

## **Interaksi Merkuri dan Kadmium terhadap Enzim Kunci pada Glikolisis in Siliko**

**Eko Suhartono<sup>1\*</sup>, Noer Komari<sup>2</sup>, Salmon Charles Pardomuan Tua Siahaan<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Departemen Biokimia dan Biomolekuler, Fakultas Kedokteran,  
Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru

<sup>2</sup>Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,  
Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru

<sup>3</sup>Fakultas Kedokteran, Universitas Ciputra, Surabaya

\*e-mail: ekoantioxidant@gmail.com

### **Abstrak**

Glikolisis merupakan proses oksidasi glukosa yang melibatkan enzim hingga menghasilkan asam piruvat dalam kondisi aerob serta asam laktat dalam keadaan anaerob. Enzim-enzim yang terlibat di dalam glikolisis dapat berinteraksi dengan logam berat, melalui pengikatan secara kovalen terhadap residu asam amino dari enzim. Untuk membuktikan hal tersebut, digunakan metode in siliko dengan menggunakan MIB: Metal Ion-Binding site prediction dan server docking dari Lu Lab@StructuralBioinformatics, China Medical University (<http://bioinfo.cmu.edu.tw/MIB/>). Enzim-enzim kunci pada glikolisis diperoleh dari RCSB Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/search>), yakni enzim glucokinase dengan kode PDB: 3FGU, enzim heksokinase dengan kode PDB: 4IXC, dan enzim piruvat kinase dengan kode PDB: 1ZJH. Protein disiapkan dengan menghilangkan residu ligan alami yang ada dalam protein. Persiapan ligan dan protein digunakan oleh program Chimera 1.15. Hasil penelitian mengungkapkan bahwa interaksi Hg terhadap enzim glucokinase, heksokinase, dan enzim piruvat kinase lebih reaktif dibanding Cd. Pada glikolisis, Cd banyak berinteraksi dengan residu asam glutamate dan residu histidine sedangkan Hg banyak berinteraksi dengan sistein pada enzim-enzim glikolisis. Pembentukan kompleks Hg dengan residu sistein, menyebabkan Hg akan berikatan dengan gugus thiol bebas yang tersedia. Merkuri yang terikat pada gugus thiol pada residu sistein mengakibatkan fungsi residu sistein pada protein tidak berjalan dengan semestinya sehingga enzim tidak aktif dan glikolisis terganggu.

**Kata kunci:** glikolisis, heksokinase, glucokinase, piruvat kinase, logam berat

## ***Interaction of Mercury and Cadmium on Key Enzymes in Glycolysis in Silico***

### **Abstract**

Glycolysis is a glucose oxidation process that involves enzymes to produce pyruvic acid under aerobic conditions and lactic acid under anaerobic conditions. The enzymes involved in glycolysis can interact with heavy metals, by covalent binding to the amino acid residues of the enzymes. To prove this, an in silico method was used using MIB: Metal Ion-Binding site prediction and a docking server from Lu Lab@StructuralBioinformatics, China Medical University (<http://bioinfo.cmu.edu.tw/MIB/>). Key enzymes in glycolysis were obtained from the RCSB Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/search>), namely glucokinase enzyme with PDB code: 3FGU, hexokinase enzyme with PDB code: 4IXC, and pyruvate kinase enzyme with PDB code:

1ZJH. Proteins are prepared by removing the natural ligand residues present in the protein. Ligand and protein preparations were used by the Chimera 1.15 program. The results revealed that the interaction of Hg with glucokinase, hexokinase, and pyruvate kinase enzymes was more reactive than Cd. In glycolysis, Cd interacts a lot with glutamic acid residues and histidine residues, while Hg interacts with cysteine in glycolysis enzymes. The formation of the Hg complex with the cysteine residue causes the Hg to bind to the available free thiol group. Mercury bound to the thiol group on the cysteine residue causes the function of the cysteine residue on the protein to not work properly so that the enzyme is not active and glycolysis is disrupted.

**Keywords:** glycolysis, hexokinase, glucokinase, pyruvate kinase, heavy metals

## PENDAHULUAN

Merkuri (Hg) merupakan logam berat yang memiliki nomer atom 80 dan terletak pada golongan 12, periode 6 pada sistem periodik. Sementara itu, kadmium (Cd) adalah logam berat bernomer atom 48, terletak pada golongan 12, periode 5 pada system periodik. Kedua logam tersebut banyak dimanfaatkan untuk keperluan industri, misalnya merkuri digunakan untuk pembuatan temperature air raksa, bahan dasar pembuatan amalgam gigi, bahan fingsida, dan lain-lain. Kadmium juga digunakan pada industri baterai, bahan pembuatan zat warna, electroplating, dan lain sebagainya.

Selain bermanfaat, buangan industri yang mengandung Hg dan Cd dapat masuk ke dalam lingkungan. Pada konsentrasi tertentu, buangan tersebut akan berubah fungsi menjadi sumber racun bagi manusia dan lingkungan. Sifat racun Hg dan Cd bagi manusia diawali dari masuknya kedua logam tersebut melalui, air, bahan

makanan, maupun pernafasan. Selanjutnya, Hg dan Cd dimetabolisme melalui metabolisme xenobiotik. Metabolisme ini akan mengubah senyawaan Hg dan Cd yang larut lemak menjadi senyawa larut air, yang selanjutnya diekskresi melalui ginjal.

Metabolisme xenobiotik Hg dan Cd akan menghasilkan metabolit non toksik yang akan diekskresi dan metabolit yang reaktif. Metabolit reaktif dari Hg dan Cd mampu berikatan secara kovalen dengan berbagai ligan, misalnya -OH, -COO-, -OPO<sub>3</sub>H-, -C=O, -SH, -S-S-, -NH<sub>2</sub> dan -NH, yang banyak terdapat pada asam-asam amino penyusun protein maupun enzim (Suhartono et al, 2015). Ikatan Hg dan Cd dengan ligan-ligan tersebut akan menghambat aktivitas enzim glikolisis misalnya heksokinase, glucokinase, dan piruvat kinase sehingga terjadi pembentukan ATP terganggu.

Heksokinase tergolong enzim transferase dan enzim pertama dalam jalur glikolisis. Enzim ini mengubah glukosa menjadi glukosa-6-fosfat. Hasil penelitian

terdahulu mengungkapkan adanya interaksi antara Hg dengan heksokinase. Merkuri dapat berikatan secara kovalen dengan residu Cys581 dan Cys 794 pada enzim heksokinase. Berbeda dengan Cd, logam berat ini juga berinteraksi dengan heksokinase otot tikus. (Ramirez-Bajo et al, 2013; Shabir et al, 2019).

Heksokinase memiliki 4 isoform dan isoform IV dari heksokinase disebut sebagai enzim glukokinase. Glukokinase bekerja seperti heksokinase, yakni mengubah glukosa menjadi glukosa-6-fosfat di hepar. Menurut Strydom et al (2006), Cd dapat mengganggu proses glikolisis dengan cara pengikatan secara kovalen dengan residu asam amino pada glukokinase. Akan tetapi pada penelitian tersebut belum diketahui jenis residu asam amino yang terlibat didalam interaksi antara Cd dengan glukokinase.

Selain heksokinase dan glukokinase, enzim piruvat kinase merupakan enzim penting dalam glikolisis. Piruvat kinase adalah apoenzim yang mengkatalisasi langkah terakhir dari proses seluler degradasi glukosa (glikolisis). Fungsinya untuk mempercepat transfer gugus fosfat dari fosfoenolpiruvat ke adenosin difosfat, menghasilkan satu molekul piruvat dan satu dari ATP. Piruvat kinase memiliki 4 bentuk berbeda (isoenzim) dalam jaringan hewan yang berbeda, yang masing-masing

memiliki sifat kinetik tertentu yang diperlukan untuk beradaptasi dengan kebutuhan metabolisme jaringan ini. Hingga saat ini, penelitian interaksi logam berat dengan piruvat kinase belum dilakukan.

Pada jalur glikolisis, enzim heksokinase, glukokinase, dan piruvat kinase merupakan enzim penting. Belum banyak penelitian yang mengungkap interaksi logam berat Hg dan Cd terhadap residu enzim-enzim glikolisis. Oleh karena itu, pada penelitian ini, akan menjelaskan interaksi Hg dan Cd terhadap enzim heksokinase, glukokinase, dan piruvat kinase secara in siliko.

## **BAHAN DAN METODE**

### **Persiapan ligan dan protein**

Ligan Cd dan Hg dilakukan menggunakan MIB: Metal Ion-Binding site prediction dan server docking dari Lu Lab@StructuralBioinformatics, China Medical University (<http://bioinmfo.cmu.edu.tw/MIB/>) (Lin et al, 2016; Sharma et al, 2019). Enzim-enzim kunci pada glikolisis diperoleh dari RCSB Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/search>), yakni enzim glukokinase dengan kode PDB: 3FGU (Adelina, 2020), enzim heksokinase dengan kode PDB: 4IXC (Ziamajidi et al, 2015), dan enzim piruvat kinase dengan kode PDB: 1ZJH (Shabir et al, 2019). Protein disiapkan

dengan menghilangkan residu ligan alami yang ada dalam protein. Persiapan ligan dan protein digunakan oleh program Chimera 1.15 (<https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/download.html>).

#### Analisis dan visualisasi

Analisis dan visualisasi hasil docking menggunakan program Chimera 1.14 (<https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/download.html>). Visualisasi digunakan untuk

menjelaskan interaksi antara ligan dan residu protein reseptor, yakni berupa asam amino yang berinteraksi serta jarak ikatan antara ligan-residu protein reseptor (Komari et al, 2020).

#### HASIL

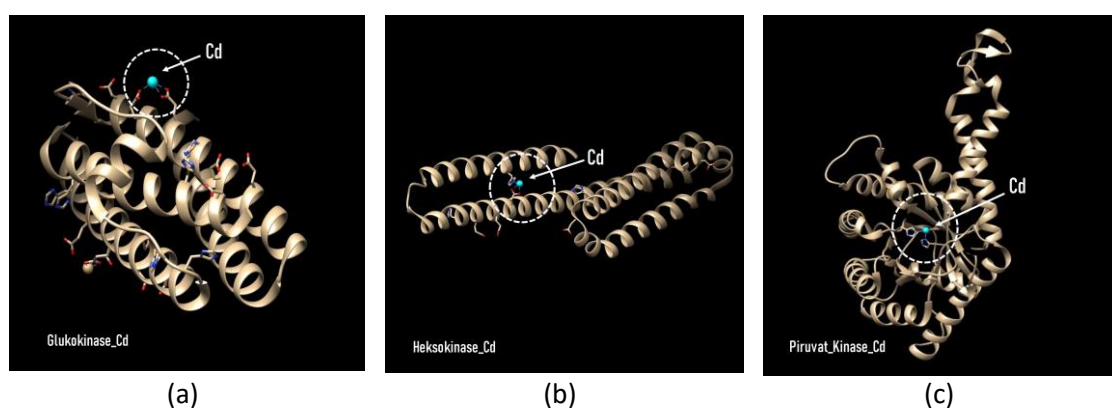
Berdasarkan hasil docking MIB, interaksi antara logam Cd dengan enzim glukokinase, heksokinase, dan enzim piruvat kinase dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1.** Interaksi Cd terhadap enzim glukokinase, heksokinase, dan enzim piruvat kinase

Enzim	Residu Asam Amino	Jarak ikatan (Å°)	Interaksi
Glukokinase (kode PDB: 3FGU)	Cd-17Glu	2,558	Ikatan kovalen kordinasi
	Cd-18Glu	2,425	Ikatan kovalen kordinasi
Heksokinase (Kode PDB: 4IXC)	Cd-368Glu	2,427	Ikatan kovalen kordinasi
	Cd-327His	2,179	Ikatan kovalen kordinasi
Piruvat Kinase (kode PDB: 1ZJH)	Cd-438His	2,337	Ikatan kovalen kordinasi
	Cd-463His	2,295	Ikatan kovalen kordinasi

Secara umum, Cd banyak berinteraksi dengan residu asam glutamate dan residu histidine. Sementara itu, interaksi antara

logam Cd dengan enzim glukokinase, heksokinase, dan enzim piruvat kinase dapat dilihat pada gambar 1.



**Gambar 1.** Pengikatan secara kovalen kordinasi antara Cd dengan residu asam amino (a) Glukokinase-Cd (b) Heksokinase-Cd, dan (c) Piruvat Kinase-Cd

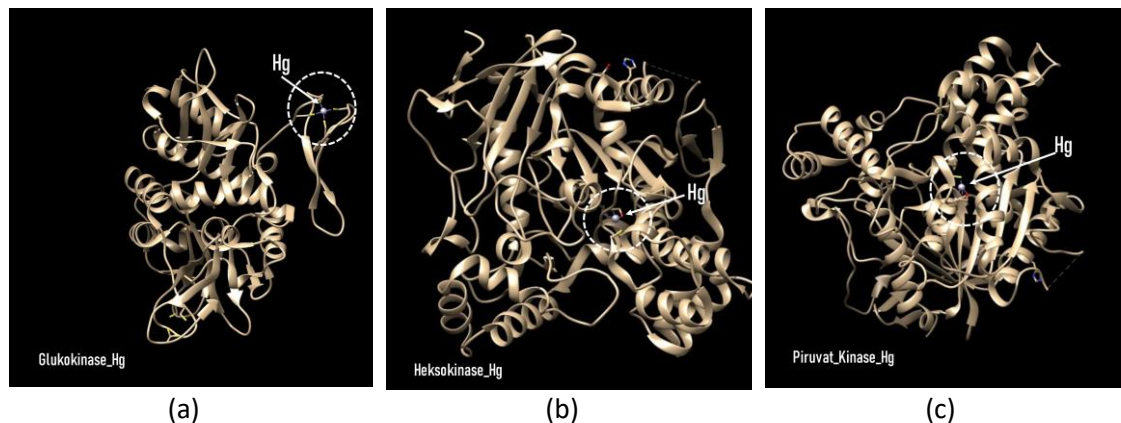
Berbeda dengan Cd, interaksi Hg dengan enzim glukokinase, heksokinase, dan enzim piruvat kinase lebih banyak melibatkan residu asam amino. Hal ini dapat dilihat pada tabel 2.

**Tabel 2.** Interaksi Hg terhadap enzim glukokinase, heksokinase, dan enzim piruvat kinase

Enzim	Residu Asam Amino	Jarak ikatan (Å <sup>o</sup> )	Interaksi
Glukokinase (kode PDB: 3FGU)	Hg-146Cys	2,506	Ikatan kovalen kordinasi
	Hg-149Cys	2,601	Ikatan kovalen kordinasi
	Hg-169Cys	2,558	Ikatan kovalen kordinasi
	Hg-174Cys	2,544	Ikatan kovalen kordinasi
Heksokinase (Kode PDB: 4IXC)	Hg-231Cys	2,306	Ikatan kovalen kordinasi
	Hg-228Ser	2,420	Ikatan kovalen kordinasi
Piruvat Kinase (kode PDB: 1ZJH)	Hg-324Ser	2,421	Ikatan kovalen kordinasi
	Hg-325Cys	2,306	Ikatan kovalen kordinasi
	Hg-357Cys	2,266	Ikatan kovalen kordinasi
	Hg-362Ser	2,349	Ikatan kovalen kordinasi

Secara umum, residu sistein banyak berinteraksi terhadap Hg pada enzim-enzim glikolisis. Visualisasi interaksi antara logam

Cd dengan enzim glukokinase, heksokinase, dan enzim piruvat kinase dapat dilihat pada gambar 2.



**Gambar 2.** Pengikatan secara kovalen kordinasi antara Cd dengan residu asam amino (a) Glukokinase-Cd (b) Heksokinase-Cd, dan (c) Piruvat Kinase-Cd

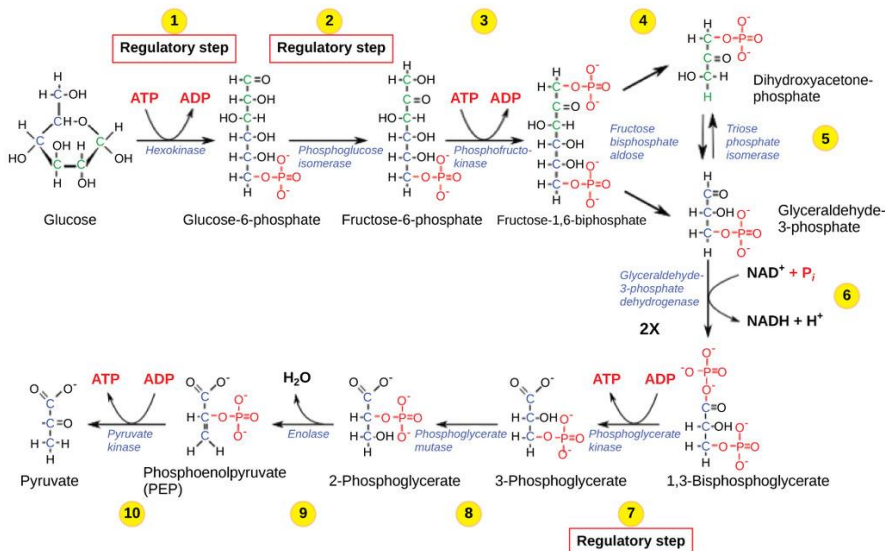
**PEMBAHASAN**

Glikolisis adalah jalur pemecahan glukosa menjadi piruvat dalam keadaan aerob atau asam laktat dalam keadaan anaerob. Glikolisis juga menyediakan substrat untuk produksi energi melalui pembentukan ATP serta substrat untuk jalur penyimpanan glikogenesis dan lipogenesis.

Glikolisis diatur pada beberapa langkah pembatas laju seperti penyerapan glukosa, fosforilasi glukosa, dan/atau konversi fruktosa-6-fosfat (F6P) menjadi fruktosa-1,6-bifosfat (F1,6P2). Dengan demikian, transporter glukosa-4 (GLUT4), glukokinase (GK), dan 6-fosfofrukto-1-kinase (6PFK1) adalah penting dalam pengaturan laju

glikolisis (Guo et al, 2012). Menurut Li et al (2015), ada 3 enzim kunci dalam glikolisis, yakni heksokinase, fosfofruktokinase, maupun piruvat kinase. Selain ketiga enzim kunci tersebut, terdapat enzim penting, yakni glukokinase yang mengkatalisis

perubahan glukosa menjadi glukosa-6-fosfat. Enzim-enzim tersebut merupakan protein yang dapat berinteraksi dengan logam berat Cd dan Hg. Jalur glikolisis dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Metabolisme glukosa melalui jalur glikolisis aerob

Secara umum, Hg dan Cd dapat berinteraksi dengan residu asam amino pada enzim heksokinase, glukokinase, maupun piruvat kinase. Residu asam amino yang terdapat pada enzim-enzim glikolisis berikatan secara kovalen dengan logam. Ikatan tersebut menyebabkan logam terjebak di dalam protein enzim sehingga logam tidak dapat dilepaskan. Adanya logam di dalam struktu enzim tersebut maka akan terjadi perubahan struktur molekul sehingga mengganggu tapak aktif enzim. Keadaan ini menyebabkan terjadinya inaktivasi dari enzim-enzim glikolisis sehingga pembentukan ATP terganggu.

Ditinjau dari tabel 1 dan 2 terlihat bahwa interaksi Hg terhadap enzim glukokinase, heksokinase, dan enzim piruvat kinase lebih reaktif dibanding Cd. Hal ini dapat dijelaskan bahwa jari-jari Hg lebih besar daripada Cd, sehingga Hg memiliki kemampuan untuk melepas elektron yang lebih besar dibanding Cd. Pelepasan electron ini menyebabkan Hg lebih mudah berinteraksi dibandingkan Cd. Hal ini ditandai oleh banyaknya residu asam amino yang mengikat Hg dibanding Cd. Banyaknya residu asam amino yang berikatan menunjukkan adanya sifat *metal chelating* enzim-enzim glikolisis (gambar 1 dan gambar 2).

Pada tabel 2, tampak bahwa Hg secara umum diikat oleh sistein, karena Hg-Sistein memiliki konstanta kestabilan yang tinggi. Pembentukan kompleks Hg dengan residu sistein, menyebabkan Hg akan berikatan dengan gugus thiol bebas yang tersedia. Merkuri yang terikat pada gugus thiol pada residu sistein mengakibatkan fungsi residu sistein pada protein tidak berjalan dengan semestinya. Gugus thiol merupakan gugus aktif dari kebanyakan enzim. Adanya Hg menyebabkan enzim tidak aktif sebab sisi aktifnya tidak berfungsi lagi.

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Ramirez-Bajo et al (2013). Pada penelitian tersebut dinyatakan bahwa Hg terikat oleh residu Cys581 dan Cys 794 pada enzim heksokinase. Menurut Shabir et al (2019) menyatakan bahwa Cd berpotensi menghambat proses glikolisis di hati dan otot dengan menurunkan aktivitas fosfofruktokinase. Selain itu, Cd juga menghambat heksokinase dan fosfofruktokinase di bagian atas dari otot rangka tikus.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa Secara umum, Hg dan Cd dapat berinteraksi dengan residu asam amino pada enzim heksokinase, glukokinase, maupun piruvat kinase, tetapi

Hg lebih reaktif dibandingkan Cd. Pada glikolisis, Cd banyak berinteraksi dengan residu asam glutamate dan residu histidine sedangkan Hg banyak berinteraksi dengan sistein pada enzim-enzim glikolisis. Dengan demikian, Hg dan Cd diprediksi dapat menghambat glikolisis.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adelina R, 2020. Simulasi *Docking* Molekuler Senyawa Potensial Tanaman *Justicia gendarussa* Burm.f. Sebagai Antidiabetes. *Buletin Penelitian Kesehatan*. 48(2): 117 – 122.
- Komari N and E Suhartono E, 2020. Cadmium Binding to Antioxidant Enzymes: In Silico Study. *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering*. 980: 012038.
- Guo X, Li H, Xu H, Woo S, Dong H, Lu H, Alex J. Lange, Wu C, Glycolysis in the control of blood glucose homeostasis. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2(4):358–367.
- Li Xue-bing, Jun-dong Gu and Qing-hua Zhou, 2015. Review of aerobic glycolysis and its key enzymes – new targets for lung cancer therapy. *Thoracic Cancer*. 6: 17–24
- Lu, C.-H., Lin, Y.-F., Lin, J.-J., and Yu, C.-S., 2012. Prediction of Metal Ion-Binding

- Sites in Proteins Using The Fragment Transformation Method. *PLoS ONE* 7: e39252.
- Ramírez-Bajo MJ, de Atauri P, Ortega F, Westerhoff HV, Gelpi JL, et al, 2014. Effects of Cadmium and Mercury on the Upper Part of Skeletal Muscle Glycolysis in Mice. *PLoS ONE* 9(1): e80018.
- Suhartono E, Iskandar, Santosa PB, 2015. Ameliorative Effects of Different Parts of Gemor (*Nothaphoebe Coriacea*) on Cadmium Induced Glucose Metabolism Alteration In Vitro. *Int J Pharm Pharm Sci.* 7(11): 11, 17-20.
- Sabir S, Hamid Akash MS, Fiayyaz F, Saleem U, Mehmood MH, Rehman K, 2019. Role of Cadmium and Arsenic as Endocrine Disruptors in The Metabolism of Carbohydrates: Inserting The Association In to Perspectives. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 114: 1-10.
- Strydom C, Robinson C, Pretorius E, Whitcutt JM, Marx J and Bornman MS, 2006. The Effect of Selected Metals on The Central Metabolic Pathways in Biology: A Review. *Water SA.* 32(4):543-554.
- Sharma D, Sharma A, Singh B and Verm SC, 2019. Bioinformatic Exploration of Metal-Binding Proteome of Zoonotic Pathogen *Oreintia tsutsugamushi*. *Front. Genet.* 10:797.
- Ziamajidi A, Jamshidi S, Ehsani-Zonouz A, 2017. In-Silico And In-Vitro Investigation on The Phenylalanine Metabolites' Interactions With Hexokinase Of Rat's Brain Mitochondria. *J Bioenerg Biomembr.* 49(2): 139-144.