

## V. BIOENERGETIK MIKROBA

Bioenergetik mikroba mempelajari penghasilan dan penggunaan energi oleh mikroba. Mikroba melakukan proses metabolisme yang merupakan serangkaian reaksi kimia yang luar biasa banyaknya. Proses ini terdiri atas katabolisme yang merupakan proses perombakan bahan disertai pembebasan energi (reaksi eksergonik), dan anabolisme yaitu merupakan proses biosintesis yang memerlukan energi (reaksi endergonik).

### A. BIOOKSIDASI DAN PEMINDAHAN ENERGI

Energi yang berasal dari cahaya harus diubah menjadi energi kimia sebelum digunakan dalam reaksi endergonik. Dalam sel, energi kimia terdapat dalam bentuk gugus organik berenergi tinggi. Gugus ini mengandung S atau P.

Adenosin trifosfat (ATP) salah satu gugus berenergi tinggi yang terpenting. Bila kedua gugus fosfatnya dihidrolisis masing-masing menghasilkan 12000 kal/fosfat, sedang fosfat yang ketiga hanya menghasilkan 1500 kal. Energi yang dibebaskan ATP tergantung pada keadaan hidrolisisnya, terutama pH dan kadar reaktan.

Meskipun ATP mengandung 2 fosfat berenergi tinggi, dalam reaksi umumnya hanya satu fosfat berenergi tinggi digunakan untuk aktivasi.

Oksidasi dalam sel dikatalisis oleh enzim yang mempunyai kofaktor atau gugus prostetis penerima proton atau elektron dari substrat dan memberikannya kepada asektor lewat perantara yang mempunyai potensial redoks ( $E_o'$ ) lebih tinggi dari pada donornya. Pembawa elektron yang terpenting adalah NAD, FMN, dan sitokrom.

#### 1. Nikotinamid adenin dinukleotid (NAD)

NAD berfungsi menerima hidrogen dari substrat yang direduksi

#### 2. Flavin adenin mononukleotida (FMN) dan flavin adenin dinukleotida (FAD)

Senyawa ini menerima hidrogen dari  $NADH_2$  atau langsung dari substrat.

#### 3. Sitokrom (Cyt a, b, c)

Setiap sitokrom mempunyai  $E_o'$  yang berbeda-beda, tetapi semuanya mengandung haem sebagai gugus prostetisnya dengan Fe sebagai asektor elektron. Oksigen bereaksi dengan elektron menjadi ion  $O^-$  dan dengan ion  $H^+$  membentuk  $H_2O$ .

Hubungan antara perubahan energi bebas dengan perubahan perbedaan energi potensial yang terjadi bila elektron lewat suatu sistem sbb:

$$F_o = -nF\Delta E_o$$

$F_o$  = perubahan energi bebas (kal/mol) pada keadaan standar

$n$  = jumlah elektron yang lewat

$E_o$  = perbedaan potensial (volt)

$F$  = konstanta Farady (23.063 kal/volt ekuvalen)

Untuk sistem biologi,  $n$  biasanya 2 dan  $F_o$  diganti  $F'$  karena tidak pada keadaan standar, sehingga:

$$F' = -46.126 \times \Delta E_o'$$

Bila beda potensial suatu sistem sebelum dan sesudah oksidasi diketahui, dari persamaan diatas dapat dihitung jumlah energi yang dibebaskan selama oksidasi. Misalnya bila elektron lewat  $NADH_2$  ke  $O_2$ ,  $\Delta E_o' = 1,14$  volt, maka  $\Delta F' = -52.000$  kal. Teoritis reaksi ini menghasilkan 4 fosfat berenergi tinggi. Bila reaksi ini dipelajari dengan mitokondria yang diisolasi dari mamalia, khamir dan jamur, ternyata oksidasi tersebut hanya menghasilkan 3 ATP dari setiap atom oksigen yang digunakan. Jadi efisiensinya hanya 70%.

Energi dibebaskan bila elektron dari substrat pada  $E_o'$  dari ketoglutarat lewat NAD dan sistem sitokrom ke oksigen. Selama proses tersebut terbentuk sejumlah P dalam mitokondria. Terlihat bahwa tidak semua energi yang dibebaskan diubah menjadi gugus fosfat berenergi tinggi. Sebagian energi diubah menjadi panas.

Tidak semua mikrobia mempunyai enzim transpor elektron lengkap. *Lactobacillus* dan *Clostridium* tidak mempunyai sitokrom meskipun mempunyai enzim dengan piridin nukleotida dan gugus prostetis flavo protein. *Lactobacillus* mempunyai flavoprotein-oksidasase yang dapat menggunakan  $O_2$  sebagai aseptor elektron terakhir; tetapi dengan adanya  $O_2$ , dibentuk  $H_2O_2$  bukan  $H_2O$ . Beberapa spesies *Streptococcus*, *Acetobacter*, dan khamir mempunyai enzim peroksidase (katalase) yang mereoksidasi substrat tereduksi (misalnya Cyt C tereduksi, atau NAD tereduksi) dengan adanya peroksidase dan ion  $H^+$ . Hasil reaksinya substrat yang teroksidasi dan air.

Suatu reaksi oksidasi-reduksi disebut fermentasi (respirasi anaerob) apabila sebagai aseptor elektron yang terakhir bukan oksigen, dan disebut respirasi (respirasi aerob) apabila aseptor elektron terakhirnya oksigen. Pada respirasi anaerob sebagai

aseptor elektronnya dapat digunakan zat anorganik seperti  $\text{NO}_3^-$  yang direduksi menjadi  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{N}_2\text{O}$ ,  $\text{N}_2$ ;  $\text{SO}_4^{2-}$  menjadi  $\text{H}_2\text{S}$ ;  $\text{CO}_2$  menjadi  $\text{CH}_4$ . Sebagai aseptor dapat pula digunakan zat organik, seperti asam fumarat yang direduksi menjadi asam suksinat.

Jasad anaerob dan anaerob fakultatif yang ditumbuhkan secara anaerob mempunyai cara lain mereoksidasi pembawa hidrogen yang tereduksi. Hal ini sering dilakukan dengan mengimbangi reaksi oksidasi substrat dengan reaksi reduksi lain, sehingga terakumulasi hasil akhir yang tereduksi. Misalnya *Lactobacillus* dalam glikolisis mereduksi asam piruvat menjadi asam laktat (lihat gambar). Beberapa *Clostridium* secara anaerob memfermentasi glukosa mereoksidasi pembawa hidrogen yang tereduksi dengan reduksi aseto-asetat (sebagai kompleks koensim A) menjadi asam butirat dan butanol. Khamir mereduksi asetaldehid menjadi alkohol. Beberapa bakteri enterik mereduksi asam dikarboksilat, oksalat, malat, dan fumarat menjadi suksinat; sedang aseton direduksi menjadi 2,3 butylene-glycol agar dapat mengoksidasi flavin dan nikotinamid yang tereduksi. Beberapa spesies *Pseudomonas* dan *Thiobacillus* dapat menggunakan nitrat sebagai aseptor elektron; mereduksi nitrat menjadi gas  $\text{N}_2$ . Banyak spesies bakteri dan jamur dapat mereduksi nitrat menjadi nitrit. Beberapa bakteri dapat mereduksi sulfat menjadi sulfit sebagai sarana untuk mereoksidasi pembawa hidrogen.

Jadi mikrobia terutama bakteri dapat mereoksidasi pembawa hidrogen tanpa adanya oksigen. Beberapa diantaranya telah dimanfaatkan secara komersial, misalnya untuk fermentasi asam laktat dan alkohol.

Pembentukan ATP pada reaksi fosforilasi terhadap ADP pada prinsipnya ada tiga tingkat, yaitu: (1) fosforilasi pada tingkat substrat (fermentatif), (2) fosforilasi tingkat transpor elektron (oksidatif pada respirasi), dan (3) fosforilasi fotosintetik.

## **B. FERMENTASI**

Glukosa dapat dimetabolisme oleh hampir semua jasad untuk sumber karbon dan energi. Fermentasi merupakan bagian perombakan gula secara anaerob. Banyak jasad yang dapat melakukan fermentasi lewat (jalur) rangkaian reaksi kimia tertentu. Macam jalur reaksi dapat dijelaskan sebagai berikut:

### **1. Jalur Emden-Meyerhof-Parnas (EMP)**

Reaksi ini disebut glikolisis, pemecahan gula secara anaerob sampai asam piruvat yang dilakukan oleh kebanyakan jasad dari tingkat tinggi hingga tingkat rendah. Reaksi glikolisis terjadi dalam sitoplasma dan tidak menggunakan oksigen sebagai aseptor elektronnya, melainkan zat lain. Asam piruvat mempunyai kedudukan yang penting karena merupakan titik pusat dari berbagai reaksi pemecahan maupun pembentukan. Jasad yang fakultatif anaerob misalnya *Saccharomyces cerevisiae* melakukan fermentasi gula secara anaerob menjadi alkohol dan CO<sub>2</sub>. *Lactobacillus* spp. yang homo fermentatif merombak gula secara anaerob menjadi asam laktat. Jasad yang obligat anaerob seperti *Clostridium* spp. memecah gula menjadi aseton, butanol, butirat, dsb. Jasad aerob melakukan proses glikolisis sebagai bagian pertama dari pemecahan karbohidrat secara anaerob, yang akan diteruskan pada bagian kedua yang aerob. Pada otot manusia dan binatang yang kurang gerak akan tertimbun asam laktat, sebab glikolisis tidak diteruskan ke tingkat aerob melainkan ke asam laktat.

Jasad yang melakukan fermentasi lewat glikolisis hanya menghasilkan 2 mol ATP dari setiap glukosa yang dimetabolisme.

### **2. Jalur Entner-Doudoroff (ED)**

Reaksi ini dilakukan oleh beberapa jasad antara lain *Pseudomonas* spp. yang dapat membentuk alkohol dari gula lewat bagan ini. Pada setiap pemecahan 1 mol glukosa dihasilkan juga 1 ATP, 1 NADH<sub>2</sub> dan 1 NADPH<sub>2</sub>. Pada *P. lindneri* 2 asam piruvat dipecah menjadi 2 etanol dan 2 CO<sub>2</sub>; sedang pada *Pseudomonas* yang lain 2 asam piruvat diubah menjadi 1 etanol, 1 asam laktat dan 1 CO<sub>2</sub>.

### **3. Jalur Heksosa Mono Fosfat (HMP)**

Selain lewat EMP banyak jasad yang dapat merombak gula lewat HMP. Reaksi ini berguna untuk membentuk gula pentosa dll, untuk keperluan biosintesis. Reaksi berlangsung lewat gula C<sub>5</sub>, ribulosa 5-fosfat, yang merupakan prekursor gula ribosa, deoksiribosa, komponen asam nukleat, asam amino aromatik, ensim, ATP, NAD, FAD dan sebagainya. HMP tidak langsung menghasilkan energi, tetapi terutama membentuk NADPH<sub>2</sub>.

#### **4. Jalur Heterofermentatif bakteri asam laktat**

Kelompok bakteri asam laktat selain menghasilkan asam laktat secara homofermentatif (misalnya *Lactobacillus* spp.), juga secara heterofermentatif (misalnya *Leuconostoc* spp., *Streptococcus* spp., dsb). Pada fermentasi secara heterofermentatif selain asam laktat dihasilkan pula asam asetat, etanol dan CO<sub>2</sub>.

#### **5. Jalur Metabolisme asam piruvat secara anaerob**

Banyak jasad anaerob yang mempunyai enzim berbeda-beda yang digunakan dalam perombakan asam piruvat. *Clostridium* tergantung spesiesnya, dapat merubah asam piruvat menjadi asam butirat, asam asetat, aseton, butanol, etanol, CO<sub>2</sub>, dan H<sub>2</sub>. Bakteri enterik seperti *Escherichia coli* dan *Aerobacter aerogenes* dapat merubah asam piruvat menjadi asam suksinat, asetat, laktat, etanol, CO<sub>2</sub>, dan H<sub>2</sub> (atau format). *A. aerogenes* juga menghasilkan 2,3-butilen-glikol. *Salmonella* sp. mempunyai pola metabolisme yang sama dengan *E. coli*, tetapi lebih banyak menghasilkan asam format, dari pada H<sub>2</sub> dan CO<sub>2</sub> seperti pada *E. coli*.

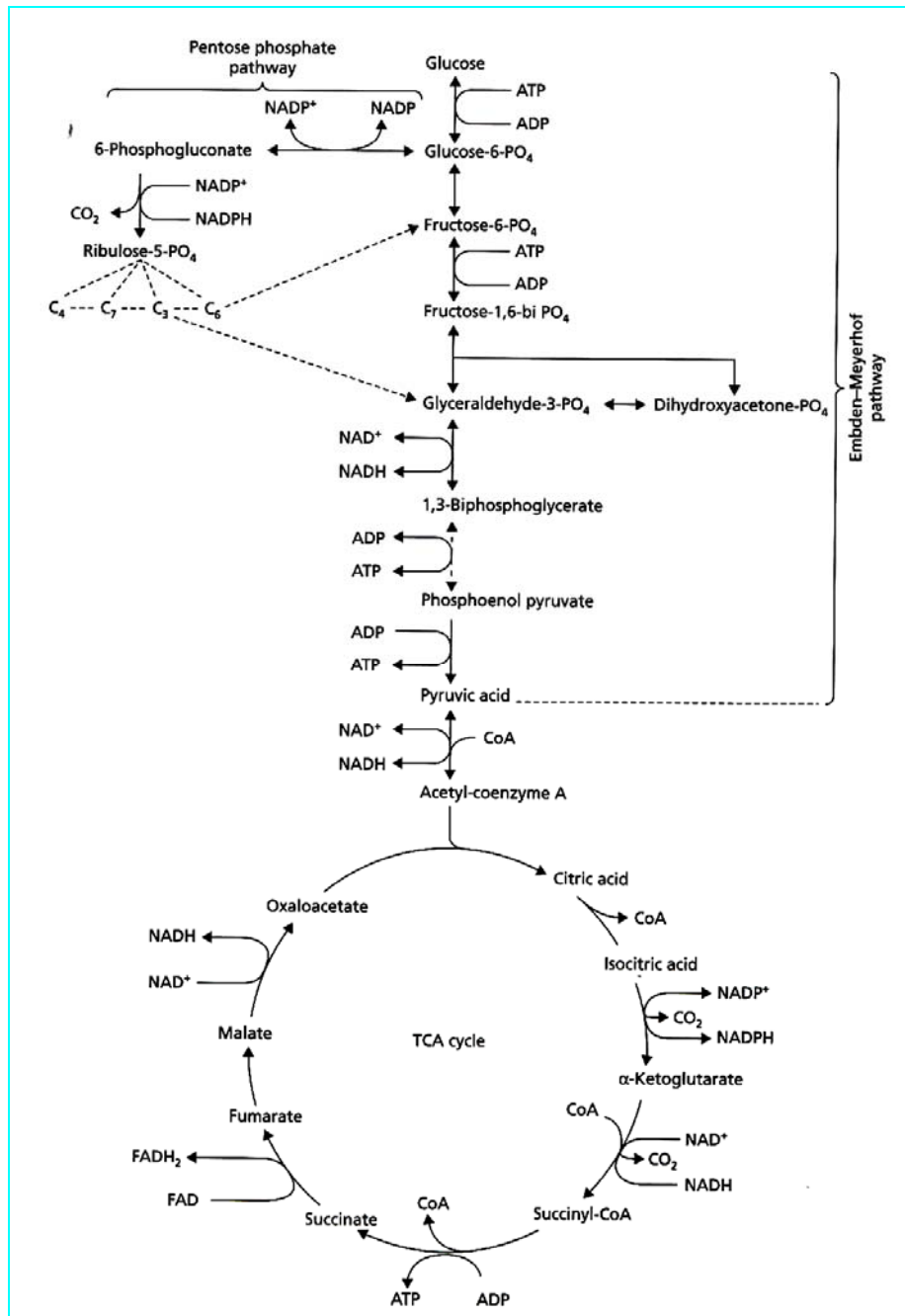
### **C. RESPIRASI**

Respirasi adalah proses oksidasi biologis dengan O<sub>2</sub> sebagai aseptor elektronnya yang terakhir. Pada jasad eukariotik proses ini terjadi di dalam mitokondria, sedang pada jasad prokariotik terjadi di bawah membran plasma atau pada mesosome. Proses ini adalah fase kedua yang aerob dari perombakan gula fase pertama yang anaerob (glikolisis). Pada respirasi dihasilkan banyak energi yang dapat digunakan untuk proses biosintesis. Reaksi ini lewat bagan terutama siklus Krebs, meskipun ada yang lewat terobosan asam glioksilat.

#### **1. Siklus Krebs (Siklus TCA)**

Reaksi ini selain penting untuk pembentukan energi juga penting untuk biosintesis, sebab dapat menyediakan kerangka karbon untuk berbagai senyawa penting dalam sel. Pada kebanyakan bakteri, asam glutamat adalah asam amino kunci yang dibentuk dari sumber amonia dan karbon. Banyak pula bakteri yang dapat mereaksikan amonia dengan asam fumarat membentuk aspartat. Dengan transaminasi asam amino ini berfungsi sebagai donor amino terhadap asam alfa-keto seperti asam piruvat, oksalat, alfa-keto-isovalerat untuk membentuk asam amino. Titik penting

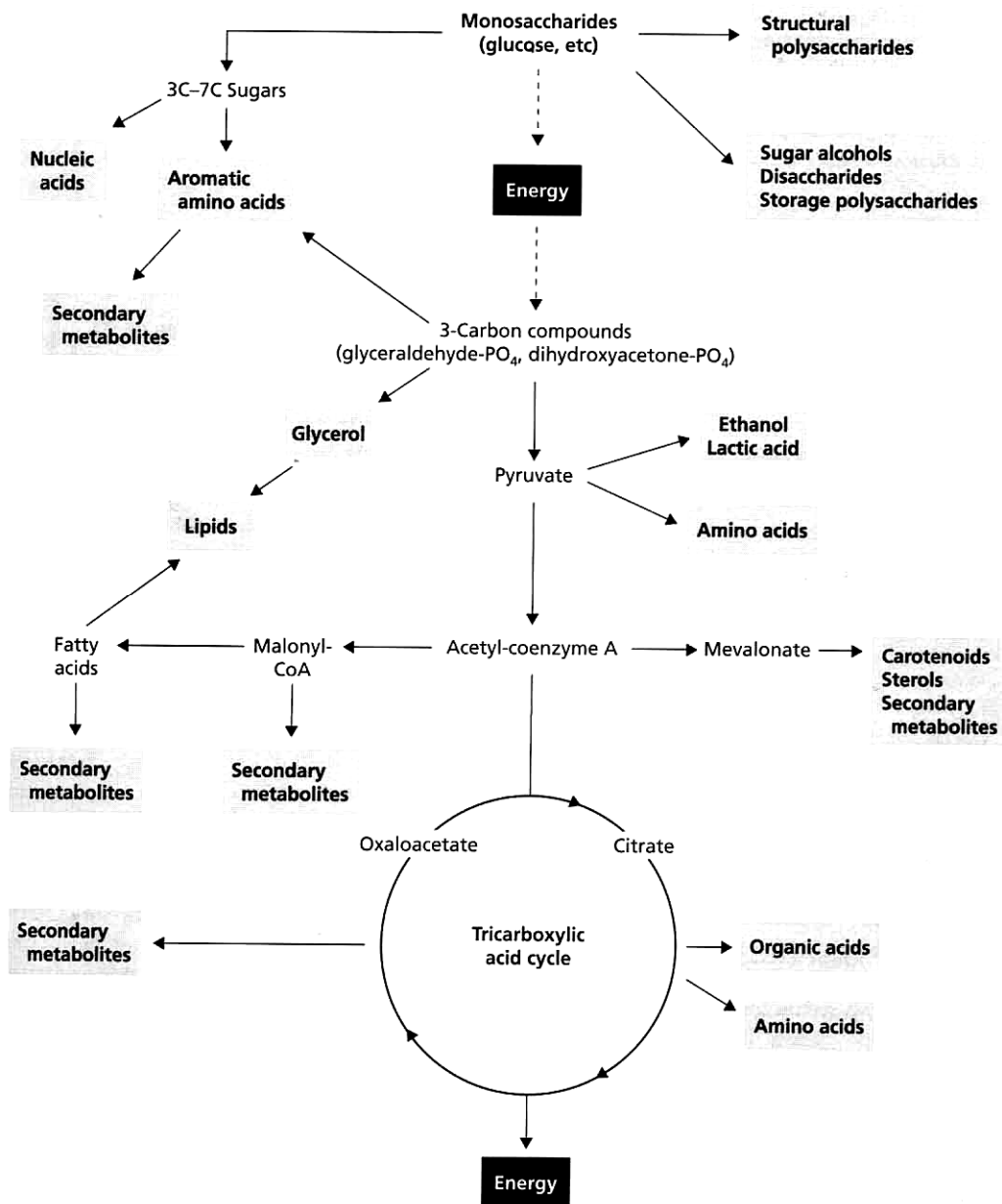
lainnya ialah suksinil-ScoA yang bereaksi dengan asam pirol, membentuk cincin pirol. Siklus Krebs sering pula disebut siklus asam tribakboksilat (siklus TCA), atau siklus asam sitrat.



Jalur metabolisme utama

Pada siklus Krebs satu molekul asam piruvat yang dioksidasi sempurna menjadi  $\text{CO}_2$  dan  $\text{H}_2\text{O}$  menghasilkan 15 ATP. Satu molekul glukosa yang dimetabolisme lewat glikolisis dan siklus Krebs secara sempurna menjadi  $\text{CO}_2$  dan  $\text{H}_2\text{O}$  menghasilkan 38 ATP (lihat perhitungan).

## 2. Siklus asam gliksilat



Penggunaan hasil antara untuk biosintesis

Bakteri dan jamur tertentu dapat menggunakan substrat karbon C<sub>2</sub>. Jasad ini mempunyai enzim lengkap dari siklus Krebs dengan tambahan enzim isositrase yang dapat memecah isositrat menjadi suksinat dan glioksilat, dan enzim malat sintetase yang menyebabkan kondensasi asam glioksilat dengan Ace-CoA menjadi malat. Dengan kedua siklus ini sel dapat membentuk alfa-ketoglutarat yang diperlukan untuk biosintesis. Dan jika asam malat mengalami dekarboksilasi menjadi fosfo-enol-piruvat, dengan reaksi balik glikolisis dan HMP dapat dibentuk heksosa dan pentosa.

#### D. FOTOSINTESIS

Fosforilasi pada fotosintesis menggunakan cahaya sebagai sumber energi. Proses ini menggunakan pigmen klorofil untuk mengabsorpsi energi cahaya dan mengubahnya menjadi energi kimia. Berdasarkan absorpsi spektrumnya dibedakan klorofil a, b, c, d, e, dan klorofil bakteri. Disamping itu ada pigmen tambahan untuk menangkap energi dan melindungi klorofil, seperti karotinoid, biliprotein, fikoeritrin, dan fikobilin.

Energi foton cahaya:

$$E = h\nu = h \frac{c}{\lambda}$$

h = konstanta Plank = 6,555 x 10<sup>-23</sup>

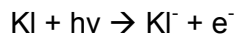
v = frekuensi cahaya

c = kecepatan cahaya

λ = panjang gelombang cahaya

jadi energi cahaya sebanding dengan frekuensinya dan berbanding terbalik dengan panjang gelombang. Energi macam-macam cahaya dapat dilihat pada tabel.

Jika klorofil terkena cahaya, akan mengabsorpsi sebesar h sehingga terangsang dan membebaskan elektron; klorofil menjadi bermuatan positif:



Elektron yang lepas akan bergerak lewat sistem transpor elektron dan kembali ke pusat reaksi klorofil. Dalam perjalanannya elektron mengalami penurunan energi, yang diubah menjadi energi kimia, yaitu untuk fosforilasi ADP dan reduksi NADP.

Pada bakteri fotofosforilasi terjadi secara siklis. Artinya tidak menggunakan elektron dari sumber lain. Cahaya yang digunakan adalah merah atau infra merah (lihat bagan).

Pada tumbuhan dan ganggang fotofosforilasi terjadi secara non-siklis. Disini ada 2 pusat reaksi dan 2 sistem transpor elektron. Pusat reaksi 1 menggunakan cahaya infra merah dan pusat reaksi 2 cahaya biru.

## **E. PENGGUNAAN ENERGI OLEH JASAD**

Energi digunakan dalam setiap reaksi endergonik, dan juga reaksi eksergonik. Untuk memulai reaksi diperlukan energi aktivasi. Dalam setiap reaksi enzim mempunyai peranan penting. Proses yang memerlukan energi antara lain proses biosintesis molekul kecil dan molekul makro, yang akhirnya menuju ke pertumbuhan dan pembiakan; penyerapan unsur makanan, gerak, dan sebagainya.

## **F. KATABOLISME MAKROMOLEKUL**

### **1. Peruraian karbohidrat**

Karbohidrat adalah polisakarida, suatu polimer dari sedehana (glukosa, galaktosa, fruktosa, dsb). Contoh perombakan karbohidrat dapat dilihat pada **tabel**. Enzim pemecah polisakarida dibedakan menjadi eksohidrolase yang memutus rantai gula secara teratur dari ujung, dan endohidrolase yang memutus rantai gula secara random di tengah. Sebagai contoh misalnya alfa-amilase (eksohidrolase) memutus rantai glukosa dari amilum dua-dua mulai dari ujung non reduksi, sedang beta-amilase memutus rantai glukosa di sembarang tempat di tengah-tengah. Kedua enzim ini memutus ikatan alfa-1,4-glikosida dari amilum. Enzim yang memutus rantai cabang glukosa dari amilo-pektin, komponen amilum yang bercabang, ialah glukamilase yang memecah alfa-1,6-glikosida.

### **2. Peruraian lemak**

Lemak adalah ester dari gliserol dan asam lemak (trigliserida). Lemak kadang-kadang mengandung zat lain seperti fosfat, protein, karbohidrat sebagai pengganti salah satu asam lemaknya. Enzim lipase memecah lemak menjadi gliserol dan asam lemak. Gliserol dirombak lebih lanjut lewat glikolisis (EMP). Asam lemak mengalami

beta-oksidasi menjadi asam asetat, sebagai Ace-CoA dimetabolisme lebih lanjut lewat siklus Krebs. Bagan beta-oksidasi dapat dilihat pada gambar.

### **3. Peruraian protein**

Protein adalah poli-peptida dengan struktur tertentu, suatu hetero-polimer dari asam amino. Enzim protease (poli-peptidase, oligo-peptidase, di-peptidase) merombak protein menjadi peptida yang lebih sederhana atau asam amino. Selanjutnya asam amino mengalami transaminasi, deaminasi, dekarboksilasi, atau dehidrogenasi menjadi zat lain yang lebih sederhana yang selanjutnya dapat dimetabolisme antara lain lewat siklus Krebs.

### **4. Peruraian asam nukleat**

Asam nukleat (DNA dan RNA) adalah heteropolimer dari nukleotida. Enzim nuklease, nukleotidase, nukleosida fosforilase, dan nukleosida hidrolase akan memecah asam nukleat menjadi oligo, di, atau mono nukleotida; dan selanjutnya menjadi gula ribosa atau deoksi-ribosa, asam fosfat, base purin dan base pirimidin.