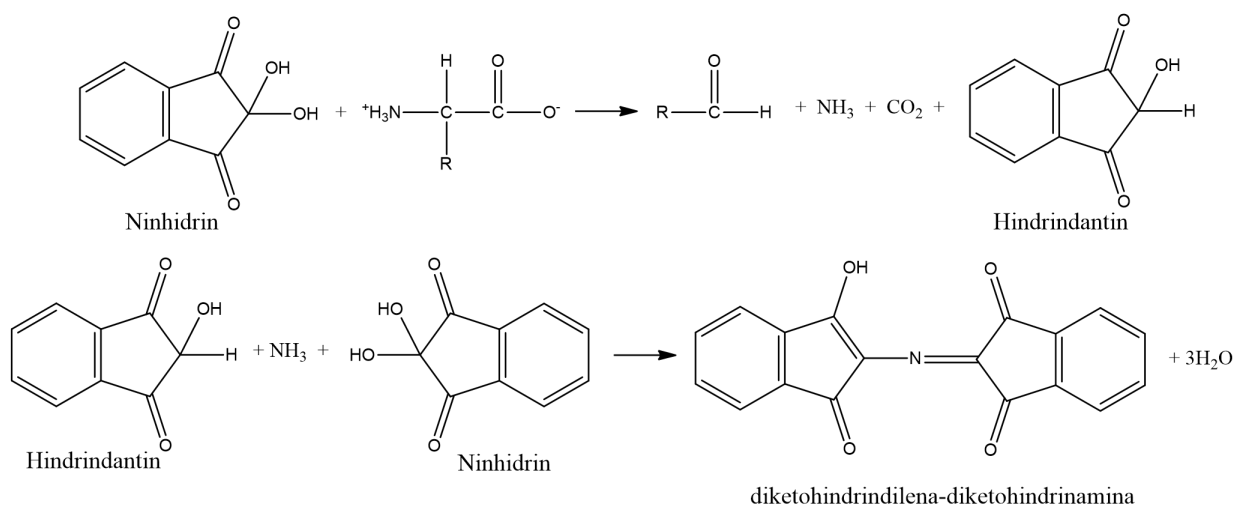
Uji umum protein dilakukan dengan uji biuret. Reagens biuret adalah tembaga (II) sulfat dalam larutan basa kuat. Dalam uji ini, reagens biuret bereaksi dengan ikatan-ikatan peptida dalam protein membentuk kompleks biuret. Ion Cu²⁺ dalam CuSO₄ membentuk ikatan koordinasi dengan 4 atom nitrogen yang terdapat dalam ikatan peptida (**Gambar 30**). Karenanya, uji biuret akan positif jika terdapat dua atau lebih ikatan peptida. Reaksi terjadi dalam suasana basa (pH > 7). Uji positif ditandai dengan perubahan warna dari biru menjadi lembayung. Intensitas perubahan warna bergantung kepada jumlah ikatan peptida dalam sampel. Semakin banyak ikatan peptida akan dihasilkan warna lembayung yang semakin pekat.



Gambar 30 Uji umum protein dilakukan dengan uji biuret, yaitu pembentukan ikatan koordinasi antara Cu^{2+} dan atom-atom N dalam ikatan peptida.

4.4.2 Uji ninhidrin

Tes ninhidrin merupakan tes yang sangat sensitif untuk asam amino. Prinsip reaksi dalam tes ini adalah degradasi asam-asam amino oleh reagens ninhidrin (triketohidriden hidrat) menjadi aldehid, ammonia, dan CO_2 melalui beberapa seri reaksi (**Gambar 31**). Produk dari molekul ninhidrin yaitu molekul hidrindantin akan bereaksi dengan ammonia (NH_3) dan kelebihan ninhidrin membentuk pigmen berwarna biru atau ungu, yang juga disebut ungu Ruhemann. Asam amino prolin dan hidroksiprolin juga bereaksi positif dengan reagens ninhidrin namun uji positif ditandai dengan terbentuknya larutan kompleks berwarna kuning. Selain dengan asam-asam amino, molekul yang lebih kompleks seperti peptida, pepton, dan protein juga menghasilkan uji positif terhadap ninhidrin.

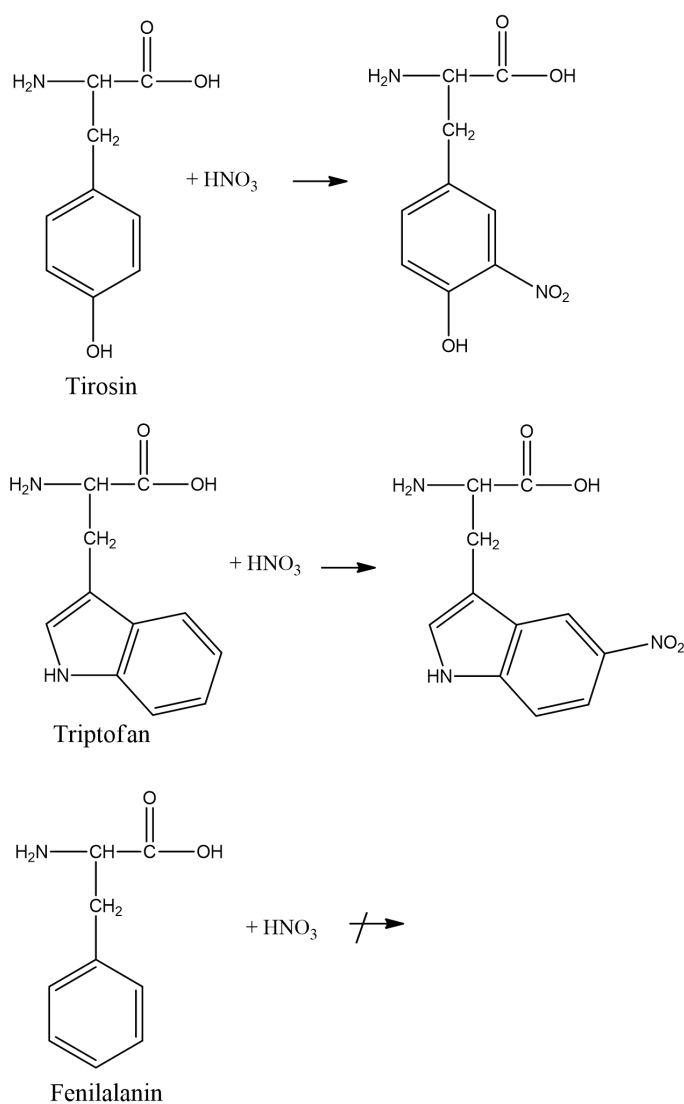


Gambar 31 Dalam uji ninhidrin terjadi degradasi asam amino melalui reaksi deaminasi, dekarboksilasi, dan oksidasi sisa rantai alkana menjadi aldehid. Hasil reaksi reduksi dari

ninhidrin yaitu hindrindantin membentuk diketohindrindilena-diketohindrinamina (ungu) 38 dengan gas NH_3 dan ninhidrin berlebih.

4.4.3 Uji xantoprotein

Uji ini bertujuan untuk membedakan antara asam-asam amino aromatik dengan yang tidak mempunyai cincin aromatik. Prinsip reaksi dalam uji ini adalah nitration cincin aromatik menggunakan asam nitrat pekat menghasilkan senyawaan berwarna kuning. Asam amino tirosin dan triptofan mengandung gugus aromatik yang aktif sehingga dapat dengan mudah dinitrasi (**Gambar 32**). Berbeda dengan gugus benzen dalam fenilalanin yang bersifat tidak aktif sehingga menyebabkan sulit dinitrasi dengan asam nitrat. Karenanya, fenilalanin bereaksi negatif terhadap uji xantoprotein.



Gambar 32 Prinsip uji xantoprotein adalah nitration inti benzen yang aktif menggunakan asam nitrat pekat (HNO_3).

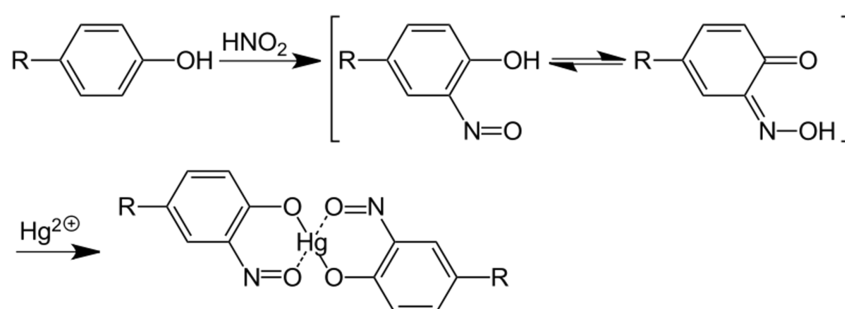
4.4.4 Uji Hopkins-Cole

39

Uji ini spesifik untuk triptofan yang merupakan satu-satunya asam amino yang mengandung gugus indol. Dalam uji ini digunakan asam glioksilat dan asam sulfat pekat. Penambahan asam sulfat pekat bertujuan untuk menghidrolisis larutan protein untuk membebaskan asam amino triptofan. Asam amino triptofan dapat bereaksi dengan asam glioksilat menghasilkan senyawaan yang mengandung produk siklik berwarna **lembayung**.

4.4.5 Uji Millon

Uji ini spesifik untuk asam amino tirosin yaitu satu-satunya asam amino yang mengandung gugus fenol. Reagens Millon mengandung mercury dan asam nitrat (HNO_3) yang sangat korosif dan menyebabkan luka bakar. Gugus fenol dalam tirosin dinitrasi oleh asam nitrat. Tirosin ternitrat kemudian membentuk kompleks dengan mercury (Hg^{2+}) membentuk larutan senyawaan kompleks berwarna merah bata . Perlu diperhatikan bahwa semua senyawaan yang mengandung gugus fenol akan memberi hasil yang positif dengan reagens Millon.



Gambar 33 Prinsip uji Millon adalah nitrasi gugus fenol diikuti dengan pembentukan senyawaan kompleks dengan ion Hg^{2+} .

4.5 Ringkasan protein

Protein merupakan polimer kondensasi asam-asam α -L-amino. Satuan monomer yaitu asam-asam amino dalam protein terikat secara kovalen melalui ikatan peptida. Gugus R pada asam-asam amino tersebut menentukan sifat keseluruhan protein. Dengan adanya gugus R yang bersifat asam dan basa, protein merupakan makromolekul bersifat amfoter dan mempunyai pI.

Protein merupakan makromolekul yang sangat kompleks. Karenanya penggolongan⁴⁰ protein tidak dapat hanya didasarkan pada struktur dan komposisi penyusun protein, tetapi juga berdasar bentuk molekul, dan fungsi biologis protein. Berbagai protein dapat menjalankan fungsinya hanya apabila berkonyugasi dengan gugus kimia lain (gugus prostetik). Contohnya lipoprotein, glikoprotein, hemoprotein, dan lain-lain. Karena kemampuan protein berkonyugasi dengan berbagai gugus prostetik, protein dapat mengemban berbagai peran, seperti sebagai enzim, protein transport, protein penyimpan, protein kontraktil, dan lain-lain.

Berdasar bentuknya, protein digolongkan menjadi protein globular dan protein serabut. Karena sifatnya yang larut dalam media cair, kebanyakan protein yang berfungsi sebagai protein transport dan enzim berbentuk protein globular. Sedangkan protein serabut yang tidak larut dalam air berfungsi sebagai protein penunjang dan pembentuk struktur.

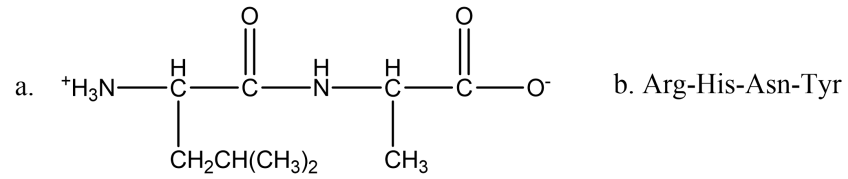
Keragaman sifat dan fungsi protein ditentukan tidak hanya oleh urutan dan jumlah asam-asam amino pembentuknya, tetapi juga oleh bentuk protein. Bentuk protein distabilkan oleh empat tingkatan struktur protein. Urutan asam-asam amino dalam protein disebut struktur primer. Struktur sekunder protein distabilkan oleh jembatan hidrogen antara atom H gugus amino dan atom O gugus karboksil. Terdapat dua kemungkinan konformasi yang dihasilkan yaitu konformasi α -heliks dan konformasi lembaran β . Struktur tersier distabilkan oleh interaksi yang terjadi antar gugus R, seperti jembatan H, interaksi hidrofobik, dan interaksi ionik. Satu-satunya ikatan kovalen yang menstabilkan struktur tertier adalah jembatan disulfida. Sementara struktur kuartener merupakan agregasi 2 atau 4 rantai peptida. Rusaknya struktur protein (denaturasi) mengakibatkan hilangnya aktivitas yang diemban protein tersebut.

Adanya protein dalam suatu larutan dideteksi melalui uji umum dan uji khusus. Uji umum terhadap protein dilakukan dengan uji biuret yang menghasilkan uji positif jika terdapat dua atau lebih ikatan peptida dalam suatu sampel. Uji khusus dilakukan melalui reaksi spesifik terhadap asam amino dalam protein. Uji yang paling sensitif terhadap asam α -amino adalah uji ninhidrin. Sementara uji xantoprotein positif terhadap asam amino yang mengandung gugus aromatik yang aktif (tirosin dan triptofan), uji Hopkins-Cole spesifik bagi cincin indol pada triptofan, dan uji Millon spesifik untuk asam amino yang mengandung gugus fenol (tirosin).

4.6 Soal-soal latihan peptida dan protein

41

1. Lingkari dan gambarkan struktur bagian N-terminal dan C-terminal pada peptida berikut:



2. Gambarkan struktur dipeptida berikut:

a. Gly-Phe

b. Gln-Ile

3. Mengapa hemoglobin lebih larut dalam air dibandingkan dengan α -keratin?

4. Apakah perbedaan antara struktur primer dan struktur sekunder protein?

5. Jenis interaksi apa yang dapat terjadi antara pasangan asam amino berikut?

a. Lys dan Glu

b. Arg dan Asp

c. Ile dan Val

42

d. Thr dan Phe

6. Tuliskan empat asam amino yang mungkin terdapat pada bagian dalam protein globular!

7. Tuliskan struktur treonin dan tirosin dan perlihatkan bagaimana jembatan hidrogen dapat terjadi antar kedua asam amino ini

References

- (1) Nelson, D. L.; Cox, M. M. Lehninger PRINCIPLES OF BIOCHEMISTRY. **2008**.
- (2) Kotz, J. C.; Treichel, P. M.; Weaver, G. C. Chemistry and chemical reactivity. *Thomson Brooks Cole* **2006**, *6th edition*.
- (3) Suwandi, M.; Wibisono, L. K.; Sugianto, B.; Rahman, A.; Kotong, H. Kimia Organik Karbohidrat Lipid Protein. **1989**.
- (4) Smith, J. G. General, organic, and biological chemistry. **2010**.
- (5) Ophardt, C. E. Denaturation of Proteins. *Virtual Chembook* **2003**.