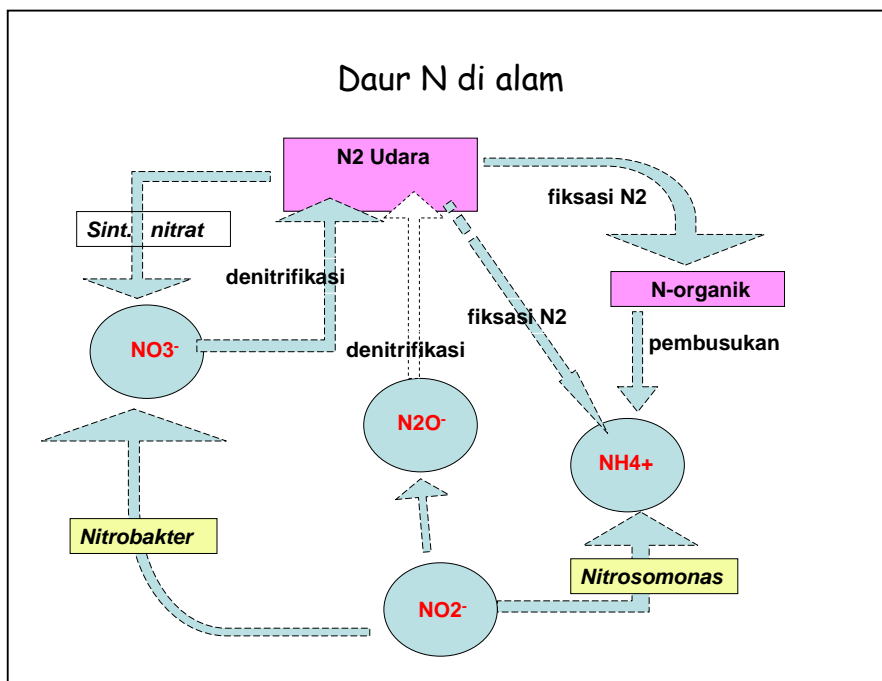


## METABOLISME NITROGEN<sup>1</sup>

Drs. Suyitno Al. MS<sup>2</sup>

Nitrogen merupakan elemen yang sangat esensial, menyusun bermacam-macam persenyawaan penting, baik organik maupun anorganik. Nitrogen menempati porsi 1 – 2 % dari berat kering tanaman. Ketersediaan nitrogen dialam berada dalam beberapa bentuk persenyawaan, yaitu berupa :  $N_2$  (72 % volume udara),  $N_2O$ ,  $NO$ ,  $NO_2$ ,  $NO_3$  dan  $NH_4^+$ . Di dalam tanah, lebih dari 90% nitrogen adalah dalam bentuk N-organik.

Di alam terjadi siklus N sebagai bagian proses aliran materi. Persenyawaan nitrogen di luar tubuh organisme lebih banyak sebagai N-anorganik. Sebagian berupa anion dan kation yang larut dalam air, berada dalam sistem tanah. Sebagian lain persenyawaan nitrogen berada dalam fase gas di udara. Terjadi perubahan siklis antara fase N-anorganik dan N-organik, yang melibatkan hewan, tumbuhan, jamur dan mikro organisme lain dan faktor lingkungan abiotiknya.



Gambar : Daur Nitrogen di alam (Salisbury, 252)

Tumbuhan memperoleh intake atau material masukan yang sebagian besar berupa kation maupun anion (N-anorganik) seperti  $NO_3^-$ ,  $NH_4^+$  dan urea. Pada keadaan tertentu, tumbuhan dapat memperoleh pasokan N dari senyawa N-organik sederhana berupa asam-

<sup>1</sup> Materi disampaikan pada pendampingan Tim Olimpiade Biologi SMAN 7 Purworejo, 15-01-2009

<sup>2</sup> Staf Pengajar Jurdik Biologi FMIPA UNY

asam amino tertentu. Tumbuhan tidak dapat memanfaatkan atau memfiksasi gas N<sub>2</sub> udara secara langsung, kecuali kelompok tumbuhan yang bersimbion dengan bakteri pengikat zat lemas. Selanjutnya N-anorganik yang diserap akan dikonversi atau dimetabolisir di dalam sel menjadi berbagai bentuk persenyawaan N-organik, sesuai kebutuhannya. Metabolisme N penting dalam jaringan tumbuhan menyangkut : 1) asimilasi sumber nitrogen, 2) sintesis asam amino, 3) sintesis amida dan peptida serta 4) sintesis dan perombakan protein.

### (1) Asimilasi sumber N

Ada beberapa sumber nitrogen yang dapat diambil tumbuhan yakni NO<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, N-organik dan N<sub>2</sub>, terutama pada bakteri dan algae tertentu. Pada tumbuhan tinggi umumnya, sumber nitrogen yang paling banyak diserap adalah NO<sub>3</sub> dan NH<sub>4</sub><sup>+</sup> dan beberapa N-organik (tabel . ).

Tabel : Sumber-sumber nitrogen Tumbuhan, Jamur dan Bakteri

No	Tumbuhan	Golongan tumbuhan			
		N-organik	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>=</sup>	N <sub>2</sub> -gas
1	Beberapa Jamur, bakteri dan Euglena	V			
2	Beberapa Jamur dan bakteri	v	V		
3	Bakteri pada umumnya, algae, tumbuhan tinggi	v	v	V	
4	Beberapa bakteri dan algae biru-hijau ("blue-green algae")	v	v	v	v

Pada tumbuhan tinggi umumnya, sumber terpenting nitrogen adalah ion nitrat (NO<sub>3</sub><sup>=</sup>) yang diambil dari larutan tanah. Di dalam tanah, spesiasi ion nitrat tidaklah stabil. Dalam situasi aerobik, ion nitrogen lebih banyak dalam bentuk nitrat. Sebaliknya, dalam suasana anarobik, nitrat akan tereduksi secara bertahap menjadi ion amonia (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>). Bakteri nitrifikasi dan denitrifikasi berperan pada proses konversi tersebut.

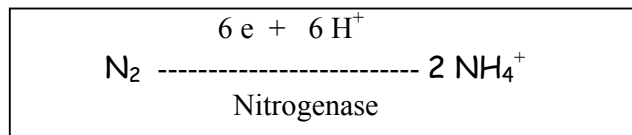
Di alam dikenal ada banyak bakteri terlibat dalam konversi nitrat menjadi amonia, atau sebaliknya. Proses-proses pengubahan dari amonia menjadi nitrat disebut **nitrifikasi**. Sebaliknya, terjadi peristiwa pengubahan nitrat, nitrit menjadi amonia atau N<sub>2</sub> yang disebut **denitrifikasi**. Proses nitrifikasi melibatkan bakteri nitrosomonas dan nitrobakter. Pada proses pembusukan dari senyawa N-organik, akan dihasilkan ion-ion amonia, yang prosesnya disebut **amonifikasi**.



## Fiksasi N<sub>2</sub>

Walaupun N<sub>2</sub> menempati 72 % dari volume udara yang menyediakan nitrogen secara berlimpah, namun umumnya tumbuhan tidak dapat memanfaatkan secara langsung. Hanya beberapa tumbuhan rendah dan beberapa jenis bakteri yang mampu mengikat N<sub>2</sub> sebagai sumber nitrogennya, yakni dari kelompok algae dan bakteri zat lemas.

Bakteri-bakteri zat lemas (N<sub>2</sub>) sebagian hidup bebas, dan sebagian hidup bersimbiosis dengan tumbuhan tertentu. Bakteri yang bebas, sebagian hidup secara aerob (misal *Azotobakter*), dan anaerob (seperti *Clostridium pasteurium*). Bahkan ada yang autotrafik yakni melakukan khemosintesis, seperti *Rhodospirillum rubrum*. Sedangkan bakteri yang bersimbion adalah *Rhizobium sp.* *Rhizobium* bersimbion pada akar Leguminosae, yakni meliputi 3 familia yakni Papilionaceae (berbunga kupu-kupu), Caesalpindaceae (bunga berbendera) dan Mimosaceae (berbunga bongkol). Secara ringkas reaksi fiksasi N<sub>2</sub> adalah sebagai berikut



Untuk reaksi tersebut dibutuhkan keterlibatan enzim-kompleks yakni nitrogenase, yang melibatkan protein kompleks yakni *Fe-Mo-protein* dan *Fe-protein*. Selain itu juga terlibat ATP, ion H<sup>+</sup> dan elektron yang bersumber dari respirasi. Diduga ATP berperan mengaktifkan kompleks Fe-protein.

### Mekanisme Fiksasi oleh *Rhizobium* :

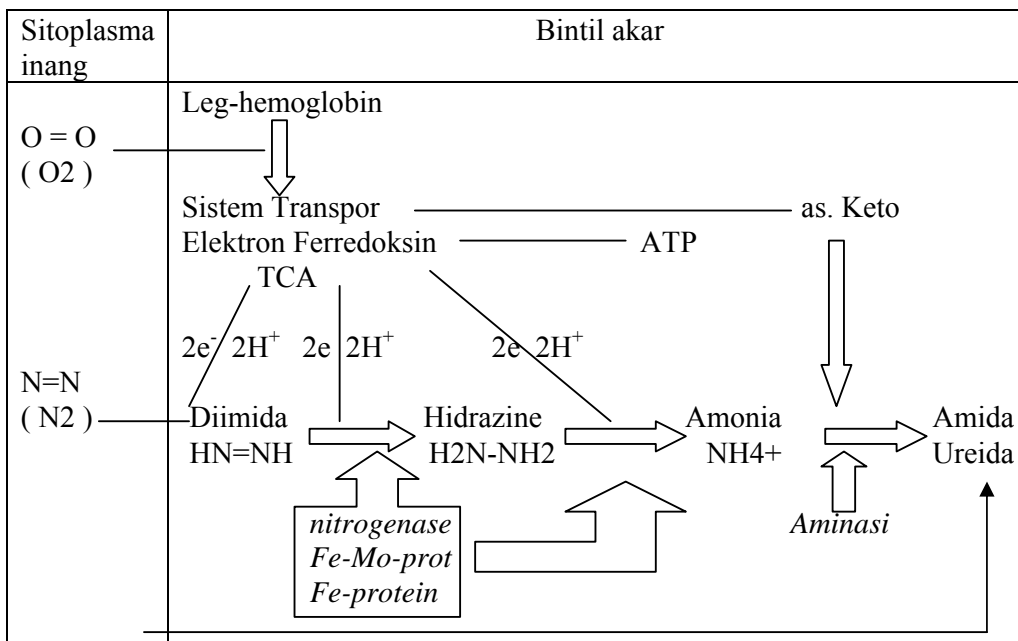
Di dalam bintil akar yang merupakan tempat bersimbion bakteri bintil dengan akar inang, terdapat pigmen, yang oleh Virtanen disebut *Leg-hemoglobin*. Tetapi pigmen ini tidak dibentuk oleh bakteri dan anabaena yang juga pengikat zat lemas. Pigmen tersebut diduga terkait dengan fungsinya dalam transfer elektron. Dalam proses ini juga dibutuhkan Molibdenum (Mo) dan kobalt (Co). Co menjadi bagian vitamin B12 yang diduga sangat penting pada pembentukan leg-hemoglobin.

Menurut Virtanen, konversi N<sub>2</sub> menjadi NH<sub>4</sub><sup>+</sup> terjadi secara bertahap. Sebagai produk awal fiksasi N<sub>2</sub> adalah hidroksilamin (NH<sub>2</sub>OH). Di samping itu pada bintil ditemukan :

- (1) asam oksaloasetat (OAA),
- (2) asam iminosuksinat

(3) asam amino aspartat sebagai produk yang disekresikan.

$\text{NH}_4^+$  yang terbentuk dikeluarkan dari bakteroid ke sitosol sel-sel yang mengandung bakteroid ( ke luar membran bakteroid) dan diubah menjadi asam glutamat, senyawa **amida** seperti glutamin atau asparagin, atau senyawa yang kaya akan nitrogen yang disebut **ureida**, seperti alantoin dan asam alantoat (suatu ureida). Sel-sel akar diluar struktur bintil membantu mentranspor amida atau ureida ini ke xilem, yang selanjutnya akan ditranspor ke pucuk. Secara skematis, reaksi fiksasi  $\text{N}_2$  oleh Rhizobium dapat digambarkan seperti bagan berikut.



**Gambar : Reaksi fiksasi  $\text{N}_2$  pada Rhizobium**

Ditemukan adanya hubungan antara laju fotosintesis, transpor karbohidrat dan penambatan  $\text{N}_2$ . Penambatan nitrogen meningkat pada saat translokasi karbohidrat juga meningkat.

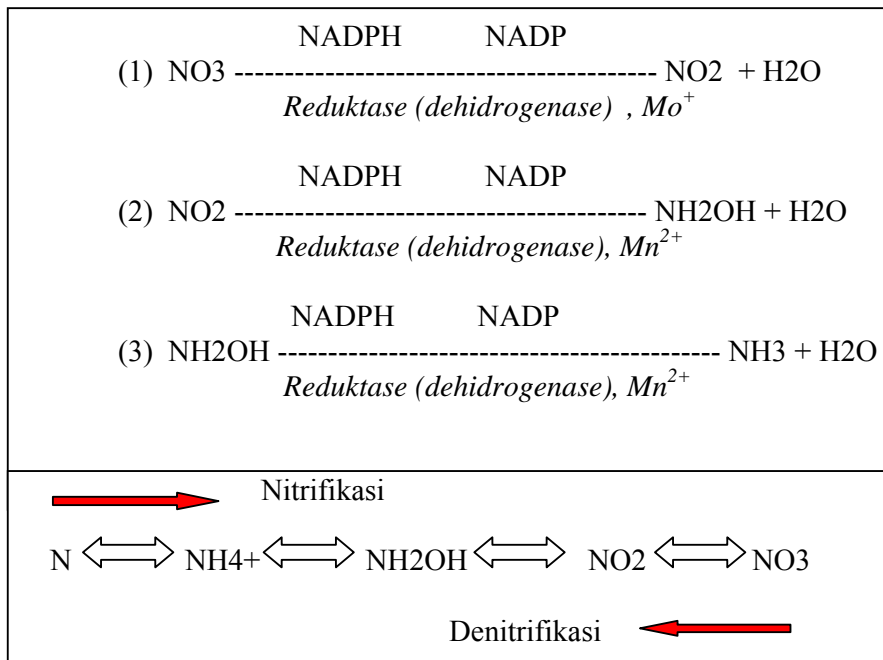
Organisme non-bakteri yang mampu mengikat  $\text{N}_2$  udara bebas adalah dari golongan **Cyanobakter** (blue-green algae), yaitu *Nostoc sp* dan *Anabaena*. *Anabaena* ini ada yang bersimbion dengan azollae (paku air), disebut *Anabaena azollae*. Ada juga yang bersimbion pada akar pakis haji (*Cycas rumphii*) yang disebut *Anabaena cycadae*. *Anabaena* ini tergolong organisme prokariotik.

Ion-ion  $\text{NO}_3^-$  (anion) atau  $\text{NH}_4^+$  (kation) diserap tumbuhan melalui rambut-rambut akar. Karena permeabilitas membran plasmalemma sel terhadap ion sangatlah kecil, maka ion tidak dapat ditembus secara difusi. Penyerapan ini lebih banyak terjadi secara aktif seperti

yang dijelaskan menurut teori respirasi anion, teori pemisahan muatan atau transpor aktif menggunakan ATP.

### Konversi $\text{NO}_3^-$ dalam sel

Ion  $\text{NO}_3$  yang terserap akan diubah menjadi ion-ion amonia ( $\text{NH}_4^+$ ). Proses pengubahan terjadi melalui serangkaian tahapan proses reduksi, yang dikatalisis oleh enzim **reduktase**. Kerja enzim ini melibatkan juga beberapa aktifator dan koenzim NADH. Keseluruhan sistem enzim ini juga disebut NADH dehidrogenase. Tahapan proses ini adalah sbb:



Untuk mengetahui tahapan perubahan senyawa nitrogen ( $\text{NO}_3$ ) di dalam jaringan tumbuhan, perlu dilakukan penelusuran dari waktu ke waktu. Eckerson menemukan bukti bahwa terjadi perubahan secara bertahap dari nitrat menjadi amonia, dan akhirnya akan diubah menjadi amonia (tabel . ). Selain proses konversi, senyawa produknya juga terdistribusi ke jaringan lain.

**Tabel : Perubahan  $\text{NO}_3$  dan distribusi senyawa-N hasil konversinya pada tanaman tomat**

Waktu setelah Penyerapan (jam)	Produk Persenyawaan N dan penyebarannya			
	$\text{NO}_3$	$\text{NO}_2$	$\text{NH}_3$	As. Amino
24	Seluruh tanaman	-	-	-
36	Menurun	Seluruh tanaman	-	-

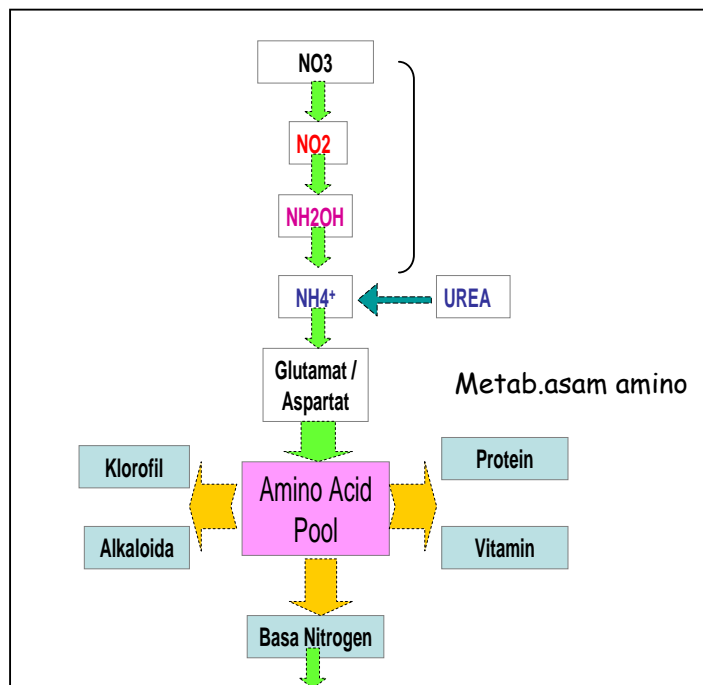
48	Menurun	Menurun	Seluruh tanaman	-
5-10 hari	Sedikit	Sedikit	Sedikit	Seluruh tanaman

Reaksi-reaksi reduktif pengubahan  $\text{NO}_3$  menjadi  $\text{NH}_3$  adalah merupakan reaksi endothermik, yakni reaksi-reaksi yang lebih banyak menyerap energi daripada melepaskan energi. Energi untuk proses konversi tersebut adalah energi kimia yang tersimpan dalam ko-enzim NADPH<sub>2</sub> (NADH<sub>2</sub>). Diduga sumber energi tersebut hasil dari fotolisis air pada jaringan fotosintetik, karena proses reduksi nitrat meningkat seiring dengan meningkatnya intensitas cahaya. Kemungkinan lain, NADH<sub>2</sub> tersebut adalah hasil dari respirasi sel.

### Proses-proses konversi $\text{NO}_3$ dan $\text{NH}_3$

Di dalam sel terjadi proses-proses konversi (metabolisme) nitrogen yang berhasil diserap akar melalui penyerapan aktifnya. Proses tersebut meliputi :

- (1) **Konversi  $\text{NO}_3$  menjadi  $\text{NH}_3$** , jika pasokan berupa  $\text{NO}_3^-$ ,
- (2) **Aminasi reduktif** ke asam keto yang ada ddalam sitozol, seperti OAA, Piruvat, dan Keto-glutarat
- (3) **Pembentukan Amida**, suatu timbunan gugus amin dalam tubuh, yaitu Asparagin (C-4), Glutamin (C-5), yaitu  $\text{NH}_3$  ditambahkan ke asam amino aspartat untuk dijadikan asparagin, atau ditambahkan ke asam glutamat untuk dijadikan glutamin.
- (4) **Transaminasi** : gugus amin suatu asam amino dipindahkan ke as. keto yang lain. Asam amino yan satu mengalami deaminasi oksidatif dan asam keto yang lain mengalami aminasi reduktif sehingga menjadi asam amino baru.

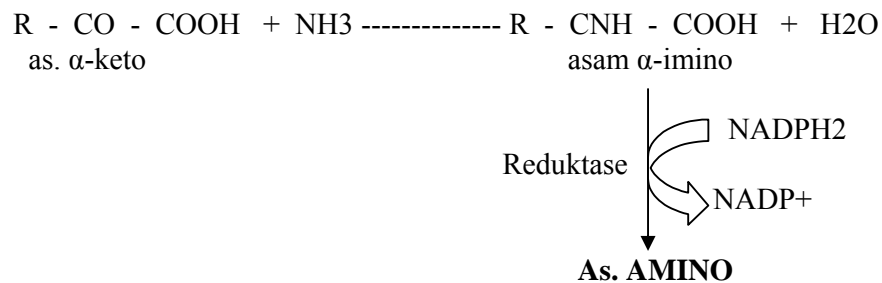


### 1. Aminasi Reduktif

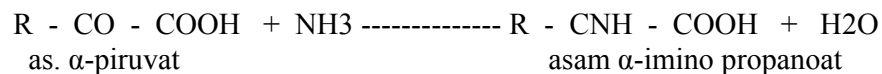
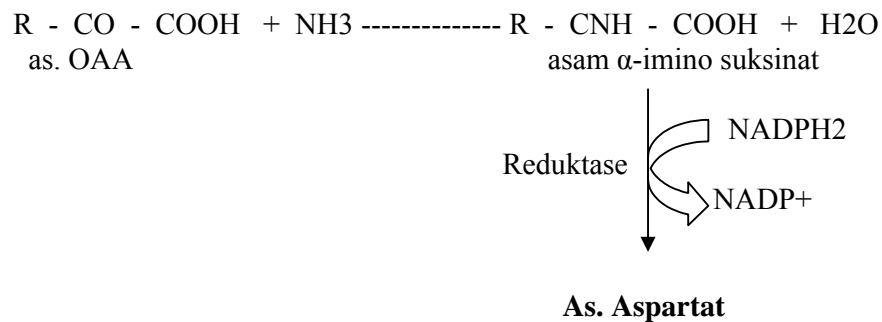
Ion amonia yang ada di sitozol dikondensasikan dengan asam-asam a-keto sehingga terbentuk asam amino baru. Proses ini bersifat reaksi reduksi, sehingga sering disebut sebagai aminasi reduktif. Pada konversi ini melibatkan peranan enzim reduktase. Proses aminasi terjadi dalam 2 tahap, yakni :

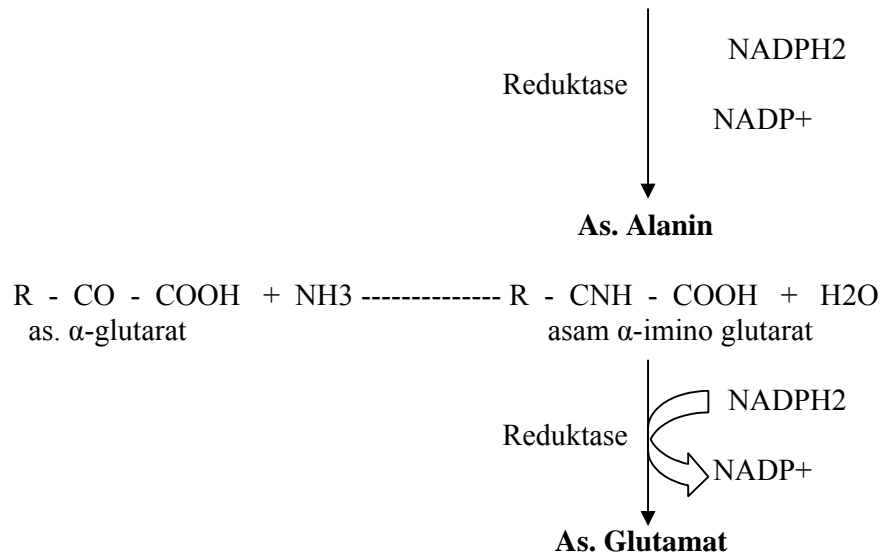
- (1) aminasi as.  $\alpha$ -keto sehingga terbentuk asam  $\alpha$ -imino
- (2) reduksi asam  $\alpha$ -imino menjadi asam amino baru.

Pada reaksi reduksi, melibatkan ko-enzim NADPH<sub>2</sub> (suatu reduktor kuat) dan enzim reduktase (dehidrogenase).



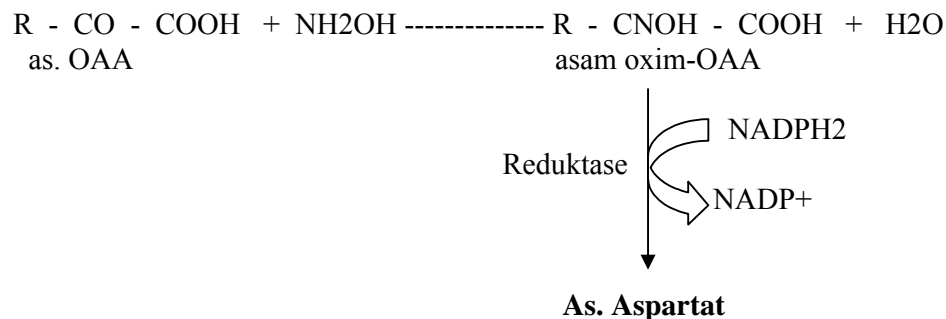
Hasil asam amino yang dibentuk akan tergantung dari as.  $\alpha$ -keto yang teraminasi.





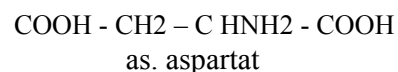
Peristiwa – peristiwa sebaliknya adalah proses *deaminasi oksidatif*.

Pada Leguminosae, aminasi reduktif juga dapat menggunakan hidroksil-amin ( $\text{NH}_2\text{OH}$ ) sebagai sumber nitrogennya. Bakteri Rhizobium pada bintil akar melakukan hal ini dan mensuplaikannya ke tumbuhan inang. Proses konversi tersebut akan melewati pembentukan oxim terlebih dahulu seperti berikut.



## 2. Pembentukan Amida

Amida merupakan asam-asam amino timbunan gugus amin. Senyawa amida yang paling banyak dibentuk adalah asparagin (C-4) dan glutamin (C-5). Asparagin dibentuk dari hasil aminasi terhadap asam amino aspartat (Asp) yang dikatalisis oleh asparaginase. Sedang glutamin (Gln) dihasilkan dari aminasi asam glutamat dengan bantuan glutaminase.





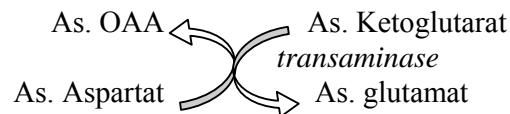


Pembentukan amida terjadi baik di daun maupun di akar. Amida yang dibentuk di akar selanjutnya akan ditranspor ke pucuk.

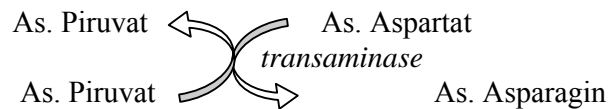
### 3. Transaminasi

Transaminasi merupakan proses konversi asam amino penting lainnya. Pada prinsipnya adalah merupakan proses pemindahan gugus amina dari suatu asam amino ke asam keto lain sehingga terbentuk asam amino baru. Dalam hal ini, asam keto merupakan zat antara atau intermediate yang dihasilkan dalam siklus Krebs.

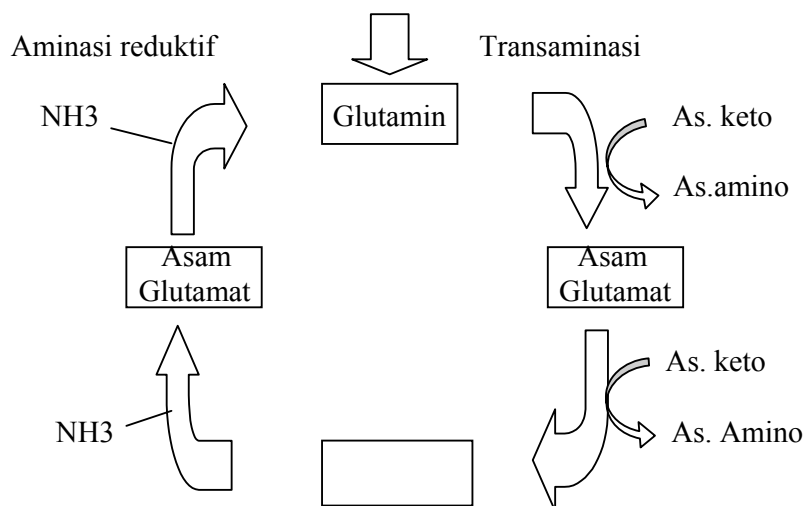
Dalam tumbuhan ditemukan 27 macam asam amino. Proses konversi ini melibatkan enzim *transaminase*.



Gugus amin ini juga dapat berasal dari amida-amida yang telah tersimpan.



Gambaran secara umum proses-proses konversi asam amino, baik aminasi reduktif dan transaminasi dapat merupakan tahapan siklik.



## Glutarat

### 4. Modifikasi rangka karbon

Asam amino dapat diubah ke asam amino lain yang berbeda struktur rangka karbonnya. Seperti asam glutamat, dapat diubah menjadi prolin dan ornition, sedang aspartat dapat diubah menjadi methionin dan isoleusin. Ornitin selanjutnya dapat diubah menjadi arginin, arginosuksinat dan sitrulin, yang merupakan *siklus ornitin* pada metabolisme urea.

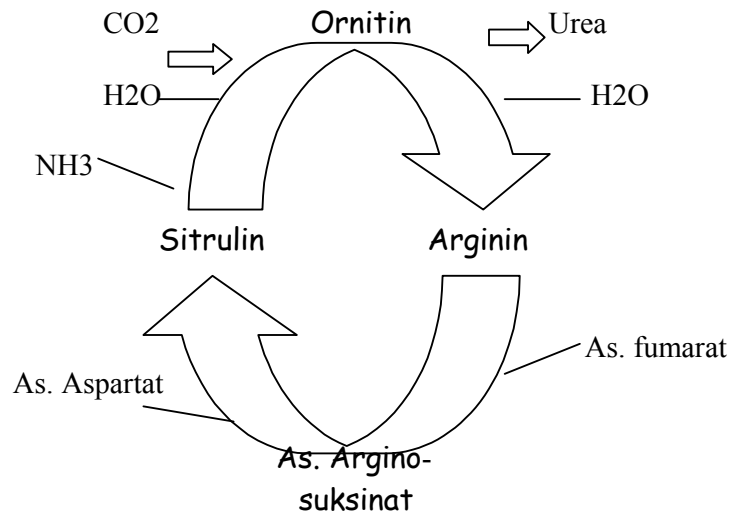
### 5. Hidrolisis Protein

Protein disusun atas banyak asam amino dalam ikatan polipeptida. Protein ini dapat dipecah kembali oleh enzim Protease secara hidrolitik. Seperti proses-proses yang terjadi pada degradasi timbunan protein pada biji. Protein ditimbun dalam bentuk kristal aleuron. Dengan adanya air, akan mengaktifasi protease yang akan bekerja memecah protein menjadi peptida sederhana dan asam-asam amida. Amida-amida inilah yang kemudian siap ditranspor ke lembaga yang sedang atau akan tumbuh. Di dalam endosperm biji terjadi proses aminasi dan deaminasi atau transaminasi. Hal ini intensif terutama pada biji-biji yang bahan timbunannya sebagian besar berupa protein.

Proses perombakan protein yang lain adalah pada peristiwa senescens daun tua. Berbagai bahan organik akan dirombak, dan untuk unsur-unsur yang mobil akan ditranspor ke tempat lain yang lebih membutuhkan. Protein akan dibongkar menjadi asam-asam amino. Selanjutnya asam-asam tersebut akan mengalami deaminasi. Sedang asam keto yang terbentuk digunakan untuk respirasi melalui daur Krebs.

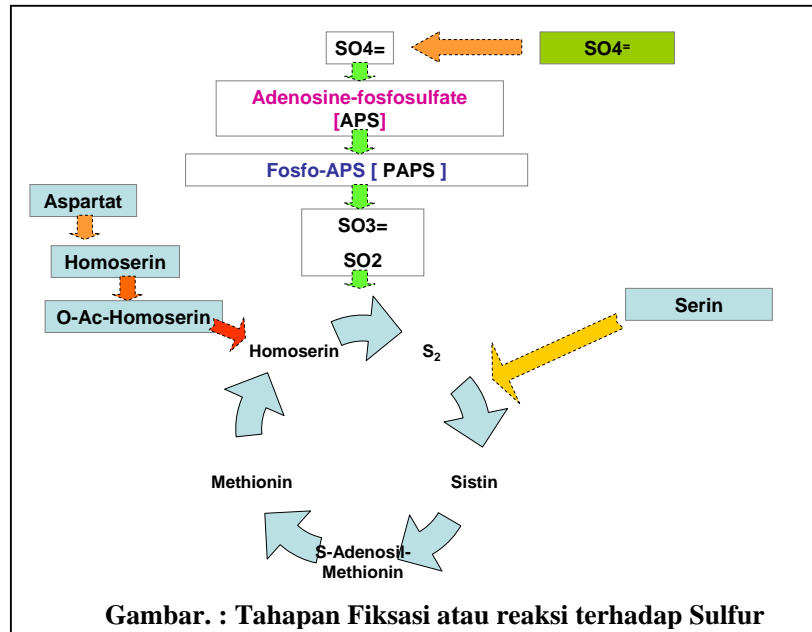
### 6. Urea sebagai sumber N

Pupuk sumber N yang sangat banyak digunakan untuk pertanian adalah pupuk urea. Urea ( $\text{CO}[\text{NH}_2]_2$ ) di dalam air sangat mudah terurai dan melepaskan amonia dan  $\text{CO}_2$ . Selanjutnya  $\text{NH}_3$  akan diserap akar menjadi sumber N bagi tanaman. Urea juga dapat diserap langsung secara difusi. Selanjutnya di dalam jaringan tanaman terdapat urease, zat tersebut akan diurai atau dikonversi melalui Siklus ornitin. Siklus ornitin pada tumbuhan adalah sbb :



## D. METABOLISME SULFUR

Sulfur merupakan salah satu unsur makro yang sangat esensial. Tumbuhan menyerap sulfur dari lingkungannya terutama berupa  $\text{SO}_3^-$   $\text{SO}_4^-$  yang diserap melalui akar, atau dalam bentuk gas  $\text{SO}_2$  dan  $\text{H}_2\text{S}$  yang diserap melalui daun. Daerah yang kaya akan gas ini adalah di sekitar kawah gunung berapi yang masih aktif. Pada prinsipnya, reaksi pengikatan dan reduksi  $\text{SO}_4^-$  adalah sbb:



Setelah Sulfat diikat dan diaktifkan dengan ATP maka akan terbentuk adenosin-5-fosfosulfat (APS), oleh aktivitas enzim ATP-sulfurilase. Selanjutnya, oleh aktivitas APS-kinase, APS direaksikan lagi dengan ATP hingga terbentuklah 3-fosfo-adenosin-5-fosfosulfat (PAPS). Kemudian oleh sulfat reduktase, PAPS direduksi dan terbentuk senyawa sulfida. Senyawa ini akan digunakan untuk menyusun asam amino bersulfur yang sangat penting yaitu sistin, sistein dan methionin. Sulfur menjadi bagian dari gugus aktif dengan terbentuknya gugus sulfhidril (-SH). Salah satu senyawa penting dengan gugus aktif sulfhidril adalah koenzim-A (Co-ASH = dalam status tereduksi) yang sangat berperan dalam berbagai metabolisme karbohidrat dan lemak.

Dalam keadaan excess seperti di lingkungan kawah, akan menimbulkan efek toksik. Tidak semua tumbuhan toleran terhadap pengaruh eksek sulfur sehingga menampilkan

struktur komunitas khas di kawasan kawah. Dari beberapa penelitian ditemukan bukti bahwa ekses sulfur menghambat biosintesis klorofil dan fotosintesis. Tumbuhan yang toleran mampu mendetoksifikasi dengan membentuk kompleks dengan protein yang disebut glutathion.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

AIBS. 1985. Biological Science A Molecular Approach. Toronto,D.C. Heat and Company.

Albert B.; Bray D.; Lewis J.; Robert K. and Watson, J.D. 1983. Teh Cell. London : Garland Publishing, Inc.

Baker J.W. and Ilen, G.E. 1982. Biology. London: Addison-Wesley Publ. Comp.

Bidwell R.G.S. 1979. Plant Physiology. London: Macmillon Publ. Company.

Moore T.C. 1974. Reseach Experiences in Plant Physiol. NY : Springer-Verlag, NY

Purves W.K. and Gordon H.O. 1983. Life. USA : Willard Grant Press.

Salisbury F.G and Ross, C.W.1985. Plant Physiol. California : Wadsworth Publ. Company