

TEKNOLOGI BIOKIMIA DAN PANGAN



**Khartini Kaluku, Made Gendis Putri Pertiwi,
Ilham Ahmad, Marta Tika Handayani,
Aldilla Sari Utami, Revita, Fathimah,
Nur Susan Iriyanti Ibrahim, Dini Wulan Dari**

TEKNOLOGI BIOKIMIA DAN PANGAN

**Khartini Kaluku
Made Gendis Putri Pertiwi
Ilham Ahmad
Marta Tika Handayani
Aldilla Sari Utami
Revita
Fathimah
Nur Susan Iriyanti Ibrahim
Dini Wulan Dari**



GET PRESS INDONESIA

TEKNOLOGI BIOKIMIA DAN PANGAN

Penulis :

Khartini Kaluku
Made Gendis Putri Pertiwi
Ilham Ahmad
Marta Tika Handayani
Aldilla Sari Utami
Revita
Fathimah
Nur Susan Iriyanti Ibrahim
Dini Wulan Dari

ISBN : 978-623-198-661-0

Editor : Dr. Neila Sulung, S.Pd., Ns., M.Kes.

Penyunting : Rantika Maida Sahara, S.Tr.Kes.

Desain Sampul dan Tata Letak : Atyka Trianisa, S.Pd

Penerbit : GET PRESS INDONESIA

Anggota IKAPI No. 033/SBA/2022

Redaksi :

Jln. Palarik Air Pacah No 26 Kel. Air Pacah
Kec. Koto Tangah Kota Padang Sumatera Barat
Website : www.getpress.co.id
Email : adm.getpress@gmail.com

Cetakan pertama, 5 September 2023

Hak cipta dilindungi undang-undang
Dilarang memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk dan
dengan cara apapun tanpa izin tertulis dari penerbit.

KATA PENGANTAR

Segala Puji dan syukur atas kehadiran Allah SWT dalam segala kesempatan. Sholawat beriring salam dan doa kita sampaikan kepada Nabi Muhammad SAW. Alhamdulillah atas Rahmat dan Karunia-Nya penulis telah menyelesaikan Buku Teknologi Biokimia Dan Pangan ini.

Buku ini membahas Pengantar: Perkembangan teknik kimia dan teknologi biokimia, Kinetika reaksi enzim, Desain reaktor enzimatik, Imobilisasi enzim, Aplikasi enzim dalam industri, Kinetika sel, Rekayasa genetika, Gizi, komposisi dan faedah makanan, Teknologi pengawetan.

Proses penulisan buku ini berhasil diselesaikan atas kerjasama tim penulis. Demi kualitas yang lebih baik dan kepuasan para pembaca, saran dan masukan yang membangun dari pembaca sangat kami harapkan.

Penulis ucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah mendukung dalam penyelesaian buku ini. Terutama pihak yang telah membantu terbitnya buku ini dan telah mempercayakan mendorong, dan menginisiasi terbitnya buku ini. Semoga buku ini dapat bermanfaat bagi masyarakat Indonesia.

Padang, 5 September 2023

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR TABEL	viii
BAB 1 PERKEMBANGAN TEKNIK KIMIA DAN TEKNOLOGI BIOKIMIA	1
1.1 Pengantar	1
1.2 Definisi Biokimia	1
1.3 Sejarah Perkembangan Teknologi Biokimia.....	3
1.4 Ruang Lingkup Biokimia.....	5
1.5 Tujuan Dan Manfaat Teknologi Biokimia	6
1.6 Komponen Kimiawi Sel.....	11
1.7 Penutup.....	13
DAFTAR PUSTAKA.....	16
BAB 2 KINETIKA REAKSI ENZIM.....	19
2.1 Pendahuluan	19
2.2 Kinetika Reaksi Enzim	21
2.3 Faktor – faktor yang mempengaruhi kinetika reaksi enzim	26
2.3.1 Suhu	27
2.3.2 pH	28
2.3.3 Konsentrasi substrat.....	28
2.3.4 Konsentrasi enzim	29
2.3.5 Inhibitor	30
2.3.6 Aktivator.....	30
2.4 Inhibitor Enzim	30
2.4.1 Inhibitor kompetitif	31
2.4.2 Inhibitor non kompetitif.....	33
2.4.3 Inhibitor unkompetitif	34
2.5 Reaksi enzim dengan dua substrat	36
2.5.1 Compulsory-ordered mechanism	36

2.5.2 Random-order mechanism.....	37
2.5.3 Ping-pong bi-bi mechanism.....	38
DAFTAR PUSTAKA	39
BAB 3 DESAIN REAKTOR ENZIMATIK.....	41
3.1 Mode Operasi dan Konfigurasi Reaktor	41
3.2 Definisi Kondisi Ideal.....	43
3.3 Strategi untuk Desain Reaktor dan Evaluasi Kinerja....	44
3.4 Model Matematika untuk Kinetika Enzim, Mode Operasi, dan Konfigurasi Reaktor dalam Kondisi Ideal	45
3.4.1 Reaktor Enzim Batch	45
3.4.2 Reaktor Enzim Kontinyu	51
DAFTAR PUSTAKA	62
BAB 4 IMOBILISASI ENZIM	63
4.1 Pendahuluan.....	63
4.2 Metode Imobilisasi Enzim	64
4.2.1 Metode Carrier-binding.....	65
4.2.2 Metode Cross-linking.....	67
4.2.3 Metode Penjebakan (<i>Entrapment</i>).....	69
4.3 Perubahan Sifat Enzim Terimobilisasi	72
4.4 Faktor Pemilihan Metode Imobilisasi.....	73
4.5 Faktor Yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim Pada Proses Imobilisasi.....	74
4.6 Bahan Pendukung Imobilisasi.....	75
DAFTAR PUSTAKA	81
BAB 5 APLIKASI ENZIM DALAM INDUSTRI.....	85
5.1 Pendahuluan.....	85
5.2 Jenis jenis enzim dan peranannya dalam industri pangan	86
5.3 Permasalahan dan Regulasi mengenai penggunaan enzim dalam industri pangan	96
DAFTAR PUSTAKA	101
BAB 6 KINETIKA SEL	103

6.1 Model Klasik Kinetika Reaksi Kimia.....	104
6.2 Reaksi Intraseluler Menggunakan Model Klasik.....	107
6.3 Model Diskrit Dan Stokastik Kinetika Reaksi Kimia.....	109
6.4 Model Homogen Versus Heterogen.....	116
6.5 Penentuan Model Kinetika Reaksi Dalam Sel.....	120
6.6 Aplikasi Model Kinetika Reaksi Dalam Sel.....	121
6.7 Rangkuman.....	122
DAFTAR PUSTAKA.....	124
BAB 7 REKAYASA GENETIKA.....	125
7.1 Pendahuluan.....	125
7.2 Mengenal Rekayasa Genetika.....	126
7.3 Teknik Rekayasa Genetika.....	127
7.3.1 Teknik Homologous Recombination	127
7.3.2 Teknik Knockout.....	128
7.3.3 Teknik knockins.....	129
7.3.4 Teknik Replecement.....	130
7.3.5 Teknik Random Integration of DNA after Direct Transfection.....	131
7.3.7 Teknik Transposon-Mediated DNA Insertion.....	132
7.3.7 Teknik DNA Insertion Mediated by Viral Vectors.....	132
7.4 Prinsip Rekayasa Genetika.....	133
7.5 Manfaat dan Risiko Rekayasa Genetika.....	137
DAFTAR PUSTAKA.....	140
BAB 8 GIZI, KOMPOSISI DAN FAEDAH MAKANAN.....	144
8.1 Pendahuluan.....	144
8.2 Gizi dalam Makanan	144
8.2.1 Pengertian Gizi Seimbang.....	145
8.2.2 Fungsi gizi untuk kesehatan	147
8.2.3 Kandungan gizi dalam makanan.....	150
8.3 Komposisi Makanan.....	152
8.3.1 Karbohidrat.....	152
8.3.2 Protein.....	153
8.3.3 Lemak.....	154

8.3.4 Vitamin.....	155
8.3.5 Mineral	155
8.3.6 Air.....	156
8.4 Faedah Makanan	157
8.4.1 <i>Gastronomic function</i> atau fungsi gastronomik.....	157
8.4.2 Alat Identitas Budaya	157
8.4.3 Alat komunikasi.....	158
DAFTAR PUSTAKA	159
BAB 9 TEKNOLOGI PENGAWETAN.....	162
9.1 Pendahuluan.....	162
9.2 Tujuan Pengawetan Pangan	164
9.3 Prinsip Pengawetan Pangan	165
9.4 Pengawetan Pangan Secara Tradisional.....	167
9.4 Pengawetan Pangan Secara Modern.....	169
DAFTAR PUSTAKA	180
BIODATA PENULIS	

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1. Distribusi Biomolekul di Dalam Sel.....	13
Gambar 2.1. Model kunci dan gembok (a) sebelum terbentuk kompleks enzim-substrat (b) saat terbentuk kompleks enzim-substrat	20
Gambar 2.2. Model induksi pas enzim dan substrat	20
Gambar 2.3. Kurva energi dalam reaksi	22
Gambar 2.4. Pengaruh konsentrasi substrat terhadap kecepatan awal reaksi enzim.....	23
Gambar 2.5. Grafik Lineweaver-Burk	26
Gambar 2.6. Hubungan laju reaksi dengan suhu.....	27
Gambar 2.7. Hubungan laju reaksi dengan pH.....	28
Gambar 2.8. Hubungan antara laju reaksi dengan konsentrasi substrat	29
Gambar 2.9. Hubungan antara laju reaksi dengan konsentrasi enzim	29
Gambar 2.10. Inhibitor kompetitif.....	31
Gambar 2.11. Grafik Lineweaver-Burk untuk inhibitor kompetitif.....	32
Gambar 2.12. Inhibitor non kompetitif.....	33
Gambar 2.13. Grafik Lineweaver-Burk untuk inhibitor non kompetitif.....	34
Gambar 2.14. Inhibitor unkompetitif.....	35
Gambar 2.15. Grafik Lineweaver-Burk untuk inhibitor unkompetitif	35
Gambar 2.16. <i>Compulsory-ordered mechanism</i>	37
Gambar 2.17. <i>Random-order mechanism</i>	38
Gambar 2.18. <i>Ping-pong bi-bi mechanism</i>	38
Gambar 3.1. Konfigurasi reaktor dengan enzim amobil	42
Gambar 3.2. Kinerja reaktor tangki berpengaduk batch (BSTR) di bawah kinetika.....	48

Gambar 3.3. Menyajikan representasi grafis dari kinerja reaktor untuk OS (A dan B : <i>limiting</i>) dan kinetika RS.	50
Gambar 3.3. Kinerja reaktor tangki berpengaduk batch untuk: (a) Mekanisme OS.....	52
Gambar 3.4. Kinerja continuous packed-bed reactor (CPBR) dan <i>continuous stirred-tank reactor</i> (CSTR).....	55
Gambar 3.5. Kinerja <i>continuous packed-bed reactor</i> (CPBR) dan <i>continuous stirred-tank reactor</i> (CSTR).....	60
Gambar 4.1. Immobilisasi Enzim dengan metode Adsorpsi Fisik.....	65
Gambar 4.2. Ikatan Kovalen.....	67
Gambar 4.3. Metode Immobilisasi Enzim dengan Cross-linking	68
Gambar 4.4. Metode Immobilisasi Enzim dengan Cross-linking	68
Gambar 4.5. Imobilisasi enzim dengan teknik matriks.....	70
Gambar 4.6. Penjebakan teknik mikrokapsul	72
Gambar 4.7. Imobilisasi ensim dengan teknik mikrokapsul.....	72
Gambar 5.1. Hidrolisis pati oleh enzim amilase.....	88
Gambar 5.2. Struktur Kimia Bromelin	92
Gambar 5.3. Perbandingan produk bakso diproduksi secara konvensional dan bakso diproduksi dengan penambahan enzim transglutaminase.....	94
Gambar 5.4. Resiko titik kritis enzim mikrobial	99
Gambar 6.1. Ilustrasi interior organisme prokariotik – sel <i>Escherichia coli</i>	113
Gambar 6.2. Empat model model kinetika reaksi dalam sel.....	120

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1. Model Kinerja Reaktor Enzima untuk Reaksi Substrat Tunggal.....	47
Tabel 4.1. Jenis-jenis Bahan Pendukung	76
Tabel 5.1. Aplikasi enzim dalam industri pangan	95

BAB 1

PERKEMBANGAN TEKNIK KIMIA DAN TEKNOLOGI BIOKIMIA

Oleh Khartini Kaluku

1.1 Pengantar

Setiap organisme hidup, baik manusia, hewan maupun tumbuhan, tersusun dari komponen kesatuan terkecil yang disebut sel. Selama setiap siklus hidup terdapat banyak aktivitas seluler dan transformasi yang mendukung fungsi semua organisme hidup. Fenomena kehidupan dalam hal pertumbuhan, perkembangan, dan reproduksi, serta hal-hal terkait lainnya, termasuk dalam ilmu biologi, kimia, dan ilmu lain seperti kesehatan dan kedokteran.

Biokimia adalah studi tentang proses kimia dalam organisme hidup. Biokimia mengatur semua organisme hidup dan proses kehidupan. Dengan mengendalikan aliran informasi melalui sinyal biokimia dan aliran energi kimia melalui metabolisme, proses biokimia memunculkan fenomena kehidupan yang tampaknya ajaib. Sebagian besar biokimia berkaitan dengan struktur dan fungsi komponen seluler dari karbohidrat, protein, lipid, biomolekul dan asam nukleat.

1.2 Definisi Biokimia

Biokimia adalah ilmu yang menghubungkan dan mengaitkan kimia dan biologi yang menggambarkan hukum fisika dan kimia sebagai gambaran proses daur hidup (Hawab, 2003). Biokimia menggambarkan proses kehidupan yang dimulai dari sel, yang merupakan unit terkecil dengan struktur yang unik. Sementara itu, senyawa penyusun sel bersifat biologis dan kimiawi,

termasuk biokimia. Organisme memiliki tiga ciri, yaitu memiliki struktur yang kompleks dan tertata dengan baik, kemampuan mengatur diri sendiri dan melindungi sesuai dengan lingkungannya (Hukum Termodinamika II), dan kemampuan memperbanyak diri (berkembang biak).

Biokimia menyatukan perspektif yang berbeda tentang kimia dan biologi dan menghubungkan ilmu yang terkait dengan proses kimia dalam semua siklus kehidupan seperti bioteknologi, genetika, biologi sel dan biologi molekuler (Poedijadi, 2009). Biokimia mempelajari sel-sel penyusun organisme hidup dan komposisi kimiawi sel penyusunnya, sifat senyawa penyusun sel (faktor genetik, pertumbuhan sel, aktivitas sel, dll.). katalis dalam metabolisme), reaksi kimia atau proses metabolisme terjadi. Di dalam sel hidup, senyawa kimia yang mendukung semua aktivitas organisme hidup serta energi yang dibutuhkan atau dihasilkan dalam setiap aktivitas seluler yang menyusun organisme hidup.

Dalam pembahasannya, biokimia menyajikan proses kehidupan dan keberadaan makhluk hidup dengan proses kimiawi yang terjadi di dalam tubuh. Dalam perkembangannya, ilmu ini mengalami perkembangan pesat dalam beberapa tahun terakhir, dengan berbagai penelitian yang telah dilakukan, masyarakat dapat merasakan banyak hasil dalam kehidupan sehari-hari. Saat ini beberapa bidang yang terpengaruh oleh biokimia ini antara lain kedokteran, farmasi, dan pertanian. dan memberikan kemajuan perkembangan dalam ilmu biologi.

Biokimia adalah studi tentang kimia, konstituen seluler yang terjadi pada organisme hidup. Biokimia adalah ilmu kimia makhluk hidup. Ahli biokimia mempelajari molekul dan reaksi kimia yang dikatalisis oleh enzim yang terjadi pada semua makhluk hidup.

Istilah "biokimia" pertama kali diusulkan pada tahun 1903 oleh Karl Neuber, seorang ahli kimia Jerman. Dari situ, biokimia berkembang, hingga abad ke-20 dengan ditemukannya banyak

teknik baru seperti kromatografi, difraksi sinar X. Elektrolisis, resonansi magnetik nuklir, resonansi magnetik nuklir, radiasi pelabelan isotop radioaktif, mikroskop elektron, simulasi kinetika molekuler. Teknik-teknik ini memungkinkan deteksi dan analisis mendalam dari berbagai jalur metabolisme molekuler dan seluler, seperti glikolisis dan siklus asam nitrat (siklus Krebs).

1.3 Sejarah Perkembangan Teknologi Biokimia

Biokimia berasal dari bahasa Yunani bios "kehidupan" dan chemis "kimia" yang dipahami sebagai ilmu yang mempelajari dasar kimiawi kehidupan dan sebagai ilmu tentang reaksi kimia atau interaksi molekuler dalam sel hidup (Hawab, 2003).

Istilah biokimia dikemukakan oleh Karl Neuberg (1903), seorang ahli kimia Jerman, dan pada pertengahan abad ke-18, Karl Wilhelm Scheele, seorang ahli kimia Swedia yang melakukan penelitian tentang komposisi kimia jaringan pada tumbuhan dan hewan (Poedijadi, 2009). Selain itu, ia mampu memisahkan asam oksalat, asam laktat, asam sitrat dan beberapa ester dan kasein dari produk alami. Pada awal abad ke-19, Friedrich Wohler, khususnya pada tahun 1828, menunjukkan bahwa urea, suatu senyawa yang terdapat dalam urin, dapat dibuat di laboratorium dengan memanaskan sianat basa dengan garam amonium (Poedijadi, 2009). Perkembangan biokimia dilanjutkan dengan penemuan saudara Eduard dan Hans Buchner, yang berdasarkan hasil percobaan mereka, menunjukkan bahwa sel ragi yang mati masih dapat menyebabkan fermentasi gula dalam alkohol. Penemuan kedua bersaudara ini merupakan langkah baru dalam pengembangan pengetahuan dan aplikasi biokimia, yaitu kemampuan menganalisis reaksi dan proses biokimia dengan peralatan laboratorium (in vitro) tanpa menggunakan organisme hidup (in vivo). Penemuan ini diikuti dengan penemuan dan penerapan biokatalis, yaitu katalis alami yang mampu mempercepat reaksi kimia.

Kemudian, pada tahun 1926, J.B. Sumner mendemonstrasikan bahwa urease, enzim yang diperoleh dari biji nangka, dapat mengkristal seperti senyawa organik lainnya. Hal ini semakin memperkuat fakta bahwa enzim dengan struktur kompleksnya dapat dipelajari bahkan pada skala laboratorium. Seiring dengan perkembangan biokimia, ahli biologi sel telah berkontribusi dalam bidang struktur sel. Dimulai dengan Robert Hooke pada abad ke-17, ia mengamati sel, sehingga perbaikan teknik mikroskopi dapat meningkatkan pemahaman tentang struktur yang kompleks (Poedijadi, 2009).

Perkembangan mikroskop elektron pada pertengahan abad ke-20 juga memberikan kontribusi yang sangat berarti bagi perkembangan ilmu biokimia, baik untuk memahami struktur senyawa biokimia, reaksi kimia yang terjadi di dalam sel maupun menentukan reaksi metabolisme dalam sel hidup. . Selanjutnya dalam bidang genetika, seorang ahli genetika bernama Gregor Mendel pada pertengahan abad ke-19 dan kemudian sekitar abad ke-20, berdasarkan hasil penelitiannya, mendemonstrasikan bahwa gen-gen yang menyusun sel adalah sel-sel hidup. Pada tahun 1869, asam nukleat diisolasi oleh Friedrich Miescher, dan pada awal abad ke-20, ahli biokimia berpendapat bahwa hanya protein yang paling kompleks secara struktural yang membawa informasi genetik, sedangkan asam nukleat dianggap sebagai senyawa. Pada pertengahan abad ke-20, ditunjukkan bahwa asam deoksiribonukleat (DNA) adalah senyawa yang membawa informasi genetik. James Watson dan Francis Crick (1953) berdasarkan hasil eksperimennya dalam menjelaskan struktur tiga dimensi DNA dan mekanisme replikasinya yang menjadi dasar untuk memahami fungsi gen pada manusia yang memiliki ciri-ciri organisme (Yuwono, 2006). Pada tahun 1970-an, Paul Berg melakukan percobaan penyambungan DNA dari virus untuk mendapatkan DNA rekombinan dan menjadi titik awal baru untuk

pengembangan teknologi baru yang sangat membantu pengembangan aplikasi biokimia di berbagai bidang kehidupan.

Secara umum, selama abad ke-20, biokimia telah mengalami perkembangan pesat, dibantu oleh kemajuan atau perkembangan analisis kromatografi, penemuan hasil antara dalam proses transformasi kimia karbohidrat, lipid dan protein, penemuan primer, sekunder, struktur tersier dan kuaterner protein, serta struktur DNA dan RNA yang memiliki arti sangat berbeda penting dalam perkembangan biokimia (Poedijadi, 2009).

1.4 Ruang Lingkup Biokimia

Di masa lalu, biokimia dianggap sebagai cabang fisiologi, kesehatan/kedokteran, dan kimia organik. Sejak tahun 1940-an, biokimia berkembang pesat berkat perkembangan ilmu-ilmu lain yang telah menghasilkan alat analitik/analitik yang sangat sensitif dan menghasilkan bahan perunut isotop, memungkinkan para ahli menemukan dan menjelaskan fenomena biologi.

Ada tiga perkembangan yang mengarah pada pengakuan biokimia sebagai ilmu tersendiri dan bukan lagi cabang ilmu. Yang pertama adalah pengenalan sistem multi-enzim yang bertindak sebagai katalis dalam metabolisme. Yang kedua adalah selama metabolisme terjadi transfer energi dalam sel hidup. Ketiga, hereditas adalah proses biologis yang dapat dijelaskan oleh molekul.

Pada tahun-tahun terakhir abad ini, biokimia mempelajari fenomena biologis mendasar, termasuk diferensiasi, asal usul kehidupan dan evolusi, serta perilaku dan ingatan organisme yang lebih tinggi. Hasil yang diperoleh sains ini sangat menakjubkan sehingga beberapa ahli berpendapat bahwa biologi pada dasarnya adalah kimia. Fenomena biologis hanyalah peristiwa yang dapat dijelaskan secara murni oleh ilmu kimia.

Masih harus dibuktikan apakah biokimia dapat mencapai tujuan dasarnya, yaitu untuk menentukan apakah kumpulan molekul/senyawa yang terkandung dalam organisme hidup setelah berinteraksi satu sama lain dapat membentuk, mempertahankan dan mempertahankan kehidupan atau tidak. Tujuan di atas jelas sulit dicapai. Namun jika tujuannya adalah untuk mengkarakterisasi organisme hidup, mungkin masih banyak lagi yang bisa dilakukan oleh para ahli di bidang biokimia. Salah satu pertanyaan yang perlu dijawab oleh ahli biokimia adalah mengapa sekelompok senyawa tak hidup yang ditemukan dalam organisme hidup, setelah berinteraksi, dapat menunjukkan sifat-sifat kehidupan.

1.5 Tujuan Dan Manfaat Teknologi Biokimia

Tujuan kajian biokimia adalah untuk mendeskripsikan organisasi, fungsi zat hidup dan struktur pada tingkat molekuler dalam hubungannya dengan pembentukan struktur organisme “molekular” mulai dari tingkat seluler, organ, jaringan dan sistem organ. Selain itu, biokimia juga menjelaskan mekanisme reaksi kimia yang terjadi di dalam sel serta reaksi kimia yang terlibat dalam reproduksi, pertumbuhan, dan kematian organisme atau sel, serta bagaimana menyimpan dan mendistribusikan informasi genetik secara tepat dan akurat. Metabolisme sel, termasuk reaksi penggunaan enzim, yaitu katalis biologis yang membantu mempercepat proses reaksi biokimia tersebut.

Tujuan mempelajari biokimia erat kaitannya dengan keunggulan mempelajari biokimia, yaitu hasilnya telah banyak diterapkan baik di laboratorium maupun di luar laboratorium, antara lain dalam bidang farmasi, kedokteran, gizi, pertanian, dan lain-lain. Manfaat ini meliputi:

1. Pemeriksaan darah meliputi kadar kolesterol, SGPT-SGOT, bilirubin, kolesterol, trigliserida, dll.
2. Viagra

3. Isoproterenol → menyerupai hormon epinefrin/adrenalin karena menghambat rangsangannya.
4. Obat-obatan dan antibiotik seperti penisilin, streptomisin, eritromisin, dll.
5. 6-Merkapto Purine → menghambat sintesis DNA dalam kultur sel darah putih
6. AZT (*azido dideoxy thymidine*) → menggantikan tiamin, memblokir sintesis DNA virus (HIV)
7. Herbisida dan insektisida → biasanya merupakan penghambat salah satu enzim tanaman atau serangga.

Manfaat mempelajari biokimia dalam berbagai disiplin ilmu lainnya adalah :

1. Tinjauan Ilmu Mikrobiologi
Meskipun ilmu mikrobiologi dan biokimia berfokus pada aspek biologi yang berbeda, keduanya juga tumpang tindih. Pengetahuan tentang protein yang terlibat dalam metabolisme membantu mempelajari perkembangannya. Demikian juga, memahami makromolekul yang membentuk reseptor yang digunakan virus untuk mengikat dan menginfeksi sel manusia juga akan memungkinkan kita mempelajari proses infeksi virus. Area lain yang tumpang tindih menyangkut teknologi DNA rekombinan. Di bidang ini, sel bakteri atau ragi digunakan untuk menghasilkan protein manusia, membuatnya tersedia dalam vaksin atau obat lain.
2. Penelitian fisiologis
Fisiologi menggunakan berbagai metode untuk mempelajari bagaimana molekul biologis, sel, jaringan, organ, sistem organ, dan seluruh organisme melakukan fungsi fisik dan kimianya untuk menopang kehidupan.
3. Kajian Pernafasan
Oksigen merupakan kebutuhan dasar organisme yang harus dipenuhi terutama pada saat respirasi. Dari sudut pandang

biokimia, bagaimana oksigen masuk ke dalam tubuh dan bergerak melalui darah agar darah dapat menjalankan fungsi metabolismenya. Untuk mempertahankan hidup, manusia harus dapat mengambil oksigen dari atmosfer dan mentransfernya ke dalam sel untuk digunakan untuk kebutuhan metabolisme.

4. Dalam studi tentang enzim

Sel hidup yang sangat kecil dapat dianggap sebagai reaktor kimia kompleks termasuk untuk sel bakteri yang lebih kecil dari sel eukariotik, dan bahkan sel bakteri yang hidup di dalam sel eukariotik, seperti sel bakteri dari kelompok mikoplasma.

5. Dalam bidang kesehatan

Dengan menggunakan biokimia dalam bidang medis, kita dapat memahami kesehatan kita dan menjaga kesehatan kita agar terhindar dari penyakit yang ada. Jika kita pernah terkena suatu penyakit, kita juga dapat memahami dan mengobati penyakit tersebut secara efektif. Selain itu, biokimia juga dapat menjelaskan hal-hal dalam bidang farmakologi dan toksikologi karena kedua bidang ini berkaitan dengan pengaruh bahan kimia lulu terhadap metabolisme. Kedua, obat sering mempengaruhi beberapa jalur metabolisme. Misalnya, antibiotik penisilin dapat membunuh bakteri dengan cara menghambat pembentukan polisakarida pada dinding sel bakteri. Dengan demikian, bakteri akan mati karena tidak dapat membentuk sel.

6. Bidang pertanian

Beberapa contoh aplikasi biokimia di bidang pertanian antara lain adalah aplikasi pestisida. Secara umum, pestisida bekerja dengan cara menghambat enzim yang bekerja pada hama atau organisme tertentu. Dalam hal ini, biokimia berperan dalam mempelajari mekanisme kerja pestisida sehingga dapat meningkatkan selektivitas dan dengan demikian mencegah dampak negatif lingkungan yang dapat ditimbulkannya. Selain

meningkatkan mutu produk pertanian dan peternakan melalui biokimia, kita dapat mewujudkan dan mengaplikasikan hasil-hasil penelitian di bidang genetika. Rekayasa genetika saat itu banyak dilakukan dan hasilnya cukup memuaskan.

7. Bidang gizi

Biokimia berperan dalam memecahkan masalah gizi suatu bahan pangan. Jika makanan yang kita makan tidak cukup bergizi untuk kebutuhan gizi kita sehari-hari, gizi buruk akan menyerang terutama anak-anak yang rentan terhadap penyakit ini. Karena salah satu penyebab kekurangan gizi adalah makan dan infeksi, maka dengan mengetahui reaksi-reaksi yang terjadi di dalam tubuh, kita akan mengatasi kekurangan gizi dan mengatur pola makan kita sehingga kita bisa mendapatkan makanan yang optimal.

Selain menerapkan biokimia dalam makanan, kita akan dapat menghindari dan mengatasi gizi buruk dan kita akan dapat menyesuaikan pola makanan yang akan kita makan sehingga kita dapat menikmati makanan tersebut secara optimal. Selain penerapan biokimia pada makanan, kita juga terhindar dari dampak pencemaran lingkungan oleh limbah yang berbahaya bagi kesehatan.

8. Di bidang peternakan

Biokimia sangat penting dalam peternakan karena pemeliharaan fungsi tubuh dan performa hewan akan maksimal jika proses pencernaannya optimal. Pencernaan berlangsung secara optimal jika enzim yang diperlukan tersedia dalam jenis yang tepat dan dalam jumlah yang tepat. Dengan memahami reaksi enzimatik yang terjadi di saluran pencernaan, kita dapat meningkatkan efektivitas reaksi tersebut, misalnya dengan menambahkan aditif mingguan berupa enzim pemecah selulosa pada pakan broiler yang mengandung kandungan serat yang relatif tinggi.

9. Industri peternakan dan perikanan budidaya

Biokimia memainkan peran penting dalam ilmu hewan dan akuakultur karena proses yang terjadi dalam menjaga fungsi tubuh dan produktivitas ternak dan ikan dimaksimalkan. Jika pencernaan berjalan optimal. Pencernaan baru berlangsung optimal jika enzim yang diperlukan tersedia dalam jumlah dan variasi yang tepat. Dengan memahami reaksi enzimatik yang terjadi di saluran cerna, kita dapat meningkatkan efisiensi reaksi tersebut, misalnya dengan menambahkan feed additive berupa enzim pemecah selulosa pada pakan broiler yang mengandung nutrisi ini dalam jumlah yang tinggi. .

10. Farmakologi farmakologi dan toksikologi

Biokimia juga dapat menjelaskan pertanyaan di bidang farmakologi dan toksikologi karena kedua bidang ini berkaitan dengan pengaruh bahan kimia eksternal pada metabolisme. Obat umumnya mempengaruhi beberapa jalur metabolisme, misalnya antibiotik penisilin dapat membunuh bakteri dengan cara menghambat pembentukan polisakarida pada dinding sel bakteri. Dengan demikian, bakteri akan mati karena tidak dapat membentuk sel.

11. Asuhan keperawatan pada pasien

Hasil penelitian juga menentukan diagnosis, prognosis dan pengobatan penyakit. Pendekatan biokimia seringkali merupakan elemen mendasar dalam menjelaskan etiologi penyakit dan merancang terapi yang tepat. Penggunaan yang tepat dari berbagai tes laboratorium biokimia sangat diperlukan untuk diagnosis dan pemantauan hasil pengobatan.

12. Bidang Kedokteran Gizi

Dengan mempelajari biokimia, kita belajar tentang reaksi kimia penting yang terjadi di dalam sel. Ini berarti kita dapat memahami proses yang terjadi di dalam tubuh. Dengan demikian diharapkan kita dapat terhindar dari hal-

hal luar yang akan mempengaruhi proses dalam sel-sel tubuh, sehingga kita dapat mengatur makanan yang akan kita konsumsi sehingga kita dapat menikmati makanan tersebut dengan sebaik-baiknya. Contoh lainnya adalah kita dapat terhindar dari dampak lingkungan yang tercemar limbah yang berbahaya bagi kesehatan.

Biokimia berperan dalam memecahkan masalah gizi, penyakit yang disebabkan oleh gizi buruk, terutama pada anak-anak. Salah satu penyebab kurang gizi adalah karena makan, infeksi dan penyakit. Seperti yang telah dijelaskan di atas, dengan mengetahui reaksi-reaksi yang terjadi dalam tubuh, kita dapat mengatasi malnutrisi dan dapat mengatur makanan yang kita konsumsi sehingga kita dapat memperoleh manfaat yang optimal dari makanan tersebut. Dan kita dapat terhindar dari dampak lingkungan yang tercemar limbah yang berbahaya bagi kesehatan.

1.6 Komponen Kimiawi Sel

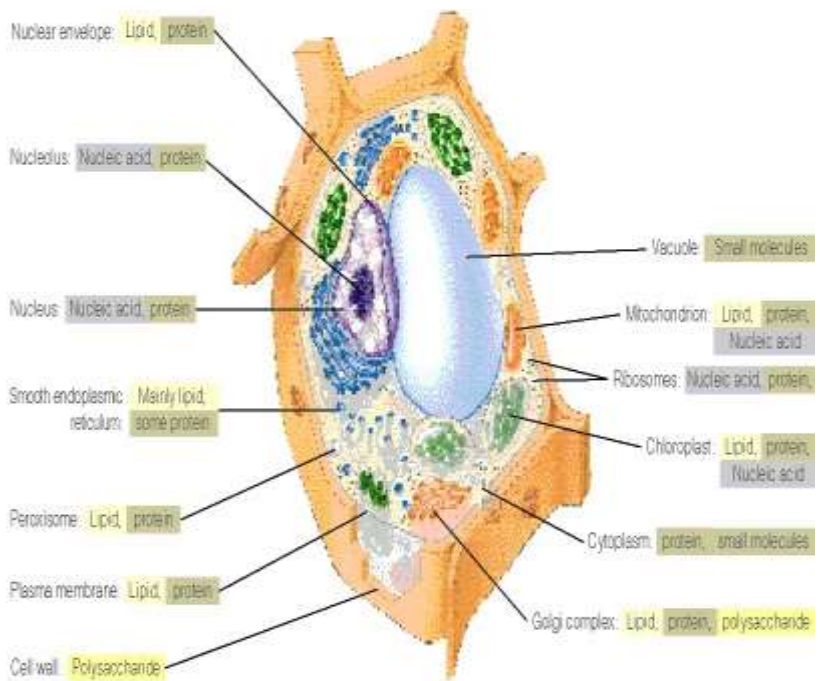
Sel yang menyusun makhluk hidup tersusun dari senyawa organik dan tersusun dari empat molekul penyusun makhluk hidup yang disebut makromolekul. Keempat makromolekul juga dikenal sebagai biomolekul karena molekul-molekul ini membentuk organisme hidup, baik yang paling sederhana maupun yang paling kompleks. Keempat makromolekul tersebut adalah protein, asam nukleat, karbohidrat dan lipid, yang merupakan bahan penyusun dasar sel atau organisme hidup (Hawab, 2003).

Masing-masing biomolekul ini unik dan memiliki karakteristik tersendiri, bervariasi dalam ukuran dan fungsi, serta terdiri dari senyawa penyusun sederhana yang dikenal sebagai mikromolekul. Makromolekul protein terdiri dari 20 asam amino, makromolekul karbohidrat terdiri dari tiga monosakarida utama, makromolekul lipid terdiri dari tujuh komponen utama, dan asam nukleat terdiri dari delapan komponen utama (Hawab, 2003).

Fungsi 4 komponen makromolekul utama penyusun biomolekul bagi tubuh adalah:

1. Karbohidrat adalah sumber energi yang baik, berkontribusi pada fungsi normal otak, saraf dan jantung, pencernaan, dan sistem kekebalan tubuh kita. Sebagai cadangan energi dan membentuk struktur tubuh. Jika kekurangan maka akan menyebabkan kelelahan. Contoh Glukosa, Glikogen, dan tepung selulosa
2. Protein sebagai pendukung struktural tubuh agar dapat bergerak dan melindungi dari kuman dan infeksi. Protein dapat berperan sebagai antibodi, hormon yang mengatur metabolisme pada organisme hidup, enzim dan juga protein kontraktil. Juga sebagai penyusun membran sel, penahan panas & benturan cadangan energi contoh fosfolipid.
3. Lipid berfungsi untuk menyimpan energi dalam membran untuk mencegah aliran dan kontrol zat masuk dan keluar sel. Lipid sebagai pembentuk struktur, lemak tubuh, biokatalis/ enzim contoh daging, bulu, kulit dan semua jenis enzim
4. Asam nukleat adalah DNA dan RNA yang menyimpan dan membawa informasi genetik ke dalam sel dan membantu sintesis protein selama konversi dan transkripsi contohnya DNA, mRNA, tRNA, dan penyusun ribosom rRNA.

Berikut komposisi empat biomolekul termasuk 35 senyawa kimia sederhana dan ukuran relatif biomolekul, serta gambaran distribusi biomolekul dalam sel.



Gambar 1.1. Distribusi Biomolekul di Dalam Sel
(Sumber : Wahyudiati, 2007)

1.7 Penutup

Biokimia adalah studi tentang reaksi atau interaksi molekuler yang terjadi pada sel hidup. Biokimia memegang peranan penting dalam segala bidang, dengan banyak penemuan dan penelitian di bidang pertanian, peternakan/perikanan, farmasi, keperawatan, kedokteran dan kesehatan.

Dari sudut pandang ilmu kimia, pangan merupakan item yang sangat menarik untuk dipelajari, dipahami dan didalami, karena mengandung berbagai senyawa kimia dengan jumlah berbeda dan juga berperan dalam mengkarakterisasi bahan makanan yang terlibat. Misalnya alasan

makanan berwarna merah, kuning, hijau, dan warna lainnya adalah karena mengandung senyawa pigmen, baik yang ada secara alami maupun yang ditambahkan. Alasan makanan memiliki aroma manis, asam, pahit, asin, atau menarik juga karena senyawa kimia. Bahkan rasa strawberry atau yang lebih menonjol rasa durian, dibentuk oleh peran puluhan senyawa kimia yang berpadu menjadi ciri khas rasa yang menonjol pada asparagus berserat Panjang.

Saat ini teknologi biokimia telah berkembang sangat pesat dalam penerapan ilmu kimia khususnya kimia pangan dengan ilmu-ilmu pendukung lainnya guna menjaga sifat-sifat pangan agar dapat awet dalam waktu yang lama. Demikian pula, perkembangan teknologi pangan menciptakan banyak makanan baru yang berbeda dari makanan alami. Pada kasus terakhir, telah terjadi pengembangan senyawa kimia yang dapat diaplikasikan pada bahan pangan. Misalnya, bahan tambahan makanan adalah senyawa kimia yang terus-menerus ditemukan, diteliti, dan dikembangkan sesuai dengan karakteristik namanya. Pengembangannya dilakukan dengan metode kimia murni seperti sintesis kimia atau dengan metode bioteknologi. Metode terbaru ini telah mengubah metode lama sintesis kimia menjadi teknologi yang sangat efisien dan efektif untuk produksi senyawa kimia yang dibutuhkan. Banyak bahan tambahan makanan telah diproduksi melalui metode bioteknologi, seperti pewarna, perasa, pengental, bahan pembentuk gel, dll.

Meskipun terdapat banyak senyawa kimia dalam makanan, terutama nutrisi yang penting bagi kehidupan manusia, tidak menutup kemungkinan makanan juga mengandung senyawa kimia yang berbahaya bagi kita. Berbahaya karena dapat menyebabkan gangguan kesehatan atau berbahaya karena keberadaannya dalam makanan dapat menurunkan kualitas makanan yang bersangkutan. Misalnya, senyawa kimia berupa racun seperti aflatoksin yang dihasilkan oleh kapang *Aspergillus flavus* atau botulin yang dihasilkan oleh bakteri *Clostridium botulinum* dapat tumbuh pada

makanan kaleng, serta sisa residu pestisida. ikan merupakan senyawa kimia berbahaya yang dapat membahayakan kesehatan konsumen. Oleh karena itu teknologi kimia dan teknologi biokimia sangat perlu dipelajari dan dipahami dalam setiap siklus kehidupan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1991. Kimia Dasar. Surabaya. Jurusan Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh November Surabaya.
- Baum, S. J., and Scaife, C. W. J., 1980, Chemistry, A Life Science Approach Second Edition, New York, Macmillan Publishing
- Chang, Raymond. 2004. Kimia Dasar (Konsep-Konsep Inti Edisi Ketiga Jilid 1). Jakarta: Erlangga.
- David S. Page. Prinsip-prinsip Biokimia. Jl. kramat IV No. 1, 1982.
- Devlin, T.M. (editor) 1992. Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations, New York: Wiley Liss, hal. 673-674.
- Estien Yazid dan Lisda Nursanti. 2006. Penuntun Praktikum Biokimia Untuk Mahasiswa Analisis. Yogyakarta: Penerbit Andi
- Hawab, H.M. 2003. Pengantar Biokimia. Bogor: Bayu Media.
- Huheey, J. E., 1978, Inorganic Chemistry Principles of Structure and Reactivity, Second Edition, New York, Harper International Edition
- Krisno, Agus. 2002. Dasar-dasar Ilmu Gizi. Universitas Muhammadiyah Malang. Malang
- Lewin B. 2000. Gene VII, New York: Oxford University Press, hal 533-539.
- Lehninger, A.L., Nelson, D.L and Cox, M.M. (1993). Principles of Biochemistry, New York: Worth Publishers, hal. 993-998.
- Maria Bintang. 2010. Biokimia Teknik Penelitian. Jakarta: Erlangga.
- Miessler, G. L., and Tarr, D. A., 1999, Inorganic Chemistry, Second Edition, New Jersey, Prentice Hall International
- Musbach, Musaddiq. 1996. Fisika Modern II. Jakarta: Depdikbud.
- Poedjiadi, Anna dan F.M. Titin Supriyanti. 2009. Dasar-Dasar Biokimia Edisi Revisi. Jakarta: UI Press.

- Rini Nafsiati Astuti. 2009. Konsep Dasar Kimia. Malang: UIN Malang Press.
- Sadikin H. Mohamad Sadikin, DSc. 2002. Biokimia Enzim. Widya Medika. Jakarta.
- Saito, Taro. 1996. Kimia Anorganik (Diterjemahkan oleh Ismunandar). Reproduced by permission of Iwanami Shoten, Publishers, Tokyo
- Saryono. 2009. Biokimia Respirasi. Jl. Ringroad Selatan, Balong Lor, Potorono, Bantul, Yogyakarta.
- Satyajit D Sarker dan Lutfun Nahar. 2009. Kimia Untuk Mahasiswa Farmasi Bahan Kimia Organik, Alam dan Umum. Yogyakarta: Pustaka Pelajar
- Siregar, Morgong, 1988, Dasar-dasar Kimia Organik, Jakarta, P2LPTK
- Soedioetama, Djaenni. 1976. Ilmu Gizi. Dian Rakyat. Jakarta
- Sukardjo, 1997, Kimia Fisika, Yogyakarta, Rineka Cipta
- Sukardjo, 1990, Ikatan Kimia, Yogyakarta, Rineka Cipta
- Sunjaya Akhmad. 1982. Ilmu Kimia Umum Untuk Universitas dan Pendidikan Tinggi Lainnya. Surabaya: Sinar Wijaya. UGM Press.
- Triwibowo Yuwono. 2008. Bioteknologi Pertanian. Yogyakarta: Wahyudiati, Dwi. 2017. Biokimia. LEPPIM Mataram. Mataram
- Watson, J. D. et.al. 1992. Recombinant DNA, New York: Scientific American Books.
- Widi Prasetiawan. 2009. Kimia Dasar I. Jakarta: Cerdas Pustaka.
- Wilbraham, C. Antony dan Matta, S. Michael. 1992. Pengantar Kimia Organik dan Hayati. Bandung. ITB.

BAB 2

KINETIKA REAKSI ENZIM

Oleh Made Gendis Putri Pertiwi

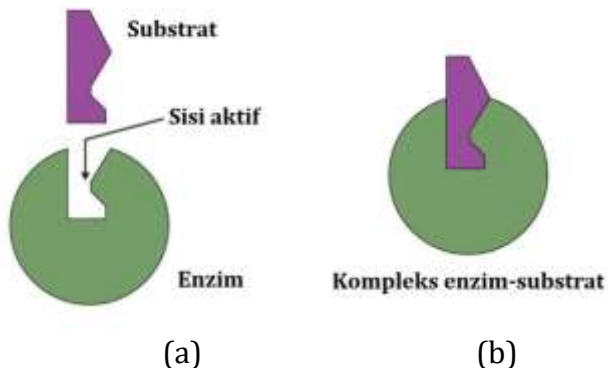
2.1 Pendahuluan

Enzim merupakan biokatalisator berupa protein yang mengkatalisis reaksi kimia spesifik tanpa pembentukan produk samping. Enzim bersifat spesifik terhadap substratnya. Enzim berperan penting dalam metabolisme makhluk hidup. Beberapa enzim hanya terdiri dari polipeptida dan sebagian enzim lain ada yang memerlukan komponen tambahan pendukung untuk dapat beraktivitas. Komponen pendukung tersebut dapat berupa senyawa organik (koenzim) atau senyawa anorganik (kofaktor) seperti ion Fe^{2+} , Mn^{2+} , dan Zn^{2+} (Nelson dan Cox, 2012).

Enzim mempunyai berat molekul sekitar 12.000 sampai lebih dari 1 juta Da. Enzim memiliki ukuran yang lebih besar dibandingkan dengan substrat sehingga menyebabkan tidak semua sisi enzim dapat mengalami kontak dengan substrat. Kontak antara enzim dengan substrat hanya terjadi pada bagian sisi aktif enzim. Mekanisme interaksi antara enzim dengan substrat telah dijelaskan oleh Emil Fischer pada tahun 1894. Emil Fischer menjelaskan bahwa mekanisme enzim dengan substrat dapat dianalogikan seperti kunci dan gembok yang bentuknya saling bersesuaian (*lock and key model*). Ilustrasi kunci dan gembok ditunjukkan pada Gambar 2.1.

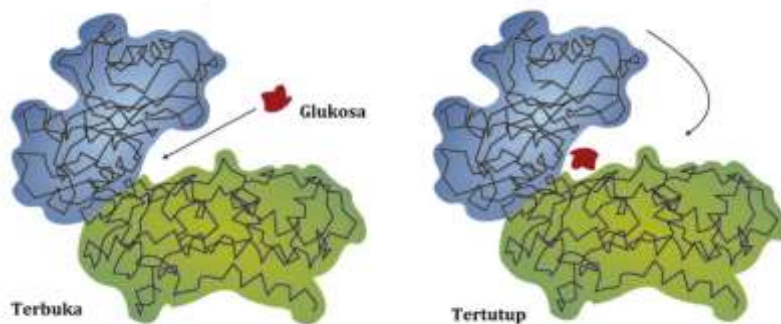
Kontak antara enzim dan substrat hanya dapat terjadi apabila bagian sisi aktif enzim memiliki ruang yang tepat untuk menampung substrat. Jika substrat memiliki bentuk atau konformasi yang tidak sesuai dengan enzim maka substrat tidak bisa ditampung oleh sisi aktif enzim. Hal tersebut yang

menyebabkan enzim dikatakan memiliki spesifitas tertentu terhadap substrat (Denniston dkk., 2007).



Gambar 2.1. Model kunci dan gembok (a) sebelum terbentuk kompleks enzim-substrat (b) saat terbentuk kompleks enzim-substrat (Ball dkk., 2011)

Seiring dengan pengetahuan tentang konformasi tiga dimensi struktur enzim, diketahui enzim dapat melakukan perubahan konformasi agar dapat menyerupai substrat. Teori ini disebut sebagai model induksi pas (*induced-fit model*). Ilustrasi induksi pas ditunjukkan pada Gambar 2.2.



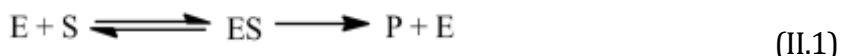
Gambar 2.2. Model induksi pas enzim dan substrat (Ball dkk., 2011)

Berdasarkan reaksi yang dikatalisis, enzim diklasifikasikan ke dalam 6 kelas. Kelas oksidoreduktase adalah enzim yang mengkatalisis reaksi transfer elektron (reduksi oksidasi). Kelas transferase adalah enzim yang mengkatalisis reaksi pemindahan gugus fungsi. Kelas hidrolase adalah enzim yang mengkatalisis reaksi hidrolisis. Kelas liase adalah enzim yang mengkatalisis reaksi penambahan gugus ke ikatan ganda. Kelas isomerase adalah enzim yang mengkatalisis reaksi pemindahan gugus di dalam molekul dan menghasilkan bentuk isomer. Kelas ligase adalah enzim yang mengkatalisis reaksi pembentukan ikatan C-C, C-S, C-O, dan C-N melalui reaksi kondensasi (Nelson dan Cox, 2012).

Mekanisme reaksi enzim dapat diketahui dengan mempelajari kinetika reaksi enzim. Selain itu, kinetika reaksi enzim juga dapat digunakan untuk mengetahui faktor-faktor yang mempengaruhi reaksi enzim dan jenis-jenis inhibitor enzim.

2.2 Kinetika Reaksi Enzim

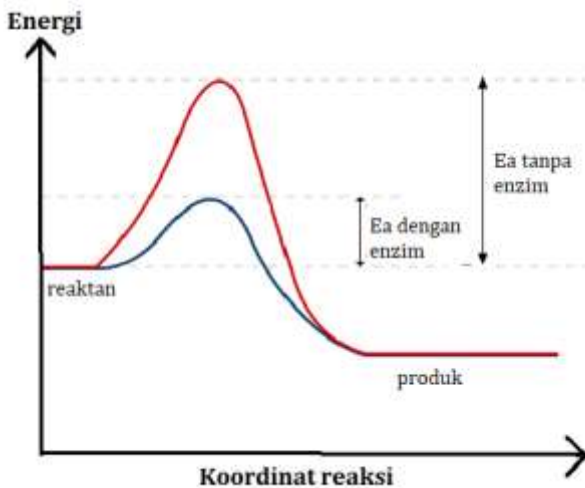
Reaksi enzim merupakan salah satu contoh reaksi kesetimbangan. Enzim (E) mengikat molekul substrat (S) membentuk kompleks enzim-substrat (ES). Kompleks enzim-substrat bersifat sementara yang akan terurai menjadi enzim bebas dan produknya.



Reaksi enzim akan menghasilkan senyawa intermediet yang membutuhkan energi aktivasi lebih rendah daripada reaksi tanpa enzim. Enzim berperan sebagai biokatalisator yang mampu mempercepat reaksi kimia dengan menurunkan energi aktivasi (Gambar 2.3). Energi aktivasi adalah energi minimal yang diperlukan untuk mengawali suatu reaksi. Dalam reaksi enzim

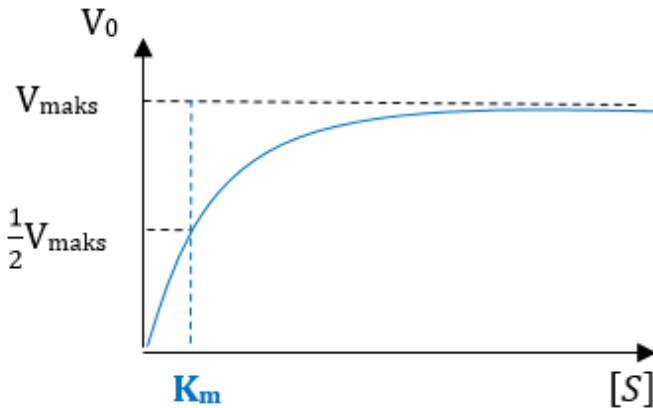
energi aktivasi diperlukan untuk dapat mencapai keadaan transisi antara reaktan dan produk (Copeland, 2000).

Kecepatan reaksi yang dikatalisis oleh enzim dipengaruhi oleh konsentrasi substrat. Jika konsentrasi substrat meningkat maka kecepatan reaksi juga akan meningkat. Pada titik tertentu, kecepatan reaksi hanya akan meningkat sedemikian kecil dengan bertambahnya konsentrasi substrat.



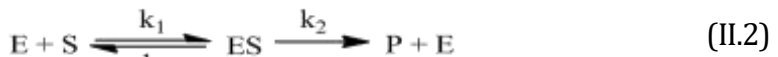
Gambar 2.3. Kurva energi dalam reaksi

Hal ini menunjukkan bahwa kecepatan reaksi maksimum (V_{maks}) telah tercapai. Enzim telah jenuh oleh substrat dan tidak dapat berfungsi lebih cepat. Kurva yang menyatakan hubungan antara konsentrasi substrat dengan kecepatan reaksi enzim mengikuti pola hiperbola seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4. Pengaruh konsentrasi substrat terhadap kecepatan awal reaksi enzim

Michaelis dan Menten mengubah kurva kejenuhan substrat menjadi bentuk matematik sederhana. Persamaan reaksi enzim dapat dituliskan sebagai berikut



k_1 adalah konstanta laju reaksi pembentukan kompleks enzim-substrat dan k_{-1} adalah konstanta laju reaksi penguraian kompleks enzim-substrat menjadi substrat dan enzim sedangkan k_2 adalah konstanta laju reaksi pembentukan produk.

Pada persamaan Michaelis-Menten, tahap substrat mengikat molekul enzim diasumsikan relatif lebih cepat dibandingkan tahap penguraian kompleks ES menjadi produk dan enzim. Pada reaksi pengikatan substrat terjadi keseimbangan.

$$K_S = \frac{[E][S]}{[ES]} \quad (\text{II.3})$$

$$[ES] = \frac{[E][S]}{K_S} \quad (\text{II.4})$$

K_S adalah konstanta kesetimbangan disosiasi kompleks ES yang menggambarkan ukuran afinitas enzim terhadap substrat.

Semakin kecil nilai K_S maka afinitas enzim terhadap substrat semakin besar. Laju reaksi pembentukan produk dirumuskan sebagai

$$v = k_2 [ES] \quad (II.5)$$

dengan k_2 adalah konstanta laju reaksi pembentukan produk dan enzim bebas. Apabila $[E]_t$ adalah konsentrasi enzim total maka $[E]_t = [E] + [ES]$ sehingga

$$\frac{v}{[E]_t} = \frac{k_2 [ES]}{[E] + [ES]} \quad (II.6)$$

Persamaan (II.4) disubstitusikan ke persamaan (II.6) maka diperoleh

$$\frac{v}{[E]_t} = \frac{k_2 \frac{[E][S]}{K_S}}{[E] + \frac{[E][S]}{K_S}} \quad (II.7)$$

Selanjutnya pembilang dan penyebut dikali $K_S / [E]$ sehingga diperoleh

$$v = \frac{k_2 [S][E]_t}{K_S + [S]} \quad (II.8)$$

V_{maks} didefinisikan sebagai kecepatan reaksi maksimum sehingga dapat dirumuskan

$$V_{maks} = k_2 [E]_t \quad (II.9)$$

$$k_2 = \frac{V_{maks}}{[E]_t} \quad (II.10)$$

Substitusi persamaan (II.10) ke persamaan (II.8) dapat dinyatakan sebagai

$$v = \frac{V_{maks} [S]}{K_S + [S]} \quad (II.11)$$

Dengan pendekatan *steady state* maka

$$\frac{\partial [ES]}{\partial t} = 0 \quad (II.12)$$

$$\frac{\partial [ES]}{\partial t} = k_1 [E][S] - k_{-1} [ES] - k_2 [ES] = 0 \quad (II.13)$$

Penataan ulang menghasilkan persamaan untuk tetapan Michaelis-Menten (K_M).

$$K_M = \frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \quad (\text{II.14})$$

Nilai $K_M = K_S$ hanya jika $k_{-1} \gg k_2$ sehingga

$$K_M = \frac{k_{-1}}{k_1} \quad (\text{II.15})$$

Tetapan Michaelis-Menten enzim (K_M) didefinisikan sebagai konsentrasi substrat ketika mencapai setengah V_{maks} . Laju reaksi pembentukan produk dirumuskan sebagai

$$v = k_2 [ES] \quad (\text{II.16})$$

Apabila $[E]_t$ adalah konsentrasi enzim total maka $[E]_t = [E] + [ES]$ dan persamaan (II.14) disubstitusikan ke persamaan (II.6) maka diperoleh

$$\frac{v}{[E]_t} = \frac{k_2 \frac{[E][S]}{K_M}}{[E] + \frac{[E][S]}{K_M}} \quad (\text{II.17})$$

Pembilang dan penyebut dikali $K_M / [E]$ sehingga diperoleh

$$v = \frac{k_2 [S][E]_t}{K_M + [S]} \quad (\text{II.18})$$

Persamaan (II.10) disubstitusikan ke persamaan (II.18) sehingga dapat dinyatakan

$$v = \frac{v_{\text{maks}}[S]}{K_M + [S]} \quad (\text{II.19})$$

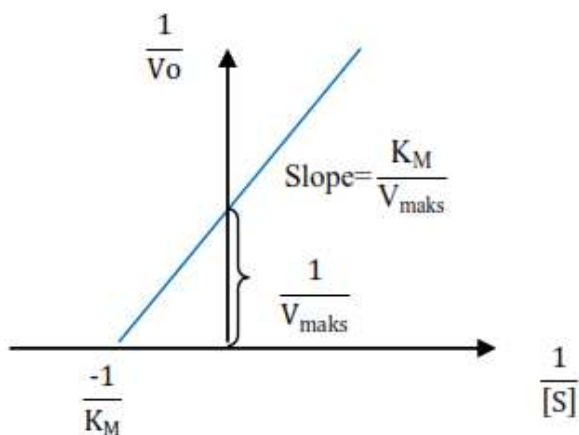
Persamaan (II.19) merupakan persamaan Michaelis-Menten. Persamaan Michaelis-Menten adalah pernyataan aljabar dari bentuk kurva hiperbolik dengan parameter berupa konsentrasi substrat ($[S]$), kecepatan awal (v_0), kecepatan maksimum (V_{maks}), dan tetapan Michaelis-Menten (K_M). Ketika keadaan *steady state* K_S dapat diganti dengan K_M . Umumnya, karena tahap substrat mengikat molekul enzim relatif lebih cepat dibandingkan tahap penguraian kompleks ES menjadi produk dan enzim maka $K_M \approx K_S$.

Persamaan Michaelis-Menten merupakan dasar bagi penelitian mengenai kinetika kerja enzim. Persamaan Michaelis-Menten menghubungkan kecepatan reaksi enzim dengan konsentrasi substrat dan V_{maks} melalui tetapan K_M . Jika nilai K_M dan

V_{maks} diketahui maka kecepatan reaksi dari suatu enzim pada setiap konsentrasi substrat dapat dihitung. Penentuan nilai K_M dan V_{maks} dilakukan dengan melakukan inversi terhadap persamaan Michaelis-Menten menjadi persamaan Lineweaver-Burk.

$$\frac{1}{v_0} = \frac{K_M}{V_{\text{maks}} [S]} + \frac{1}{V_{\text{maks}}} \quad (\text{II.20})$$

Jika laju reaksi diukur pada berbagai variasi konsentrasi substrat maka dapat dilakukan plotting persamaan Lineweaver-Burk untuk mendapatkan nilai K_M dan V_{maks} (Gambar 2.5). Setiap enzim memiliki nilai K_M yang khas bagi substrat tertentu sehingga dengan demikian nilai K_M merupakan parameter kinetik yang menjadi gambaran karakteristik dari suatu enzim (Marangoni, 2003).



Gambar 2.5. Grafik Lineweaver-Burk

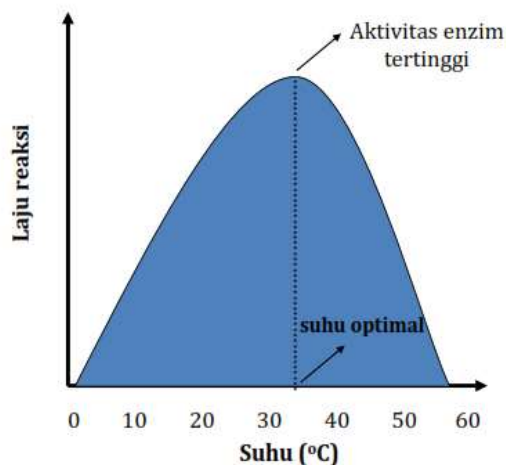
2.3 Faktor – faktor yang mempengaruhi kinetika reaksi enzim

Enzim adalah protein yang mempunyai aktivitas. Aktivitas enzim berkaitan erat dengan laju reaksi. Ketika aktivitas enzim dalam suatu reaksi tinggi maka laju reaksinya cenderung berjalan cepat. Namun aktivitas enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor

antara lain suhu, pH, konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, keberadaan inhibitor dan aktivator.

2.3.1 Suhu

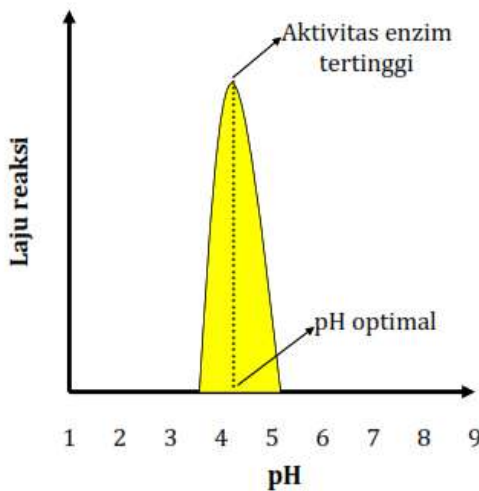
Bentuk struktur protein sangat dipengaruhi oleh suhu. Mayoritas enzim akan mengalami inaktivasi ketika berada di atas suhu 60°C. Pada reaksi kimia, suhu yang tinggi akan meningkatkan tumbukan antar partikel sehingga dapat mempercepat laju pembentukan produk. Namun berbeda pada reaksi enzim, suhu yang tinggi dapat menyebabkan aktivitas enzim menurun. Hal ini dikarenakan tumbukan yang tinggi menyebabkan struktur enzim mengalami denaturasi sehingga struktur enzim berubah/rusak. Selain itu, suhu yang tinggi akan menyebabkan terputusnya ikatan-ikatan lemah yang membentuk struktur tersier sehingga struktur enzim menjadi terbuka (*unfolding*). Sedangkan pada suhu terlalu rendah, aktivitas enzim relatif kecil. Maka dari itu, diperlukan suhu yang optimal agar enzim dapat bekerja secara maksimal (Gambar. 2.6).



Gambar 2.6. Hubungan laju reaksi dengan suhu

2.3.2 pH

Selain suhu, bentuk struktur protein juga dipengaruhi oleh pH. Struktur protein mudah mengalami denaturasi akibat dari lingkungan pH yang ekstrim sehingga struktur enzim menjadi terbuka (*unfolding*). Apabila bentuk sisi aktif enzim berubah maka aktivitas enzim akan menurun bahkan hilang. Oleh sebab itu, setiap enzim mempunyai pH optimum yang berbeda-beda untuk aktivitas katalitiknya (Gambar 2.7).

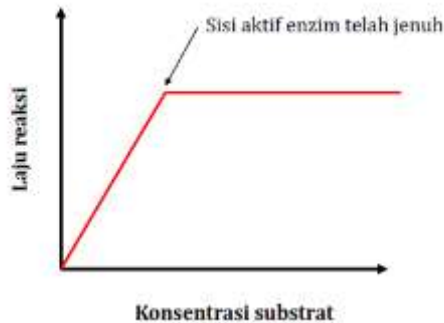


Gambar 2.7. Hubungan laju reaksi dengan pH

2.3.3 Konsentrasi substrat

Jika konsentrasi substrat kecil maka sisi aktif enzim tidak jenuh dan jumlah enzim yang tidak berikatan besar sehingga laju reaksi pembentukan produk semakin cepat. Hal yang berbeda akan terjadi apabila konsentrasi substrat tinggi. Jumlah substrat yang besar menyebabkan sisi aktif enzim akan jenuh oleh substrat dan hampir semua enzim bereaksi membentuk ES sehingga jumlah enzim yang tidak berikatan kecil. Setelah ES terurai menjadi produk dan enzim maka enzim yang terlepas akan segera berikatan

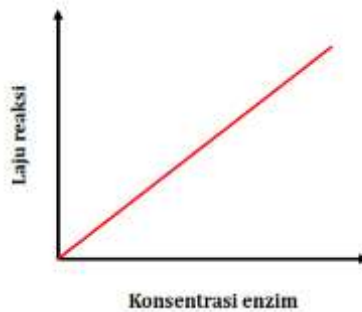
kembali dengan substrat. Hal ini menyebabkan perubahan laju reaksi tidak terlalu terlihat seiring dengan bertambahnya konsentrasi substrat (Gambar 2.8).



Gambar 2.8. Hubungan antara laju reaksi dengan konsentrasi substrat

2.3.4 Konsentrasi enzim

Pada kondisi jumlah substrat konstan, apabila konsentrasi enzim meningkat maka laju reaksinya akan makin cepat. Hal ini dikarenakan ketika konsentrasi enzim tinggi maka akan lebih banyak enzim yang tersedia untuk mengkatalisis reaksi. Hubungan linear antara laju reaksi dan konsentrasi enzim ditunjukkan pada Gambar 2.9.



Gambar 2.9. Hubungan antara laju reaksi dengan konsentrasi enzim

2.3.5 Inhibitor

Inhibitor merupakan suatu senyawa yang mempunyai kemampuan untuk menurunkan aktivitas enzim sehingga menurunkan laju reaksi. Inhibitor dapat terikat pada struktur enzim baik pada sisi aktifnya ataupun tidak pada sisi aktif sehingga menghambat reaksi antara enzim dengan substrat. Akibatnya produk yang diinginkan tidak dapat terbentuk.

2.3.6 Aktivator

Aktivator merupakan senyawa yang secara aktif mampu meningkatkan aktivitas enzim. Aktivator dapat berupa senyawa anorganik (kofaktor) ataupun senyawa organik (koenzim). Pada beberapa enzim, aktivator diperlukan untuk mengaktifkan sisi katalitiknya. Contoh kofaktor misalnya ion Zn^{2+} yang berikatan pada bagian integral dari struktur enzim karboksipeptidase yang berperan mengkatalisa reaksi hidrolisis protein, ion Mg^{2+} yang berikatan dengan substrat pada reaksi yang dikatalisa oleh enzim kinase, ion K^+ pada reaksi yang dikatalisa oleh enzim piruvat kinase. Contoh koenzim misalnya senyawa biotin yang terikat secara kovalen pada senyawaenzim karboksilase, senyawa piridoksal fosfat yang berikatan dengan aminotransferase.

2.4 Inhibitor Enzim

Inhibitor dapat mempengaruhi aktivitas kerja suatu enzim. Inhibitor adalah suatu senyawa yang dapat menghambat atau menurunkan laju reaksi yang dikatalisis oleh enzim. Ada 2 macam tipe inhibitor yaitu inhibitor yang bekerja secara tidak dapat balik (*irreversible*) dan inhibitor yang bekerja secara dapat balik (*reversible*).

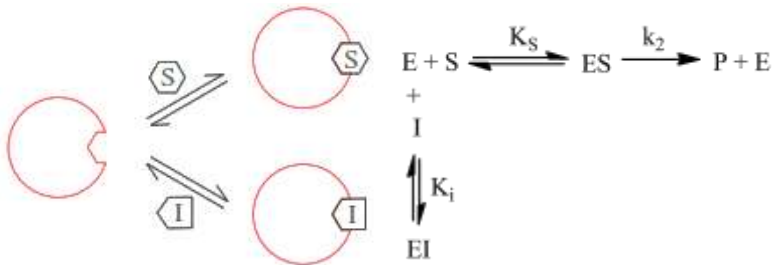
Inhibitor *irreversible* adalah inhibitor yang merusak suatu gugus fungsional pada sisi katalitik enzim. Umumnya inhibitor *irreversible* terikat kuat pada sisi aktif enzim sehingga dapat menonaktifkan. Ikatan antara inhibitor dengan enzim dapat terjadi

secara kovalen dan non kovalen. Salah satu contoh inhibitor *irreversible* yaitu senyawa *iodoacetamide*, merupakan agen alkilasi, yang dapat menghambat aktivitas katalitik dari enzim peptidase sistein dengan berikatan secara kovalen dengan residu sistein.

Inhibitor *reversible* adalah inhibitor yang dapat berikatan dengan suatu enzim. Inhibitor *reversible* digolongkan menjadi 3 yaitu :

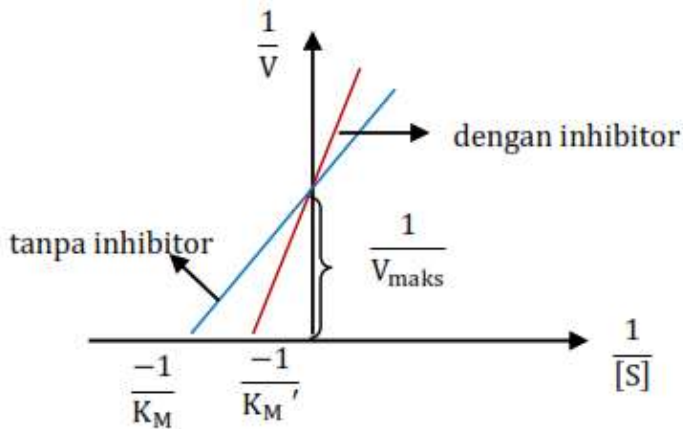
2.4.1 Inhibitor kompetitif

Inhibitor kompetitif mempunyai struktur yang menyerupai substrat dan bersaing dengan substrat untuk dapat berikatan dengan sisi aktif enzim. Inhibitor kompetitif akan berikatan secara dapat balik dengan enzim membentuk suatu kompleks EI (Gambar 2.10). Hal ini menyebabkan produk reaksi tidak dapat terbentuk sehingga laju reaksi pembentukan produk menurun.



Gambar 2.10. Inhibitor kompetitif (Jain ddk. 2005)

Jika konsentrasi inhibitor sama dengan konsentrasi substrat dan keduanya mampu berikatan pada sisi aktif enzim maka enzim hanya dapat bekerja setengah dari kecepatan normalnya. Adanya inhibitor kompetitif menyebabkan nilai K_s meningkat karena afinitas enzim terhadap substrat menurun. Pergeseran nilai K_s ditunjukkan pada Gambar 2.11.



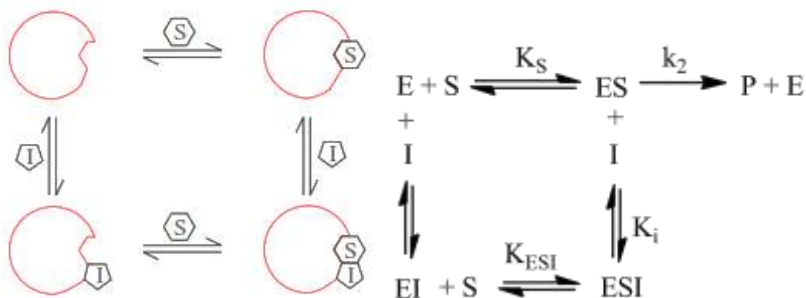
Gambar 2.11. Grafik Lineweaver-Burk untuk inhibitor kompetitif (Marangoni, 2003).

Penghambatan oleh inhibitor kompetitif dapat diatasi dengan meningkatkan konsentrasi substrat dan menjaga konsentrasi inhibitor konstan atau tetap sehingga kemungkinan inhibitor terikat pada enzim semakin kecil dan jumlah penghambatan akan menurun.

Beberapa mikroorganisme seperti bakteri yang berada dalam tubuh manusia mampu menghasilkan enzim yang berperan pada sintesis asam folat dari asam para-aminobenzoat (PABA). Obat golongan sulfa atau sulfanilamid mempunyai struktur yang analog dengan PABA sehingga obat golongan sulfa dapat bertindak sebagai inhibitor enzim dan menempati sisi aktif enzim yang dihasilkan oleh bakteri. Kegagalan PABA untuk berikatan dengan enzim menyebabkan terhambatnya sintesis asam folat dan pertumbuhan bakteri ini. Akibatnya manusia kekurangan enzim yang diperlukan untuk sintesis asam folat dari PABA. Oleh sebab itu, kebutuhan asam folat dipenuhi melalui makanan.

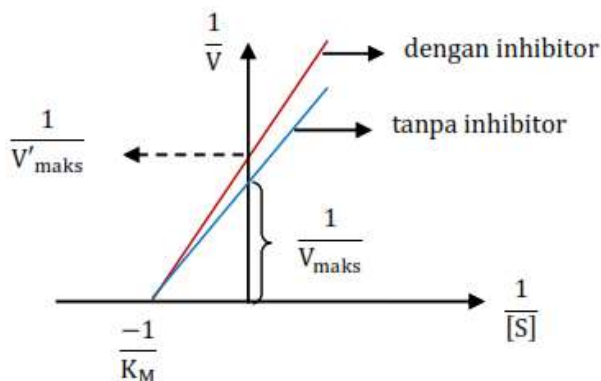
2.4.2 Inhibitor non kompetitif

Pada penghambatan ini tidak terjadi kompetisi antara inhibitor dengan substrat untuk berikatan dengan sisi aktif enzim karena inhibitor tidak mempunyai kemiripan struktur dengan substrat. Inhibitor non kompetitif tidak berikatan pada sisi aktif enzim melainkan berikatan pada sisi lain dari enzim bebas yang menyebabkan bentuk enzim berubah secara keseluruhan sehingga sisi aktif enzim tidak dapat berfungsi. Inhibitor non kompetitif juga dapat berikatan dengan kompleks enzim-substrat namun substrat tidak dapat diubah menjadi produk. Ilustrasi inhibitor non kompetitif dapat dilihat pada Gambar 2.12.



Gambar 2.12. Inhibitor non kompetitif (Jain ddk. 2005)

Karena inhibitor dan substrat berikatan di sisi yang berbeda maka memungkinkan untuk terbentuknya kompleks ES dan ESI. Baik kompleks ES maupun ESI dapat terurai menghasilkan produk reaksi (P). Inhibitor dan substrat dapat berikatan secara bersamaan pada molekul enzim. Ketika inhibitor terikat maka enzim menjadi tidak aktif. Dengan demikian, keberadaan inhibitor non kompetitif tidak mempengaruhi afinitas enzim terhadap substrat. Adanya inhibitor non kompetitif menyebabkan nilai V_{maks} menurun sedangkan nilai K_S tetap atau tidak mengalami perubahan. Pergeseran nilai V_{maks} ditunjukkan pada Gambar 2.13.

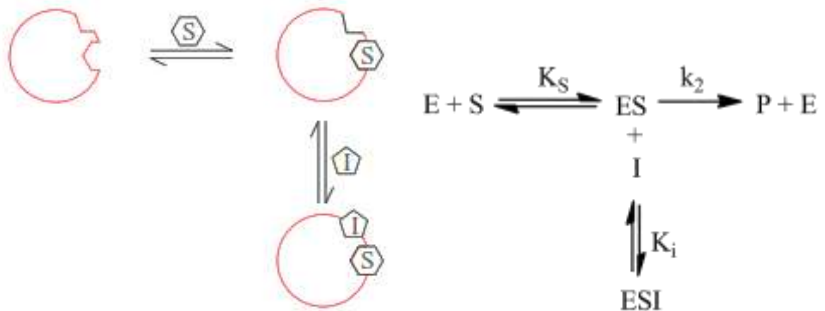


Gambar 2.13. Grafik Lineweaver-Burk untuk inhibitor non kompetitif (Marangoni, 2003).

Berbeda dengan inhibitor kompetitif, penghambatan oleh inhibitor non-kompetitif tidak dapat diatasi dengan meningkatkan konsentrasi substrat. Beberapa ion logam berat (Ag^+ , Hg^{2+} , Pb^{2+}) dapat menghambat aktivitas beberapa enzim. Contohnya enzim urease yang sensitif terhadap keberadaan ion logam tersebut. Terbentuknya kompleks antara ion logam, enzim dan substrat menyebabkan enzim menjadi tidak aktif. Penghambatan ini dapat diatasi dengan menghilangkan ion logam berat.

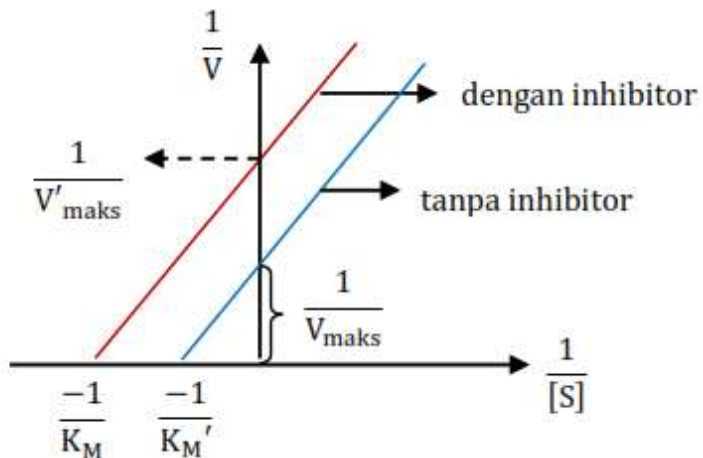
2.4.3 Inhibitor unkompetitif

Sama seperti inhibitor non kompetitif, inhibitor unkompetitif tidak berikatan pada sisi aktif enzim melainkan pada sisi lain enzim. Inhibitor unkompetitif tidak dapat berikatan dengan enzim bebas namun hanya dapat berikatan dengan kompleks enzim-substrat. Ilustrasi penghambatan oleh inhibitor unkompetitif dapat dilihat pada Gambar 2.14.



Gambar 2.14. Inhibitor unkompetitif (Jain ddk. 2005)

Adanya inhibitor unkompetitif menyebabkan nilai K_S dan V_{maks} menurun. Penurunan K_S menunjukkan afinitas enzim terhadap substrat mengalami peningkatan karena kompleks enzim substrat yang terbentuk tidak produktif sehingga mengakibatkan konsentrasi enzim bebas menurun. Pergeseran nilai K_S dan V_{maks} ditunjukkan pada Gambar 2.15.



Gambar 2.15. Grafik Lineweaver-Burk untuk inhibitor unkompetitif (Marangoni, 2003)

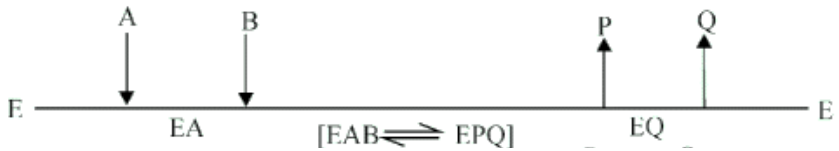
Karena inhibitor dan substrat tidak saling berkompetisi untuk terikat pada sisi aktif enzim, maka penghambatan oleh inhibitor unkompetitif tidak dapat diatasi dengan meningkatkan konsentrasi substrat. Contoh inhibitor unkompetitif yaitu penghambatan aril sulfatase oleh hidrazin, dan penghambatan alkali fosfatase usus oleh fenilalanin (Palmer dan Bonner 2011).

2.5 Reaksi enzim dengan dua substrat

Sebagian besar reaksi biokimia setidaknya melibatkan dua substrat. Sebelumnya telah dibahas terkait reaksi enzim yang hanya memerlukan satu substrat. Pada pokok bahasan ini akan dibahas tentang reaksi enzim yang melibatkan dua substrat dan menghasilkan dua produk (*bi-bi reaction*). Mekanisme reaksi dapat terjadi secara berurutan (*single displacement reaction*) dan secara tidak berurutan (*double displacement reaction*). *Single displacement reaction* juga sering disebut *sequential mechanism* dimana kedua substrat dapat berikatan pada enzim dan membentuk kompleks enzim-substrat sebelum produk pertama dihasilkan. Sebaliknya pada *double displacement reaction* atau *non-sequential mechanism*, substrat pertama akan berikatan terlebih dahulu dan melepaskan produk baru dilanjutkan dengan pengikatan substrat kedua untuk menghasilkan produk kedua. Mekanisme reaksi enzim dengan dua substrat terbagi menjadi tiga mekanisme yaitu.

2.5.1 Compulsory-ordered mechanism

Mekanisme ini termasuk dalam mekanisme reaksi yang berurutan (*sequential mechanism*). Pada mekanisme ini ada urutan tertentu dalam proses pengikatan substrat dengan enzim dan pelepasan produknya. Enzim mempunyai sisi pengikatan yang terpisah untuk kedua substratnya. Pengikatan substrat pertama diperlukan oleh enzim untuk membentuk tempat pengikatan substrat kedua. Mekanisme reaksinya digambarkan pada Gambar 2.16.

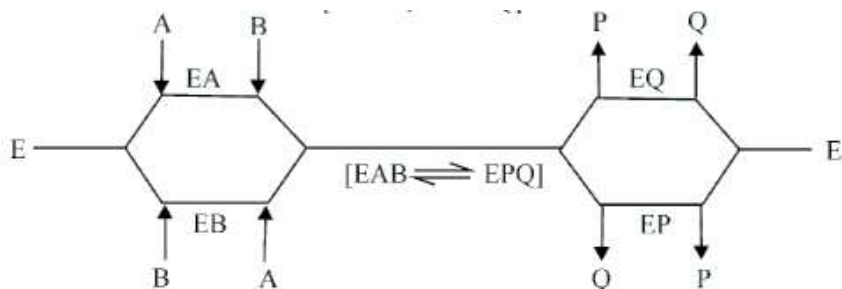


Gambar 2.16. *Compulsory-ordered mechanism* (Jain ddk. 2005)

Substrat pertama (A) berikatan dengan enzim (E) membentuk kompleks EA. Kemudian diikuti oleh substrat kedua (B) sehingga membentuk kompleks EAB yang selanjutnya diubah menjadi produk (P dan Q). Produk P dibebaskan terlebih dahulu dan kemudian diikuti oleh Q. Mekanisme ini terjadi pada enzim alkohol dehidrogenase yang mengikat NAD^+ dan etanol. NAD^+ merupakan koenzim yang bertindak sebagai substrat pertama yang diikat terlebih dahulu oleh enzim alkohol dehidrogenase sebelum mengikat etanol (Palmer 1991, Jain ddk. 2005).

2.5.2 Random-order mechanism

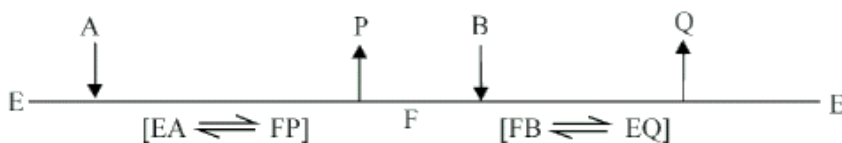
Kedua substrat mempunyai peluang yang sama untuk dapat berikatan dengan enzim terlebih dahulu dan tidak ada urutan tertentu untuk pengikatan substrat ataupun pelepasan produk (Gambar 2.17). Enzim mempunyai sisi pengikatan yang terpisah untuk kedua substratnya sehingga kedua substrat dapat berikatan pada sisi aktif yang ada pada enzim bebas. Beberapa pengikatan substrat oleh enzim dehidrogenase dan kinase mengikuti mekanisme reaksi ini (Palmer 1991, Jain ddk. 2005).



Gambar 2.17. *Random-order mechanism* (Jain ddk. 2005)

2.5.3 Ping-pong bi-bi mechanism

Mekanisme ini termasuk dalam mekanisme yang tidak berurutan (*non-sequential mechanism*) yang digambarkan dengan satu substrat terikat dan satu produk dilepaskan sebelum substrat kedua berikatan dengan enzim (Gambar 2.18). Enzim diibaratkan sebagai papan sedangkan substrat diibaratkan sebagai bola pingpong.



Gambar 2.18. *Ping-pong bi-bi mechanism* (Jain ddk. 2005)

Substrat pertama (A) berikatan terlebih dahulu dengan enzim (E) membentuk suatu kompleks enzim substrat yang langsung dilanjutkan dengan penguraian enzim (F) dan produk (P). Segera setelah P lepas, substrat kedua (B) datang dan berikatan dengan enzim (F) sehingga membentuk senyawa kompleks. Selanjutnya produk kedua (Q) dilepaskan. Mekanisme ini terjadi pada enzim glutamate dehydrogenase, kimotripsin, dan transaminase (Palmer 1991, Jain ddk. 2005).

DAFTAR PUSTAKA

- Balls, D.W., Hill, J. W., dan Scott, R. J. 2011, *Introduction to Chemistry General, Organic, and Biological*, Vol. 1, Flat World Knowledge, Washington.
- Copeland, R. 2000, *Enzymes: A Pratical Introduction to Structure, Mechanism, and Data Analysis*, 2nd Ed., A John Wiley & Sons Inc., New York.
- Denniston, K.D., Topping, J.J., Robert. L., dan Caret, L. L. 2007, *General Organic and Biochemistry*, 5th Ed., Mc-Graw Hill, New York.
- Marangoni, A. G. 2003, *Enzyme Kinetics A Modern Approach*, A John Wiley & Sons, New Jersey.
- Nelson, D. L. dan Cox, M. M. 2012, *Lehninger Principles of Biochemistry*, 6th Ed., W. H. Freeman, New York.
- Palmer, T.B.A. and Bonner, P.L. 2011, *Enzymes*, 2nd Ed., Woodhead Publishing, United Kingdom.
- Palmer, T. 1991, *Understanding Enzymes*, 3rd Ed., Ellis Horwood, England
- Jain, J.L., Jain, S., and Jain, N. 2005, *Fundamentals of Biochemistry*. S. Chand & Company LTD., New Delhi.

BAB 3

DESAIN REAKTOR ENZIMATIK

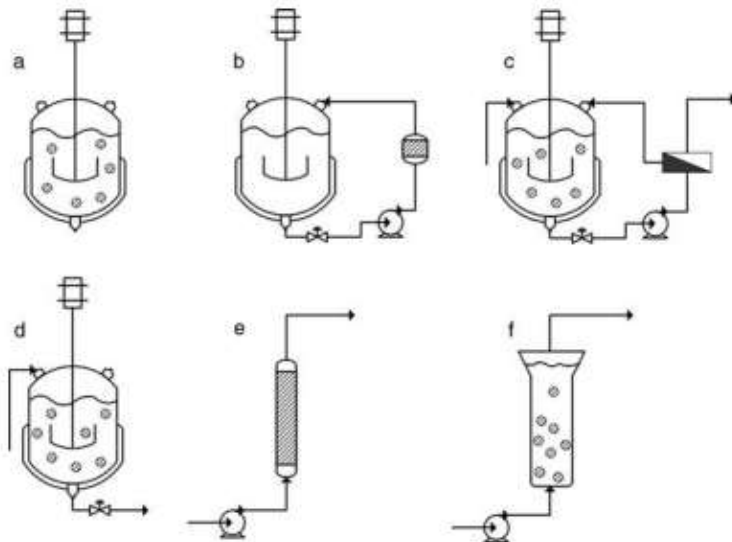
Oleh Ilham Ahmad

3.1 Mode Operasi dan Konfigurasi Reaktor

Enzim memiliki spektrum aplikasi teknologi yang luas dan merupakan alat mendasar dalam biologi molekuler dan penelitian bioteknologi. Sebagian besar kation appli teknologi enzim mengacu pada penggunaannya sebagai katalis proses, mewakili lebih dari 70% dari nilai komersial global mereka. Penggunaan enzim konvensional sebagian besar sebagai katalis untuk reaksi hidrolisis yang dilakukan dalam media berair; Ini masih mewakili aplikasi utama mereka. Namun, dalam beberapa dekade terakhir, penerapannya telah diperluas ke reaksi sintesis organik, sebagian besar dilakukan di media tidak berair dan dengan enzim amobil. Proses katalisis homogen konvensional dalam media berair, dilakukan secara batch dalam reaktor tangki berpengaduk tanpa pemulihan enzim, telah digantikan untuk berbagai konfigurasi reaktor dan mode operasi untuk sistem heterogen, baik dengan menggunakan katalis padat (enzim amobil) atau media reaksi heterogen (pelarut organik, cairan ionik, media semipadat).

Stabilitas enzim yang buruk dalam kondisi proses merupakan hambatan utama untuk digunakan secara luas sebagai katalis industri. Oleh karena itu, desain dan produksi katalis enzim yang kuat merupakan masalah utama dalam biokatalisis enzim. Enzim amobil adalah katalis proses yang kuat, stabil dan dapat dipulihkan, membuat peningkatan efisiensi penggunaan dan dengan demikian mengurangi dampaknya terhadap total biaya operasi. Enzim amobil dapat digunakan baik dalam operasi batch berurutan (dengan pemulihan enzim setelah setiap batch) atau

terus menerus, pergi dari tangki diaduk ke reaktor tipe kolom atau tubular. Di sisi lain, penggunaan katalisis homogen dengan enzim yang dilarutkan dalam media reaksi sebagian besar terbatas pada operasi batch dalam reaktor tangki berpengaduk, dengan beberapa pengecualian seperti pencairan pati, yang biasanya dilakukan dalam reaktor tubular yang dioperasikan terus menerus dengan amilase larut. Reaktor membran juga dapat digunakan untuk memungkinkan penggunaan enzim terlarut dalam mode operasi berkelanjutan. Konfigurasi reaktor yang paling umum diilustrasikan pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1. Konfigurasi reaktor dengan enzim amobil: (a) reaktor tangki yang diaduk batch; (b) reaktor batch resirkulasi; (c) reaktor membran tangki berpengaduk terus menerus; (d) reaktor tangki berpengaduk kontinu; (e) reaktor unggun kemasan kontinu; (f) reaktor unggun terfluidisasi kontinu.

3.2 Definisi Kondisi Ideal

Operasi dalam kondisi ideal merupakan pendekatan awal untuk evaluasi dan desain kinerja reaktor. Kondisi ideal menyiratkan:

1. Rezim aliran ideal dalam reaktor; yaitu, pencampuran lengkap (nomor Peclet = 0) dalam kasus reaktor tangki berpengaduk dan rezim aliran plug-flow (nomor Peclet = ∞) dalam kasus reaktor tipe tubular atau kolom.
2. Kondisi operasional yang terkendali dan konstan, seperti suhu dan pH.
3. Tidak ada kehilangan aktivitas selama operasi reaktor.
4. Tidak adanya batasan transfer massa dan partisi dalam kasus katalisis heterogen.

Namun, penyimpangan dari perilaku ideal tidak dapat dihindari. Hal ini dapat hasil dari satu atau lebih dari penyebab berikut:

1. Pencampuran tidak lengkap atau *backmixing*, yang akan terjadi sampai batas tertentu dalam reaktor tangki berpengaduk dan reaktor tubular (kolom), masing-masing.
2. Operasi nonisothermal, yang dihasilkan dari keterbatasan perpindahan panas dan gradien pH sebagai konsekuensi dari pencampuran yang tidak lengkap atau pembangkitan/konsumsi H_p selama reaksi.
3. Inaktivasi atau kebocoran enzim selama penggunaan katalis.
4. Pembatasan partisi atau difusi, dalam kasus katalisis heterogen.

3.3 Strategi untuk Desain Reaktor dan Evaluasi Kinerja

Pendekatan modular untuk pengembangan desain reaktor enzim atau model evaluasi kinerja dapat dipertimbangkan di mana ada dua komponen mendasar: ekspresi kinetik suara dan keseimbangan material sesuai dengan jenis reaktor dan mode operasi. Dengan dua komponen ini, persamaan dasar yang menggambarkan operasi dalam kondisi ideal dapat dikembangkan. Kondisi nonideal kemudian dapat dimasukkan dalam bentuk modul yang berkaitan dengan keterbatasan transfer massa, inaktivasi enzim dan rezim aliran nonideal. Untuk rezim aliran yang tidak ideal, pembaca yang tertarik dirujuk ke artikel yang diterbitkan oleh Leubbert dan Jørgenssen dan teks klasik tentang katalisis kimia heterogen oleh Levenspiel.

Persamaan yang menggambarkan kinerja reaktor enzim dapat digunakan baik untuk tujuan desain (menentukan ukuran reaktor untuk tugas produksi tertentu) atau untuk mengevaluasi output reaktor untuk input yang ditentukan. Apapun masalahnya, persamaan itu akan mengurangi satu jumlah derajat kebebasan dalam sistem: ini adalah beban enzim, konsentrasi substrat, dan waktu operasi (atau laju aliran, dalam kasus operasi berkelanjutan), yang merupakan variabel input; Respons output adalah konversi substrat menjadi produk. Sistem ini dengan demikian tidak sepenuhnya ditentukan dan dua derajat kebebasan akan tetap ada, yang sangat penting karena memungkinkan optimasi (biasanya dengan menyiapkan fungsi obyektif terkait biaya).

3.4 Model Matematika untuk Kinetika Enzim, Mode Operasi, dan Konfigurasi Reaktor dalam Kondisi Ideal

Konsentrasi substrat dan produk akan bervariasi selama reaksi. Karena mereka biasanya terkait dengan stoikiometri reaksi, akan lebih mudah untuk mendefinisikan variabel yang mencakup keduanya, yang merupakan konversi substrat-ke-produk (X), yang didefinisikan sebagai:

$$X = \frac{s_i - s}{s_i} = \frac{p}{n \cdot s_i} \quad (3.1)$$

Untuk reaksi ekuimolar (cukup biasa dalam reaksi yang dikatalisis enzim), $n = 1$, jadi dari Persamaan 3.1:

$$\begin{aligned} X &= \frac{s_i - s}{s_i} = \frac{p}{s_i} \\ s &= s_i(1 - X) \\ p &= s_i \cdot X \end{aligned} \quad (3.2)$$

3.4.1 Reaktor Enzim Batch

Jenis reaktor ini biasanya *Batch Stirred-Tank Reactor* (BSTR). Ketika enzim dilarutkan dalam media reaksi, operasi satu batch umumnya dilakukan, setelah itu enzim tidak aktif dan dihilangkan. Dalam kasus enzim amobil, biokatalis cukup stabil untuk dipulihkan dengan retensi konvensional setelah penghapusan produk dan kemudian digunakan dalam batch berikutnya.

a. Reaksi Substrat Tunggal

Persamaan 3.3 mewakili keseimbangan material pada reaktor:

$$v(e, X) = \frac{ds}{dt} = s_i \frac{dX}{dt} \quad (3.3)$$

$$\int_0^X \frac{dX}{v(e, X)} = \int_0^t \frac{dt}{s_i} \quad (3.4)$$

Dalam kondisi ideal, Persamaan 3.4 dapat diintegrasikan secara langsung karena aktivitas enzim konstan dan independen dari waktu reaksi. Mengintegrasikannya memberi:

$$\frac{k \cdot e}{K_M} t = \frac{m_{cat} \cdot a_{sp}}{K_M} t = f(s_i, X) \quad (3.5)$$

Persamaan 3.5 mewakili model operasi BSTR untuk reaksi substrat tunggal. $X = f(e, s_i, t)$ akan diperoleh sesuai dengan ekspresi kinetik. Persamaan 3.4 dengan X yang didefinisikan oleh Persamaan 3.2 mengarah pada pengembangan persamaan model untuk berbagai kinetika, seperti yang disajikan pada Tabel 3.1. Istilah di sisi kiri Persamaan 3.5 tidak berdimensi dan kadang-kadang disebut sebagai "waktu operasi tanpa dimensi"; Ini melibatkan aktivitas enzim dan waktu reaksi, variabel yang paling penting untuk kinerja reaktor.

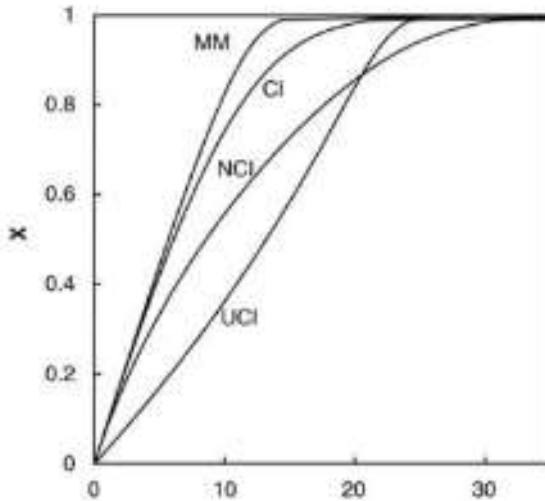
Untuk operasi batch, t mewakili waktu operasi; Untuk operasi berkelanjutan, ini mewakili waktu tinggal yang lancar.

Seperti yang ditunjukkan sebelumnya, masih ada dua derajat kebebasan, sehingga dari tiga variabel operasional (m_{cat} , t , dan s_i), dua dapat ditetapkan secara terpisah. Persamaan 4.5 dapat digunakan untuk menentukan beban enzim yang diperlukan (m_{cat}) untuk mendapatkan konversi yang diinginkan (X) dari konsentrasi substrat awal yang ditentukan (s_i) setelah waktu tertentu, atau waktu yang diperlukan untuk mencapai konversi tersebut pada beban enzim tertentu. Seperti yang terlihat dari Persamaan 3.5, untuk X dan s_i tertentu, $m_{cat} t$ akan konstan (ini jelas tidak benar jika inaktivasi enzim dipertimbangkan), yang berarti bahwa kinerja yang sama dapat diperoleh pada beban enzim yang tinggi untuk waktu reaksi yang singkat atau pada beban enzim yang rendah untuk waktu reaksi yang berkepanjangan, yang merupakan proposal yang menarik untuk optimasi karena dampak dari biaya enzim dan biaya Operasi reaktor pada total biaya operasi akan berbeda dan spesifik untuk setiap kasus tertentu. Situasi yang paling umum adalah menentukan waktu operasi sesuai dengan kenyamanan industri (yaitu 1 *batch/shift*) dan

menentukan beban enzim yang diperlukan untuk mencapai X yang diinginkan pada waktu itu.

Tabel 3.1. Model Kinerja Reaktor Enzima untuk Reaksi Substrat Tunggal

Model Kinetik	$\frac{k \cdot e}{K_M} \tau = \frac{k \cdot E}{K_M \cdot F} =$	
	CPBR atau BSTR	CSTR
M-M kinetik	$\frac{S_i}{K_M} \cdot X - \ln(1 - X)$	$\frac{S_i}{K_M} \cdot X + \frac{X}{1 - X}$
Cl oleh P	$s_i \cdot X \cdot \left[\frac{1}{K_M} - \frac{1}{K_{IC}} \right]$ $- \left[1 + \frac{S_i}{K_{IC}} \right] \ln(1 - X)$	$\frac{S_i}{K_M} \cdot X + \frac{X}{1 - X}$ $+ \frac{S_i}{K_{NC}} \cdot \frac{X^2}{1 - X}$
Total NCl oleh S	$s_i \cdot X \left[\frac{1}{K_M} - \frac{1}{K_{INC}} \right]$ $- \left[1 + \frac{S_i}{K_{INC}} \right] \ln(1 - X)$ $+ \frac{S_i^2 X^2}{2 K_M K_{INC}}$	$\frac{S_i X}{K_M} + \frac{X}{1 - X}$ $+ \frac{S_i X^2}{K_{INC} (1 - X)}$ $+ \frac{S_i^2 X^2}{K_M K_{INC}}$
Total UCl oleh S	$\frac{S_i X}{K_M}$ $- \ln(1 - X)$ $+ \frac{S_i^2 X}{K_M K_S} (1 - 0.5 \cdot X)$	$\frac{S_i \cdot X}{K_M} + \frac{X}{1 - X}$ $+ \frac{S_i^2 X}{K_M K_S} (1 - X)$
Cl oleh P ₁ dan NCl oleh P ₂	$s_i X \left[\frac{1}{K_M} - \frac{1}{K_{IC}} - \frac{1}{K_{INC}} \right]$ $- \left[1 + \frac{S_i}{K_{IC}} \right]$ $+ \frac{S_i}{K_{INC}} \ln(1 - X)$ $+ \frac{S_i^2 \cdot X^2}{2 \cdot K_M \cdot K_{INC}} \Bigg]$	$\frac{X}{1 - X}$ $+ \frac{S_i \cdot X^2}{1 - X} \cdot \left(\frac{1}{K_{IC}} \right.$ $\left. + \frac{1}{K_{INC}} \right) + \frac{S_i X}{K_M} \cdot (1$ $+ \frac{S_i \cdot X}{K_{INC}}$



$$\frac{k \cdot e}{K_M} t = \frac{m_{cat} \cdot a_{sp}}{K_M} t$$

mbar 3.2. Kinerja reaktor tangki berpengaduk batch (BSTR) di bawah kinetika yang berbeda pada si $K_M^{-1} = 10$ dan $K_M K_M^{-1} = 0.2$. MM: Kinetika Michaelis-Menten; CI: penghambatan kompetitif oleh produk, NCI: penghambatan nonkompetitif total oleh produk; UCI: penghambatan total yang tidak kompetitif oleh substrat; X: konversi substrat; k: konstanta laju katalitik; e: konsentrasi enzim; t: waktu reaksi; n K_M : Michaelis konstan; m_{cat} : konsentrasi katalis; a_{sp} : Aktivitas spesifik.

Persamaan 3,5 juga dapat digunakan sebagai persamaan desain, karena untuk massa katalis tertentu volume reaksi efektif dapat ditentukan hanya sebagai:

$$V_{eff} = \frac{m_{cat}}{m_{cat}} \quad (3.6)$$

Dan volume reaktor dapat ditentukan dengan mempertimbangkan ruang kepala dan ruang untuk internal (biasanya 20-30% dari volume reaktor dalam kasus reaktor

tangki berpengaduk). Kurva operasi untuk BSTR disajikan pada Gambar 3.2 untuk mekanisme kinetik pada Tabel 3.1.

b. Reaksi multi-substrat

Reaksi sintesis melibatkan lebih dari satu substrat (biasanya dua). Jadi untuk reaksi yang dikatalisis enzim:



keseimbangan material atas substrat A dan substrat B diwakili oleh Persamaan 3.7 dan Persamaan 3.8, masing-masing:

$$v(e, X) = - \frac{da}{dt} = a_i \frac{dX}{dt} \quad \int_0^X \frac{dX}{v(e, X)} = \int_0^t \frac{dt}{a_i} \quad (3.7)$$

$$v(e, X) = - \frac{db}{dt} = b_i \frac{dX}{dt} \quad \int_0^X \frac{dX}{v(e, X)} = \int_0^t \frac{dt}{b_i} \quad (3.8)$$

Dalam kasus A membatasi (A mengacu pada substrat pertama untuk mengikat enzim dalam mekanisme *Ordered Sequential* (OS) yang teratur):

$$a = a_i(1 - X) \quad (3.9)$$

$$b = b_i - a_i \cdot X$$

Dalam kasus pembatasan B:

$$b = b_i(1 - X) \quad (3.10)$$

$$a = a_i - b_i \cdot X$$

Dari Persamaan 3.9 atau 3.10, persamaan laju berikut diperoleh untuk OS, random sequential (RS), dan mekanisme kinetik ping-pong:

OS (A limiting)

$$V = \frac{V_{max} \cdot a_i(1-X) \cdot (b_i - a_i X)}{a_i(1-X)(b_i(1-X) + K'_{MB}) + K_{MA} \cdot K'_{MB}} \quad (3.11)$$

OS (B limiting)

$$V = \frac{V_{max} \cdot (a_i - b_i X) \cdot b_i(1-X)}{(a_i - b_i X)(K_{MA} \cdot K'_{MB})} \quad (3.12)$$

RS (A limiting)*

$$V = \frac{V_{max} \cdot a_i(1-X) \cdot (b_i - a_i X)}{a_i(1-X)(b_i - a_i X + K'_{MB}) + K'_{MA} (b_i - a_i X) + K_{MA} \cdot K'_{MB}} \quad (3.13)$$

Ping - Pong (A limiting)

$$V = \frac{V_{max} \cdot a_i(1-X) \cdot (b_i - a_i X)}{\alpha + K_{MA}(b_i - a_i X) + a_i(1-X)(K_{MB}'' + (b_i - a_i X))} \quad (3.14)$$

Ping – Pong (B limiting)

$$V = \frac{V_{max} \cdot b_i(1-X) \cdot (a_i - b_i X)}{\alpha + K_{MA} \cdot b_i(1-X) + (a_i - b_i X)(K_{MB}'' + b_i(1-X))} \quad (3.15)$$

(* Dalam hal ini, penunjukan A dan B adalah arbitrer, jadi hanya satu persamaan tarif yang cukup).

Mengganti persamaan laju ini menjadi Persamaan 3.7 atau 3.8, dan menggabungkan Persamaan 3.9 atau 3.10 sesuai dengan kasus, persamaan berikut untuk kinerja reaktor batch diperoleh:

$$\begin{aligned} OS (A \text{ limiting}) \quad & \frac{K_{MA} K_{MB}'}{a_i(b_i - a_i)} \ln \left| \frac{b_i - a_i X}{b_i(1-X)} \right| - \frac{K_{MB}'}{a_i} \ln \left| \frac{b_i - a_i X}{b_i} \right| + X = \\ & \frac{k \cdot e}{a_i} t = \frac{m_{cat} \cdot a_{sp}}{a_i} t \end{aligned} \quad (3.16)$$

$$\begin{aligned} OS (B \text{ limiting}) \quad & \frac{K_{MA} K_{MB}'}{b_i(a_i - b_i)} \ln \left| \frac{a_i - b_i X}{a_i(1-X)} \right| - \frac{K_{MB}'}{b_i} \ln(1 - X) + X = \\ & \frac{k \cdot e}{b_i} t = \frac{m_{cat} \cdot a_{sp}}{b_i} t \end{aligned} \quad (3.17)$$

$$\begin{aligned} RS (A \text{ limiting}) \quad & \frac{K_{MA} K_{MB}'}{a_i(b_i - a_i)} \ln \left| \frac{b_i - a_i X}{b_i(1-X)} \right| - \frac{K_{MB}'}{a_i} \ln \left| \frac{b_i - a_i X}{b_i} \right| - \\ & \frac{K_{MB}'}{a_i} \ln(1 - X) + X = \frac{k \cdot e}{a_i} t = \frac{m_{cat} \cdot a_{sp}}{a_i} t \end{aligned} \quad (3.18)$$

$$\begin{aligned} Ping - Pong (A \text{ limiting}) \quad & X - \frac{\alpha \cdot K_{MB}'}{a_i} \ln|1 - X| - \\ & \frac{K_{MB}^n}{a_i} \cdot \ln \left| \frac{b_i - a_i X}{b_i} \right| = \frac{k \cdot e}{a_i} t = \frac{m_{cat} \cdot a_{sp}}{a_i} t \end{aligned} \quad (3.19)$$

$$\begin{aligned} Ping - Pong (B \text{ limiting}) \quad & X - \frac{\alpha \cdot K_{MB}'}{b_i} \ln|1 - X| - \\ & \alpha \cdot \frac{K_{MB}^n}{b_i} \cdot \ln \left| \frac{a_i - b_i X}{a_i} \right| = \frac{k \cdot e}{b_i} t = \frac{m_{cat} \cdot a_{sp}}{b_i} t \end{aligned} \quad (3.20)$$

Gambar 3.3. menyajikan representasi grafis dari kinerja reaktor untuk OS (A dan B : *limiting*) dan kinetika RS.

3.4.2 Reaktor Enzim Kontinyu

Imobilisasi enzim ke dukungan yang tidak larut memungkinkan pengembangan proses berkelanjutan. Pada prinsipnya, ini lebih produktif daripada proses batch karena insiden waktu tidak produktif yang lebih rendah. Enzim harus sangat stabil untuk mengembangkan proses berkelanjutan, dan ini dapat dicapai dengan imobilisasi. Dalam bab ini, reaktor tangki berpengaduk kontinu (CSTR: *Continuous Stirred-Tank Reactors*) dan reaktor unggun kemasan kontinu (CPBR: *Continuous Packed-Bed Reactors*) akan dianalisis berdasarkan rezim aliran ideal: pencampuran sempurna dalam kasus CSTR dan aliran steker dalam kasus CPBR.

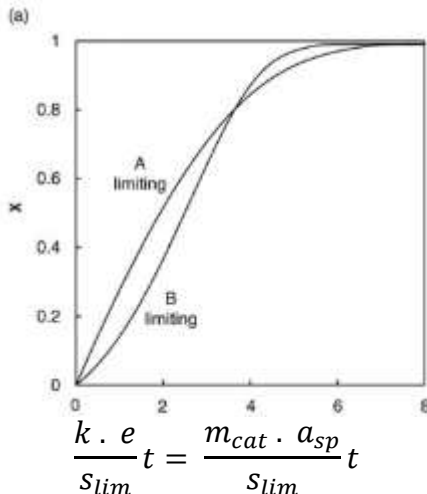
a. Reaktor Packed-Bed Berkelanjutan

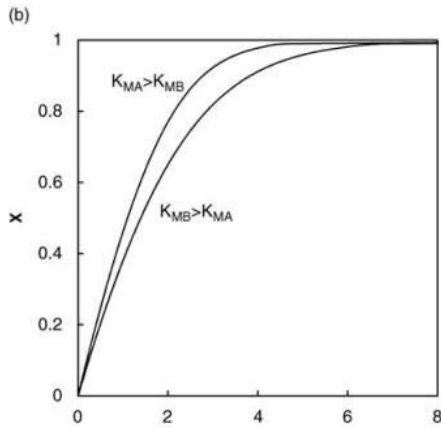
Persamaan untuk kinerja CPBR diperoleh dari keseimbangan material pada elemen diferensial unggun katalis:

$$\int \left(\frac{dX}{v(e,X)} \right) = \frac{\tau}{s_i} \quad (3.21)$$

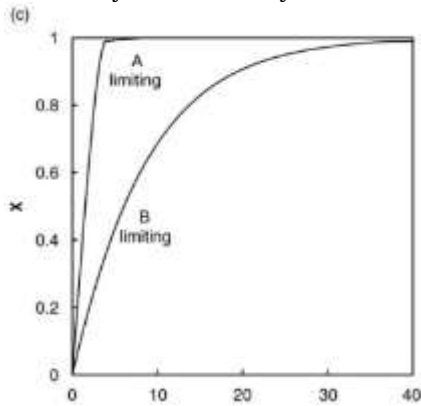
Dimana:

$$\tau = \frac{V_{eff} \cdot \varepsilon}{F} \quad (3.22)$$





$$\frac{k \cdot e}{a_i} t = \frac{m_{cat} \cdot a_{sp}}{a_i} t$$



$$\frac{k \cdot e}{s_{lim}} t = \frac{m_{cat} \cdot a_{sp}}{s_{lim}} t$$

Gambar 3.3. Kinerja reaktor tangki berpengaduk batch untuk: (a) Mekanisme OS. Limiting Konsentrasi substrat ($s_{lim} = a_i$ atau b_i) = 1 mM, substrat dalam konsentrasi berlebih (b_i atau a_i) = 5 mM, dengan $K_{MA} = 0.5$ mM; $K'_{MB} = 8$ mM. (b) Mekanisme RS. $a_i = 1$ mM, $b_i = 5$ mM, dengan

$K_{MA} = 1 \text{ mM}$, $K_{MB} = 2 \text{ mM}$, $K'_{MA} = 0.5 \text{ mM}$, dan $K'_{MB} = 1 \text{ mM}$ ($K_{MB} > K_{MA}$); dan dengan $K_{MA} = 2 \text{ mM}$, $K_{MB} = 1 \text{ mM}$, $K'_{MA} = 1 \text{ mM}$, dan $K'_{MB} = 0.5 \text{ mM}$ ($K_{MA} > K_{MB}$). (c) Mekanisme Ping-pong. Limiting konsentrasi substrat ($s_{lim} = a_i$ atau b_i) = 1 mM, substrat dalam konsentrasi berlebih (b_i atau a_i) = 5 mM, dengan $K_{MA} = 0.5 \text{ mM}$, $K''_{MB} = 8$, and $\alpha = 0.5$.

Fraksi kosong (ϵ) adalah fraksi dari volume unggun kemasan yang ditempati oleh media reaksi; Nilai biasa adalah antara 40 dan 60%. Dalam hal ini, e mewakili konsentrasi enzim yang mengacu pada volume cairan. Dalam kondisi ideal, Persamaan 3,21 dapat diintegrasikan secara langsung, karena aktivitas enzim konstan dan tidak tergantung pada waktu reaksi. Mengintegrasikan Persamaan 3.21 memberikan:

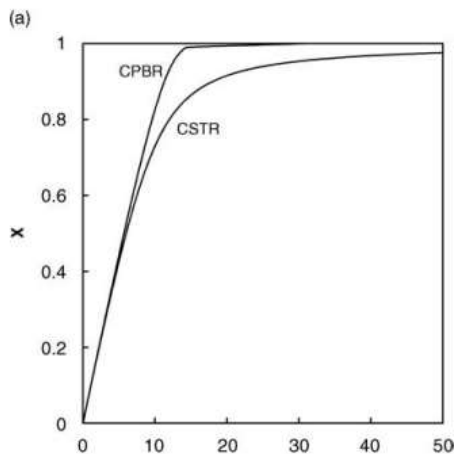
$$\frac{k \cdot e}{K_M} \tau = \frac{k \cdot E}{K_M \cdot F} \tau = \frac{M_{cat} \cdot a_{sp}}{K_M \cdot F} = f(s_i, X) \quad (3.23)$$

Persamaan 3.23 mewakili model operasi CPBR untuk reaksi substrat tunggal. $X = f(M_{cat}, F)$ akan diperoleh sesuai dengan ekspresi kinetik. Menyelesaikan Persamaan 3.23 dengan X yang didefinisikan oleh Persamaan 3.2 akan menghasilkan persamaan model untuk kinetika yang berbeda yang disajikan pada Tabel 3.1. Perhatikan dalam hal ini bahwa untuk X dan s_i tertentu, $M_{cat} \cdot F^{-1}$ akan konstan, yang berarti bahwa fluks substrat yang akan diproses berbanding lurus dengan beban enzim dalam reaktor, yang, seperti untuk reaktor batch, akan memungkinkan optimalisasi operasi dalam hal biaya.

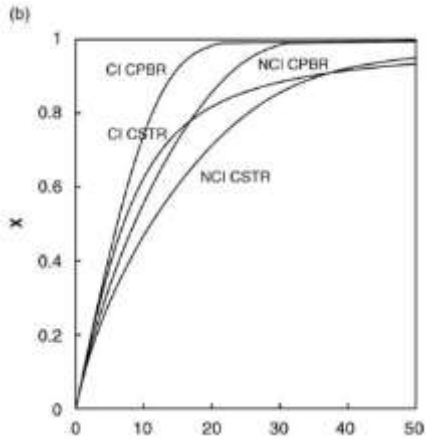
Persamaan 3,23 juga dapat digunakan sebagai persamaan desain, karena ukuran reaktor ditentukan oleh volume unggun biokatalis, yang secara langsung tergantung pada massa biokatalis:

$$V_{bed} = \frac{M_{cat}}{\rho_{app}} \quad (3.24)$$

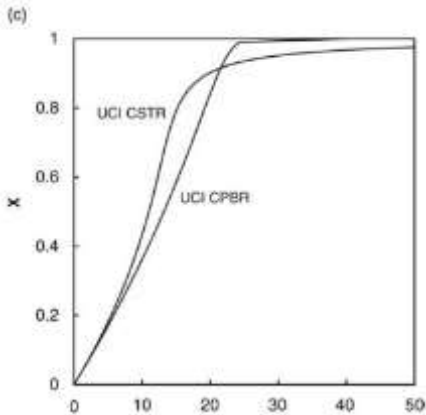
Seperti dapat dilihat pada Tabel 3.1, persamaan untuk BSTR dan CPBR secara formal sama, meskipun makna fisiknya berbeda, t sesuai dengan waktu operasi di yang pertama dan dengan waktu tinggal fluida di yang terakhir. Namun, ada kesamaan yang mencolok: profil substrat yang berkembang seiring waktu di BSTR analog dengan yang berkembang di seluruh lapisan katalis di CPBR. Kinerja CPBR dan CSTR untuk kinetika reaksi substrat tunggal ditunjukkan pada Gambar 3.4. Untuk kinetika Michaelis–Menten (Gambar 3.4a), kinerja CPBR lebih baik daripada CSTR (untuk X yang diberikan, M_{cat} yang lebih rendah diperlukan atau F yang lebih tinggi dapat diproses, atau X yang lebih tinggi diperoleh untuk rasio $M_{cat} \cdot F^{-1}$ yang diberikan). Perbedaan bahkan lebih tinggi dalam kasus penghambatan produk (Gambar 3.4b), CSTR bekerja pada kondisi yang paling tidak menguntungkan untuk enzim (ρ lebih tinggi, s lebih rendah). Dalam kasus penghambatan pada s tinggi (Gambar 3.4c), konfigurasi terbaik akan tergantung pada kondisi operasi.



$$\frac{M_{cat} \cdot a_{sp}}{F \cdot K_M}$$



$$\frac{M_{cat} \cdot a_{sp}}{F \cdot K_M}$$



$$\frac{M_{cat} \cdot a_{sp}}{F \cdot K_M}$$

Gambar 3.4. Kinerja continuous packed-bed reactor (CPBR) dan continuous stirred-tank reactor (CSTR) di bawah kinetika yang berbeda pada $s_i \cdot K_M^{-1} = 10$ dan $K_M \cdot K_l^{-1} = 0.2$. (a) Kinetika Michaelis-Menten; (b)

penghambatan kompetitif (CI) dan total nonkompetitif (NCI) oleh produk; (c) penghambatan total tidak kompetitif (UCI) oleh substrat. X: konversi substrat; k: konstanta laju katalitik; e: konsentrasi enzim; t: waktu reaksi K_M : Michaelis konstan; M_{cat} : massa katalis; a_{sp} : aktivitas spesifik; F: laju aliran pakan; s_i : konsentrasi substrat awal; K_i : konstanta penghambatan.

Untuk reaksi sintesis dengan dua substrat:



keseimbangan material pada substrat pembatas (A atau B) mengarah ke:

$$\int \left(\frac{dX}{v(e,X)} \right) = \frac{\tau}{a_i} \quad (3.25)$$

$$\int \left(\frac{dX}{v(e,X)} \right) = \frac{\tau}{b_i} \quad (3.26)$$

Persamaan untuk OS, RS, dan mekanisme reaksi ping-pong analog dengan Persamaan 3,16 hingga 3,20:

$$\begin{aligned} OS (A \text{ limiting}) \quad & \frac{K_{MA}K'_{MB}}{a_i(b_i-a_i)} \ln \left| \frac{b_i-a_iX}{b_i(1-X)} \right| - \frac{K'_{MB}}{a_i} \ln \left| \frac{b_i-a_iX}{b_i} \right| + X = \\ & \frac{k \cdot e}{a_i} t = \frac{M_{cat} \cdot a_{sp}}{a_i \cdot F} t \end{aligned} \quad (3.27)$$

$$\begin{aligned} OS (B \text{ limiting}) \quad & \frac{K_{MA}K'_{MB}}{b_i(a_i-b_i)} \ln \left| \frac{a_i-b_iX}{a_i(1-X)} \right| - \frac{K'_{MB}}{b_i} \ln(1-X) + X = \\ & \frac{k \cdot e}{b_i} t = \frac{M_{cat} \cdot a_{sp}}{b_i \cdot F} t \end{aligned} \quad (3.28)$$

$$\begin{aligned} RS (A \text{ limiting}) \quad & \frac{K_{MA}K'_{MB}}{a_i(b_i-a_i)} \ln \left| \frac{b_i-a_iX}{b_i(1-X)} \right| - \frac{K'_{MB}}{a_i} \ln \left| \frac{b_i-a_iX}{b_i} \right| - \\ & \frac{K'_{MB}}{a_i} \ln(1-X) + X = \frac{k \cdot e}{a_i} t = \frac{M_{cat} \cdot a_{sp}}{a_i \cdot F} t \end{aligned} \quad (3.29)$$

$$\begin{aligned}
 \text{Ping - Pong (A limiting)} \quad X - \frac{\alpha \cdot K'_{MB}}{a_i} \ln|1 - X| - \\
 \frac{K_{MB}^n}{a_i} \cdot \ln \left| \frac{b_i - a_i X}{b_i} \right| = \frac{k \cdot e}{a_i} t = \frac{m_{cat} \cdot a_{sp}}{a_i} t
 \end{aligned}
 \quad (3.30)$$

$$\begin{aligned}
 \text{Ping - Pong (B limiting)} \quad X - \frac{\alpha \cdot K'_{MB}}{b_i} \ln|1 - X| - \\
 \alpha \cdot \frac{K_{MB}^n}{b_i} \cdot \ln \left| \frac{a_i - b_i X}{a_i} \right| = \frac{k \cdot e}{b_i} t = \frac{M_{cat} \cdot a_{sp}}{b_i \cdot F} t
 \end{aligned}
 \quad (3.31)$$

b. Reaktor Tangki Berpengaduk Terus Menerus

Dalam operasi CSTR yang ideal, setiap elemen fluida di dalam reaktor akan memiliki komposisi yang sama, sesuai dengan outlet reaktor. Jadi persamaan untuk kinerja CSTR diperoleh dari keseimbangan material di seluruh reaktor, ekspresi kinetik dievaluasi pada kondisi outlet:

$$\frac{X}{v(e,X)} = \frac{\tau}{s_i} \quad (3.32)$$

Dalam hal ini, volume katalis biasanya kurang dari 10% dari volume reaksi, jadi ε lebih dari 90%.

Persamaan 3.32 dapat direpresentasikan sebagai:

$$\frac{k \cdot e}{K_M} \tau = \frac{k \cdot E}{K_M \cdot F} \tau = \frac{M_{cat} \cdot a_{sp}}{K_M \cdot F} = f(s_i, X) \quad (3.33)$$

Persamaan 3,33 mewakili model operasi CSTR. Persamaan model kinerja CSTR untuk kinetika reaksi substrat tunggal yang berbeda disajikan pada Tabel 3.1. Persamaan 3,33 juga dapat digunakan sebagai persamaan desain, karena ukuran reaktor akan ditentukan dari konsentrasi katalis dalam reactor:

$$V_{eff} = \frac{M_{cat}}{m_{cat}} \quad (3.34)$$

Konsentrasi katalis akan dibatasi oleh kendala hidrodinamik dan pemeliharaan integritas katalis; dalam praktiknya, konsentrasi yang lebih tinggi dari 100 g.L⁻¹ sulit ditangani.

Untuk reaksi sintesis dengan dua substrat:



keseimbangan material pada substrat pembatas (A atau B) mengarah ke:

$$\frac{dX}{v(e,X)} = \frac{\tau}{a_i} \quad (3.35)$$

$$\frac{dX}{v(e,X)} = \frac{\tau}{b_i} \quad (3.36)$$

Mengganti ekspresi laju untuk mekanisme yang berbeda (Persamaan 3.11 hingga 3.15) dalam Persamaan 3.35 atau 3.36 memberikan:

$$OS (A \text{ limiting}) \quad X \left[\frac{K_{MA}K'_{MB}}{a_i(1-X)(b_i-a_iX)} + \frac{K'_{MB}}{(b_i-a_iX)} + 1 \right] = \frac{k \cdot e}{a_i} t = \frac{M_{cat} \cdot a_{sp}}{a_i \cdot F} t \quad (3.37)$$

$$OS (B \text{ limiting}) \quad X \left[\frac{K_{MA}K'_{MB}}{b_i(1-X)(a_i-b_iX)} + \frac{K'_{MB}}{b_i(1-X)} + 1 \right] = \frac{k \cdot e}{b_i} t = \frac{M_{cat} \cdot a_{sp}}{b_i \cdot F} t \quad (3.38)$$

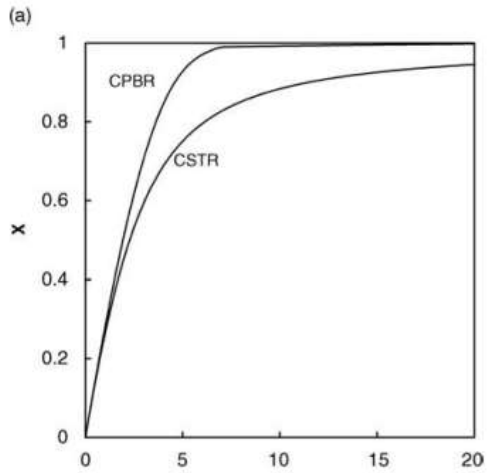
$$RS (A \text{ limiting}) \quad X \left[\frac{K_{MA}K'_{MB}}{a_i(1-X)(b_i-a_iX)} + \frac{K'_{MB}}{(b_i-a_iX)} + \frac{K'_{MB}}{a_i(1-X)} + 1 \right] = \frac{k \cdot e}{a_i} t = \frac{M_{cat} \cdot a_{sp}}{a_i \cdot F} t \quad (3.39)$$

$$Ping - Pong (A \text{ limiting}) \quad X \left[\frac{K_{MA}K'_{MB}}{a_i(1-X)(b_i-a_iX)} + \frac{K'_{MB}}{(b_i-a_iX)} + 1 \right] = \frac{k \cdot e}{a_i} t = \frac{M_{cat} \cdot a_{sp}}{a_i \cdot F} t \quad (3.40)$$

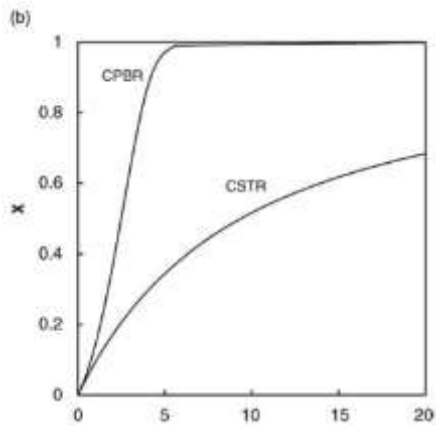
$$Ping - Pong (B \text{ limiting}) \quad X \left[\frac{K_{MA}K'_{MB}}{b_i(1-X)(a_i-b_iX)} + \frac{K'_{MB}}{b_i(1-X)} + 1 \right] = \frac{k \cdot e}{b_i} t = \frac{M_{cat} \cdot a_{sp}}{b_i \cdot F} t \quad (3.41)$$

Kinerja CPBR dan CSTR diberikan pada Gambar 3.5 untuk mekanisme OS (Gambar 3.5a dan b), RS (Gambar 3.5c), dan ping-pong (Gambar 3.5d). Seperti dalam kasus kinetika reaksi substrat

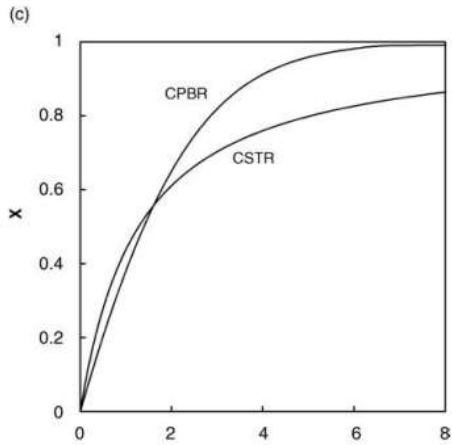
tunggal, kinerja CPBR lebih baik daripada kinerja CSTR untuk mekanisme berurutan dalam kasus reaksi dua substrat.



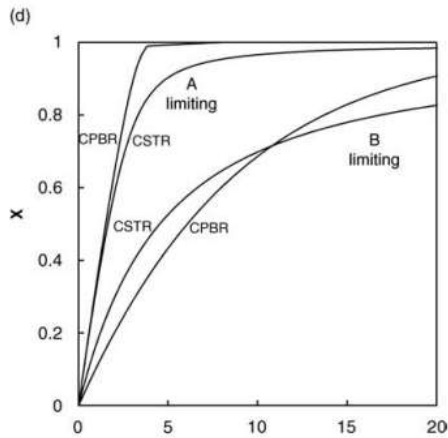
$$\frac{M_{cat} \cdot a_{sp}}{a_i \cdot F}$$



$$\frac{M_{cat} \cdot a_{sp}}{b_i \cdot F}$$



$$\frac{M_{cat} \cdot a_{sp}}{a_i \cdot F}$$



$$\frac{M_{cat} \cdot a_{sp}}{s_{lim} \cdot F}$$

Gambar 3.5. Kinerja continuous packed-bed reactor (CPBR) dan continuous stirred-tank reactor (CSTR) untuk: (a) Mekanisme OS pada $a_i = 1$ mM dan $b_i = 5$ mM

(pembatas substrat A), dengan $K_{MA} = 0.5 \text{ mM}$ and $K'_{MB} = 8$. (b) Mekanisme OS pada $a_i = 5 \text{ mM}$, $b_i = 1 \text{ mM}$ (pembatasan substrat B), dengan $K_{MA} = 0.5 \text{ mM}$ dan $K'_{MB} = 8$. (c) Mekanisme RS pada $a_i = 1 \text{ mM}$, $b_i = 5 \text{ mM}$, dengan $K'_{MA} = 2 \text{ mM}$, $K'_{MB} = 1 \text{ mM}$, $K'_{MA} = 1 \text{ mM}$, dan $K'_{MB} = 0.5 \text{ mM}$. (d) Mekanisme pingpong pada pembatasan konsentrasi substrat ($S_{lim} = a_i$ atau b_i) = 1 mM, substrat dalam konsentrasi berlebih (b_i atau a_i) = 5 mM dengan $K_{MA} = 0.5 \text{ mM}$, $K''_{MB} = 8$, dan $\alpha = 0.5$.

DAFTAR PUSTAKA

- Hari Krishna, S. 2002. Developments and trends in enzyme catalysis in nonconventional media. *Biotechnology Advances*, 20, 239–267.
- Illanes, A. 1999. Stability of biocatalysts. *Electronic Journal of Biotechnology*, 2 (1), 7–15.
- Kirk, O., Borchert, T.V., and Fuglsang, C. C. 2002. Industrial enzyme applications. *Current Opinion in Biotechnology*, 13, 345–351.
- L€ubbert, A. and Jørgenssen, S. 2001. Bioreactor performance: a more scientific approach for practice. *Journal of Biotechnology*, 85, 187–212.
- Levenspiel, O. 1999. *Chemical Reaction Engineering*, 3rd edn, Wiley, New York.
- Mateo, C., Palomo, J.M., Fernandez-Lorente, G. et al. 2007. Improvement of enzyme activity, stability and selectivity via immobilization techniques. *Enzyme and Microbial Technology*, 40, 1451–1463.
- Nestl, B.M., Nebel, B.A., and Hauer, B. 2011. Recent progress in industrial biocatalysis. *Current Opinion in Chemical Biology*, 15, 187–193.
- vanBeilen, J.B. and Li, Z. 2002. Enzyme technology: an overview. *Current Opinion in Biotechnology*, 13, 338–344.
- Vandamme, E. J. 1988. Immobilized biocatalyst and antibiotic production. biochemical, genetic, and biotechnical aspects, in *Bioreactor Immobilized Enzymes and Cells: Fundamentals and Applications* (ed. M Moo-Young), Elsevier, New York, USA, pp. 261–286.

BAB 4

IMOBILISASI ENZIM

Oleh Marta Tika Handayani

4.1 Pendahuluan

Imobilisasi enzim merupakan salah satu terobosan baru dan menarik perhatian para industri terutama pengguna enzim. Hal ini karena dengan imobilisasi enzim, enzim tersebut dapat digunakan berulang kali tanpa harus melakukan pemurnian terlebih dahulu. Umumnya, penggunaan enzim pada industri yaitu dengan menambahkan enzim pada substrat dan dibiarkan bereaksi hingga target yang ditentukan tercapai. Enzim akan dinonaktifkan dengan cara dipanaskan atau diubah pH pada sistem setelah selesai digunakan. Hal ini membuat penggunaan enzim hanya sekali dan perlu dimurnikan jika ingin menggunakannya lagi. Pemurnian enzim memakan biaya yang sangat mahal. Oleh sebab itu, imobilisasi enzim terus dikembangkan terutama oleh para industri yang menggunakan enzim.

Imobilisasi enzim yang biasa dilakukan oleh industri adalah membuat matriks yang tidak larut air dan merangkap enzim didalamnya (Johnson, 1978). Imobilisasi enzim dapat diartikan sebagai enzim yang diperangkap pada matriks tertentu tanpa menghilangkan aktivitas katalitiknya, dan penggunaan enzim secara berulang (Chibata, 1978). Imobilisasi enzim merupakan suatu metode pelumpuhan enzim. Imobilisasi juga dapat didefinisikan sebagai pengurungan molekul enzim dalam matriks atau pendukung padat atas substrat dengan cara mempertahankan aktivitas penuhnya. Enzim terimobilisasi diartikan sebagai enzim yang terlokalisasi atau terikat secara fisik ataupun kimia dengan

tetap mempertahankan aktivitas katalitiknya dan dapat digunakan secara berulang dan kontinu.

Beberapa manfaat imobilisasi enzim adalah sebagai berikut (Payne *et al.*, 1992 dan Wang *et al.*, 1979):

1. Enzim digunakan berulang dan secara kontinyu
2. Enzim mudah terpisah dari produk
3. Menghemat biaya
4. Enzim tidak dipengaruhi oleh produk
5. Pengendalian enzim lebih mudah
6. Enzim lebih resisten terhadap keadaan ekstrim
7. Uji analisis dapat menggunakan enzim tersebut
8. Meningkatkan daya guna

Sedangkan kelemahan imobilisasi enzim adalah:

1. Biaya dan proses imobilisasi lumayan besar
2. Karakteristik enzim mengalami perubahan
3. Dapat membatasi transfer massa (problem dengan kofaktor dan regenerasi, serta problem dengan sistem multienzim)
4. Imobilisasi dapat menghilangkan aktivitas enzim
5. Hambatan pada proses difusi baik substrat maupun produk yang terbentuk
6. Untuk sel yang hidup, pertumbuhan dan evolusi gas sering merusak matriks pendukung yang terimobilisasi
7. pH optimum akan bergeser karena adanya perubahan elektron/muatan listrik pada matriks

4.2 Metode Imobilisasi Enzim

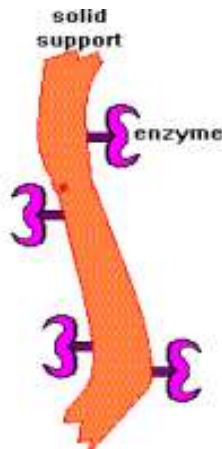
Metode imobilisasi enzim terus berkembang. Beberapa metode yang terus mengalami perkembangan, antara lain metode *carrier-binding*, *cross-linking*, dan *entrapment*. Adapun penjelasan dari masing-masing metode tersebut adalah sebagai berikut:

4.2.1 Metode Carrier-binding

Metode Carrier-binding ini dibagi atas dua cara, yaitu Adsorpsi dan Covalent -binding. Adapun penjelasan dari masing-masing cara pengikatan adalah sebagai berikut:

1. Adsorpsi

Imobilisasi enzim dengan adsorpsi dapat dicapai dengan menempelkan enzim ke pendukung melalui ikatan lemah seperti ikatan van der Waals, interaksi hidrofobik, atau ikatan hidrogen. Metode ini paling sederhana dan murah dibandingkan metode lainnya, selain itu metode ini tidak menyebabkan kehilangan aktivitas enzim yang besar (Tan *et al.*, 2010). Kelemahan dari metode ini adalah lemahnya adhesi antara enzim dan pendukung. Enzim yang diimobilisasi dengan cara ini kurang stabil untuk mencegah desorpsi dari pembawa karena kekuatan pengikatannya lemah. Ketika pH atau kekuatan ion berubah, imobilisasi enzim dapat bocor. Enzim yang toleran terhadap produk tidak direkomendasikan untuk digunakan dengan metode ini (Knezevic *et al.*, 2004).



Gambar 4.1. Imobilisasi Enzim dengan metode Adsorpsi Fisik. Sumber: University of Saskatchewan, 2008

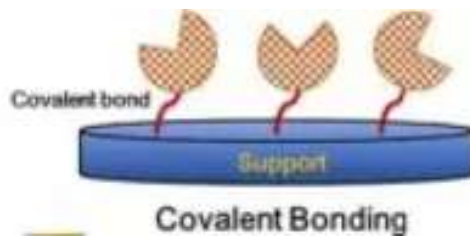
Ilustrasi imobilisasi enzim dapat dilihat pada gambar 1. Beberapa support atau carrier yang biasa digunakan untuk cara adsorpsi fisik adalah sebagai berikut: karbon aktif, gelas porous, tanah liat, kaolinit, alumina, silika gel, bentonit, hidroksi apatit, gel Ca-fosfat, pati, gluten, buti sefarosa, dan concana valin A. Senyawa lain yang biasa digunakan sebagai berikut : bentonit, silika gel, zeolit, kitosan, dan alumina. Filtrasi ataupun sentrifugasi merupakan metode yang digunakan untuk memisahkan enzim dan matriks (Suhartono, 1989). Faktor pemilihan carrier atau matriks adalah ukuran partikel, diameter pori dan luas permukaan.

2. Covalent-binding

Ikatan kovalen adalah cara enzim ikatan kimia. Metode imobilisasi yang umum digunakan adalah ikatan kovalen. Metode imobilisasi ini memiliki ikatan yang lebih kuat antara matriks dan enzim dibandingkan dengan imobilisasi fisik (El-Ghaffar dan Hashem, 2010). Ikatan yang terjadi adalah ikatan yang menggunakan residu asam amino non esensial pada enzim, seperti gugus α -, β -, atau γ -karboksil, gugus α -, β -, fenil, hidroksil, sulfhidril, atau imidazol dari suatu gugus amino yang dikelompokkan dengan kelompok fungsional. pembawa bahan, untuk diaktifkan sebelum ditambahkan ke enzim (Lee, 2001).

Matriks umum umumnya digunakan dalam bentuk matriks anorganik atau organik. Matriks yang umum digunakan termasuk alumina, oksida logam, baja tahan karat dan porglass terkontrol (CPG), selulosa, pati, kitin, sepharose, dan polimer sintetik. Matriks tanpa gugus aktif tetapi dengan gugus hidroksi, amino, amida dan karboksil dapat diaktifkan untuk melumpuhkan enzim. Ikatan kovalen dibentuk oleh jembatan molekul aktif seperti CNBr dan reagen bi- atau multifungsi seperti glutaraldehid (Knezevic *et al.*, 2004).

Ikatan kovalen memiliki beberapa keunggulan, seperti B. meningkatkan stabilitas enzim dan kemampuan bercampur dengan larutan; ikatan yang kuat cukup kuat. Kelemahan metode ini adalah kondisi reaksi yang relatif rumit dan efisiensi proses imobilisasi yang rendah, karena aktivitas enzim dapat hilang jika terjadi perubahan konformasi. Gambar 2 menunjukkan contoh metode pengikatan kovalen dari imobilisasi enzim.



Gambar 4.2. Ikatan Kovalen

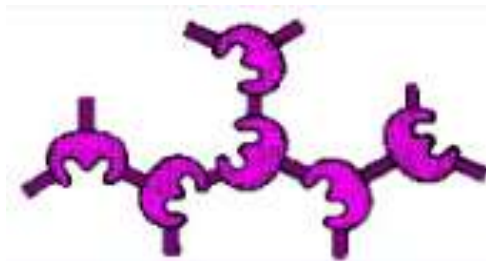
Sumber: Google

4.2.2 Metode Cross-linking

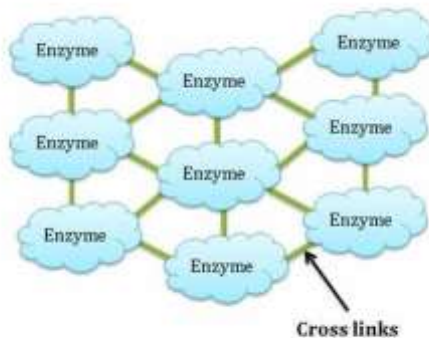
Metode imobilisasi ini membentuk ikatan silang antarmolekul antara molekul enzim dan reagen bifungsional atau multifungsi. Glutaraldehida adalah reagen yang umum digunakan. Selain itu, turunan bis-diazobenzidine juga umum digunakan. Gugus fungsi yang terlibat dalam reaksi ini adalah gugus amino dari asam amino akhir, gugus lisin, gugus fenolik tirosin, gugus sulfhidril dari sistem, dan imidazol dan histidin. Diisositianat heksametalik merupakan bahan atau pendukung padat yang umum digunakan dan bereaksi dengan enzim membentuk ikatan peptida (Palmer, 1991). Enzim yang diimobilisasi dengan cara ini biasanya seperti gel, sehingga sulit untuk ditangani.

Enzim dapat diimobilisasi sebagai bagian dari kopolimerisasi dengan anhidrida maleat dan etilena, yang sebelumnya telah direaksikan dengan etilendiamin. Metode ini

tidak menggunakan matriks yang tidak larut dalam air, tetapi imobilisasi didasarkan pada pembentukan ikatan kimia antara molekul enzim melalui reaksi multifungsi. Cara ini dapat menyebabkan perubahan bentuk molekul enzim. Hal ini dapat menurunkan aktivitas enzim. Untuk meningkatkan stabilitas enzim, kombinasi metode ikatan silang dan adsorpsi sering digunakan. Gambar 4.3 dan 4.4 menunjukkan contoh metode imobilisasi enzim menggunakan metode ikatan silang.



Gambar 4.3. Metode Imobilisasi Enzim dengan Cross-linking
Sumber : Hartoto, 2008



Cross Linking (Copolymerization)
Enzyme Immobilization

www.easybiologyclass.com

Gambar 4.4. Metode Imobilisasi Enzim dengan Cross-linking
Sumber: www.easybiologyclass.com

Keuntungan dari metode ini adalah hanya dapat diterapkan pada enzim yang tidak bergerak dan reaksi silang mudah terjadi. Kerugiannya adalah dalam keadaan gelatin, kemampuan enzim untuk bekerja dalam kondisi yang sesuai untuk zat pengikat silang menjadi lemah. Perlu diperhatikan adanya kondisi yang sesuai, yaitu pH, konsentrasi ion, suhu, dll. Enzim yang memanfaatkan teknologi ini adalah kelompok isomerase glukosa. Di industri, penisilin asilase, EC 3.5.1.11, digunakan secara luas. Mendukung metode pengikatan / pengikatan bantalan. Metode adsorpsi fisik

Dalam metode ini, enzim diimobilisasi dengan ikatan hidrogen, van der Waals, dan sifat hidrofobik dari penyangga padat. Metode ini didasarkan pada adsorpsi fisik protein enzim pada permukaan pembawa yang tidak larut dalam air. Kelemahan dari metode ini adalah enzim yang diserap dapat bocor selama penggunaan karena kekuatan ikatan antara protein enzim dan pembawa lemah dan enzim mudah rusak oleh enzim protease dan mikroorganisme. Contoh pembawa adsorpsi fisik adalah: Arang Aktif, Hidroksiapatit, Kaca Berpori, Gel Ca-Fosfat, Tanah Liat, Pati, Kaolin, Gluten, Alumina, Butil Sepharosa, Gel Silika, Concana-Valine A, Bentonit.

4.2.3 Metode Penjebakan (*Entrapment*)

Pada metode imobilisasi atau pemblokiran, enzim ditempatkan pada kisi-kisi gel atau polimer semipermeabel (mikrokapsul). Metode penangkapan ini bergantung pada porositas matriks yang rendah yang menahan enzim dalam matriks dan memungkinkan difusi substrat atau produk. Bahan matriks yang dapat digunakan antara lain polimer alami seperti alginat (Moon *et al.*, 2005), gelatin, karagenan (Devi *et al.*, 2010) dan kitosan (Neau *et al.*, 2002). Keuntungan dari matriks ini adalah tidak beracun, biokompatibel, dan dapat terurai secara hayati.

Masalah kebocoran dan difusi adalah masalah dengan metode ini. Pembatasan difusi dapat mengurangi aktivitas enzim

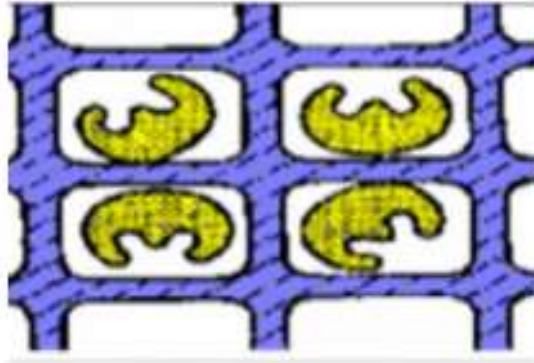
amobil. Salah satu cara untuk mengurangi masalah ini adalah dengan mengurangi ukuran partikel, meningkatkan porositas, dan mengoptimalkan distribusi enzim di dalam bead. Hal ini membuat diameter manik menjadi parameter penting saat menggunakan manik hidrogel untuk membantu imobilisasi enzim (Knezevic, 2004).

Ada dua metode enkapsulasi, yaitu teknik matriks dan teknik mikrokapsul. Di bawah ini adalah penjelasan dari masing-masing teknik akuisisi atau metode penutupan.

1. Teknik Matriks

Enzim terperangkap dalam gel matriks dengan membentuk gel dalam larutan berair yang mengandung satu jenis enzim. Matriks yang umum digunakan termasuk kalsium alginat, kappa-karaginan, resin dan poliakrilamida. Akrilamida membentuk poliakrilamida. Selulosa triasetat dan polimer lainnya adalah serat yang biasa digunakan.

Keuntungan dari teknik ini adalah struktur asli dari enzim yang sesuai tidak dimodifikasi secara fisik. Enzim dalam teknik ini tidak terikat pada bahan pendukung, sehingga tidak terjadi pembentukan enzim atau inaktivasi enzim. Kemungkinan terbentuknya kompleks enzim-substrat sangat rendah karena enzim tidak berada pada permukaan bahan pembawa. Gambar 4.5 mengilustrasikan imobilisasi enzim dalam teknik matriks.



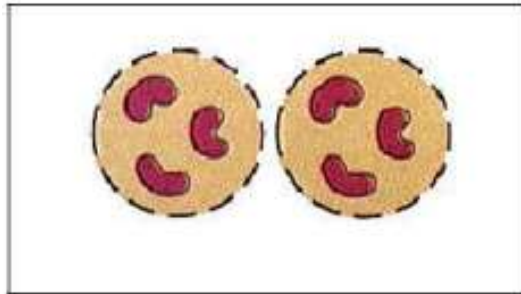
Gambar 4.5. Imobilisasi enzim dengan teknik matriks

Sumber: Crueger, 1984

Kerugian dari teknik ini adalah ukuran pori-pori terlalu besar sehingga terjadi kebocoran yang kontinue, jeratan gel tidak kuat karena interaksi substrat dan enzim kurang, dan terbentuknya zat-zat radikal bebas pada reaksi polimerisasi sehingga aktivitas enzim hilang (Judoamidjojo, 1990).

2. Teknik Mirokapsul

Enzim juga dapat dimasukkan dalam mikrokapsul yang terbuat dari nilon semipermeabel butiran tipis atau membran koloidon. Kerugian dari teknik ini adalah selama pembentukan mikrokapsul terjadi inaktif enzim, membutuhkan konsentrasi yang besar untuk mikrokapsul, dan dapat bergabung antara enzim dan dinding membran (Crueger, 1984). Ilustrasi pengebakan teknik mikrokapsul dapat dilihat pada Gambar 4.6 dan 4.7.



Gambar 4.6. Penjebakan teknik mikrokapsul
Sumber : Crueger, 1984



Gambar 4.7. Imobilisasi enzim dengan teknik mikrokapsul
Sumber : www.easybiologyclass.com

4.3 Perubahan Sifat Enzim Terimobilisasi

Enzim yang diimobilisasi dapat mengalami perubahan aktivitas, pH optimal, dan stabilitas. Ada dua perubahan aktivitas enzim yang diimobilisasi, yaitu aktivitas relatif dan aktivitas spesifik absolut. Penurunan aktivitas enzim dapat disebabkan adanya matriks yang mencegah interaksi antara enzim dengan substrat dan kemungkinan terbentuknya gugus reaktif pada sisi aktif enzim yang terikat pada matriks dan kemungkinan enzim tersebut. denaturasi pH optimum enzim amobil dapat berubah

karena distribusi ion H, ion OH dan muatan substrat yang tidak merata. Stabilitas enzim (stabilitas aktivitas/ $t_{1/2}$ (waktu paruh)) adalah waktu di mana enzim kehilangan 50% aktivitas enzim aslinya. Kestabilan operasional enzim ditentukan oleh jenis enzim, metode imobilisasi dan jenis bioreaktor (reaktor atau reaktor kontinyu). V_1 (aktivitas relatif) = perbandingan aktivitas enzim terimobilisasi versus aktivitas enzim terlarut dalam jumlah yang sama V_2 (aktivitas spesifik absolut) = kecepatan reaksi per satuan berat atau volume semua katalis.

Imobilisasi enzim berarti enzim tidak dapat bergerak bebas karena interaksi fisik atau kimia dengan bahan pendukung. Imobilisasi enzim menawarkan beberapa keuntungan yang baik. Enzim pada awalnya memiliki kelemahan atau keterbatasan seperti stabilitas termal yang buruk, kisaran pH rendah, kepekaan terhadap lingkungan, dan hilangnya aktivitas katalitik setelah satu proses (S, N, dan N). G, 2012; Jesionowski & Krajewska, 2014). Setelah imobilisasi, enzim dapat meningkatkan selektivitas, spesifisitas, penyimpanan dan stabilitas enzim terhadap agen denaturasi seperti: panas, pH ekstrim dan pelarut organik (Barbosa, 2013).

4.4 Faktor Pemilihan Metode Imobilisasi

Pemilihan metode imobilisasi enzim menjadi penting karena dapat mempengaruhi kinerja enzim yang diimobilisasikan. Salah dalam pemilihan metode imobilisasi akan mempengaruhi aktivitas enzim. Berikut beberapa faktor pemilihan metode imobilisasi : Sifat bahan, reaksi kimia yang terjadi, biaya, stabilitas kimia-fisik reaktan dan biokatalis, hasil dan kemurnian produk yang diinginkan.

Matrik pendukung merupakan faktor lain yang juga penting untuk diperhatikan dalam imobilisasi enzim (Hanefeld *et al.*, 2009). Interaksi yang mendasari antara enzim dengan matriks pendukung meliputi adsorpsi fisik, gaya elektrostatik, spesifik recognition dan

ikatan kovalen (Tan *et al.*, 2008). Ikatan kovalen memiliki paling kestabilan imobilisasi yang baik dibandingkan metode lain, karena gugus amino pada enzim berikatan dengan matrik pendukung (Singh *et al.*, 2010).

Sifat-sifat hidrokoloid, sifat produk pangan yang akan dihasilkan dan biaya merupakan faktor dalam pemilihan matrik pendukung. Penggunaan hidrokoloid sebagai matrik pendukung untuk imobilisasi enzim yang mengandung konsentrasi yang cukup, akan mengubah hidrokoloid berubah menjadi gel. Gel ini bisa menggumpal membentuk rantai atau fibril yang disebut micelles (Hambali *et al.*, 2019). Pemakaian gel ini biasa digunakan pada sistem entraping ataupun pengikat. Bahan yang biasa digunakan sebagai matrik adalah polisakarida, poliakrilamida dan karagenan. Poliakrilamida merupakan matrik pendukung yang paling stabil dan sifat enzim tidak terlalu dipengaruhi (Mahajan, 2010).

4.5 Faktor Yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim Pada Proses Imobilisasi

Aktivitas enzim dipengaruhi oleh variasi kondisi kimia dan fisika. Faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim tersebut adalah variasi konsentrasi (substrat, produk, enzim, kofaktor, dan sebagainya), pH, temperatur dan shear. Penjelasan faktor-faktor ini adalah sebagai berikut:

A. Pengaruh Temperatur

Laju reaksi kimia tergantung pada suhu berdasarkan persamaan Arrhenius (Lee, 2001). Reaksi katalitik enzimatik dipengaruhi oleh suhu berdasarkan rumus Arrhenius. Kenaikan suhu mempercepat laju reaksi, hubungan antara laju reaksi dan suhu berbanding lurus. Atom-atom molekul enzim memiliki energi dan mobilitas yang lebih besar. Pada suhu tetap ada batas reaksi. Laju reaksi menurun karena proses denaturasi, yaitu pelepasan ikatan antara molekul

enzim, melemah pada suhu yang sangat tinggi. Protein biasanya didenaturasi pada suhu antara 45°C dan 50°C. Suhu yang tinggi dapat menyebabkan denaturasi beberapa enzim, terutama yang diisolasi dari organisme termofilik yang hidup di lingkungan panas (Lee, 2001).

B. Pengaruh Shear

Perubahan lingkungan juga dapat menyebabkan denaturasi protein. Enzim memiliki kemampuan untuk mengubah bentuk dan ukuran molekul ketika lingkungan berubah. Kontak antara cairan, pembentukan cairan oleh aliran cairan, pencampuran dalam bejana dan gerakan berputar dapat disebabkan oleh gaya mekanik. Pengaruh shear terhadap stabilitas enzim sangat penting ketika mempertimbangkan apakah desain reaktor membutuhkan agitator atau tidak, dengan tujuan meminimalkan gangguan perpindahan massa.

C. Pengaruh pH

pH merupakan faktor yang mempengaruhi reaksi kimia yang melibatkan enzim baik *in vivo* maupun *in vitro*. Enzim adalah protein yang terdiri dari beberapa asam amino. Enzim terdiri dari komponen-komponen dengan gugus basa, netral atau asam. Ini mengarah pada tren positif atau negatif dengan meningkatnya pH. Enzim juga bertindak sebagai biokatalis ketika residu asam amino aktif memiliki muatan spesifik. Oleh karena itu, sisi aktif enzim sebagai katalis tergantung pada pH.

4.6 Bahan Pendukung Imobilisasi

Bahan yang digunakan untuk mengikat enzim dalam proses imobilisasi disebut pembawa atau pendukung. Seperti yang telah dibahas sebelumnya, bahan pendukung untuk imobilisasi enzim juga harus diperhatikan. Karena bahan pembawa menentukan keberhasilan imobilisasi. Bahan pembawa yang digunakan diharapkan memiliki stabilitas termal yang tinggi, sifat fisik dan

kekuatan mekanik yang baik, tidak larut dalam larutan amobil, tidak beracun, ramah lingkungan, murah dan tidak menyebabkan enzim denaturasi (Hartmann & Kostrov, 2013; Gorecka & Jastrzebska., 2011). Diameter pendukung berpori diharapkan empat sampai lima kali lebih besar dari diameter enzim untuk membentuk lapisan yang lengkap pada permukaan pendukung (Santos et al., 2015). Bahan pendukung dapat dibagi menjadi dua kelompok, yaitu organik dan anorganik. Bahan pembawa organik dapat berupa biopolimer atau polimer sintetik. Biopolimer memiliki beberapa keunggulan seperti kondisi sintesis yang ringan, biofungsionalitas yang baik, biodegradabilitas, biostabilitas, dan biofungsionalitas. Polimer sintetik juga memiliki keunggulan seperti ikatan enzim yang kuat di sepanjang sumbunya. Polimer sintetik adalah resin penukar yang berpori di permukaan dan pada dasarnya tidak larut (Yushkova *et al.*, 2019). Bahan bantalan anorganik berupa silika, keramik berpori dan bahan anorganik lainnya. Bahan pendukung anorganik memiliki beberapa keunggulan, seperti B. Kekakuan dan porositas, yang menjamin bentuk dan volume yang tetap, serta ketahanan yang baik terhadap mikroba, menunjukkan ketahanan termal dan mekanik yang lebih besar (Zucca & Sanjust, 2014). Bahan bantalan yang umum digunakan tercantum dalam Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Jenis-jenis Bahan Pendukung

Bahan Pendukung		Anorganik	Sumber
Organik	Polimer		
Biopolimer	Sintetik		
Alginat	DEAE	Silika	Yushkova et al., 2019; Datta et al., 2013
Kitosan	Selulosa	Keramik	Yushkova et al., 2019; Datta

Bahan Pendukung Organik		Anorganik	Sumber
Biopolimer	Polimer Sintetik		
Kolagen	PVC	Kaca	et al., 2013 Datta et al., 2013
Karagenan	Polistirena	Zeolit	Datta et al., 2013
Pati	Poliamida	Karbon teraktivasi	Datta et al., 2013
	Poliurethan		
Selulosa		Alumina	Yushkova et al., 2019; Datta et al., 2013
Pektin		Zirkonia	Yushkova et al., 2019; Datta et al., 2013
Sepharose		Charcoal	Datta et al., 2013

Adapun penjelasan beberapa bahan pendukung dapat dibaca dibawah ini:

A. Silika Mesopori

Silika mesopori (MPS) merupakan bagian dari nanomaterial yang merupakan modifikasi silika koloid sintetik dengan pori 2-50 nm. Ukuran pori silika mesopori ini mudah disesuaikan. Selain itu, silika mesopori juga memiliki volume pori yang besar dan luas permukaan yang spesifik [Lee *et al.*, 2011].

Silika mesopori dapat menjadi surfaktan pemodelan, contohnya adalah metode pemodelan kristal cair. Penggunaan surfaktan sebagai model diperlukan karena

surfaktan berperan dalam pembentukan struktur dan ukuran pori. Kalsinasi dilakukan untuk menghilangkan surfaktan setelah lapisan silika terbentuk untuk mendapatkan silika mesopori [Hartono & Hadisoewignyo, 2017].

Silika mesopori sebagai bahan pembawa memiliki volume pori yang besar dan luas permukaan yang besar. Enzim mudah tersumbat di pori-pori dan tidak dapat bergerak bebas, yang meningkatkan stabilitas enzim. Dukungan ini populer untuk imobilisasi enzim, karena struktur berporinya mudah dikonfigurasi dan dapat melindungi enzim terhadap suhu dan konsentrasi garam yang tinggi serta pH ekstrim [Carlsson et al., 2014].

B. Karagenan

Karagenan adalah polisakarida hidrofilik yang berasal dari spesies alga merah. Karagenan diperoleh dengan proses isolasi sel alga dengan alkali panas. Ganggang ini ditemukan di Amerika Utara, Filipina, Eropa Atlantik, dan Indonesia. Karagenan adalah pseudoplastik, yaitu H. menjadi lebih tipis di bawah tegangan geser dan viskositas kembali setelah tegangan dihilangkan [Datta *et al.*, 2013]. Karagenan mengandung 3,167% sulfur dan satu gugus sulfat per molekul karaginan [Wahda & Hassan, 2017]. Ada enam tipe dasar karaginan, yang terdiri dari unit pengulangan D-galaktosa dan 3,6-anhidro-D-galaktosa, yaitu:

Kappa (κ), Iota (ι), Lambda (λ), Theta (θ), Nu (ν) dan Mu (μ) [Yushkova *et al.*, 2019]. Perbedaan dari keenam karaginan ini terletak pada letak dan jumlah gugus sulfat pada galaktosa. Ada tiga jenis karaginan yang umum digunakan, yaitu kappa (κ), iota (ι) dan lambda (λ). Di antara jenis karaginan lainnya, kappa paling sering digunakan untuk membantu imobilisasi enzim [Tavassoli-Kafrani *et al.*, 2016].

C. Kitosan

Kitin dan kitosan (CS) adalah polimer alami dari aminopolisakarida dengan struktur unik dan sifat multidimensi serta dapat digunakan dalam aplikasi biomedis dan industri lainnya (Pillai, Paul & Sharma, 2009). Kitin terdiri dari poli-N-asetilglukosamin (Krajewska, 2004; Li & Kitin, 2009), sedangkan kitosan adalah kitin yang tidak terdeasetilasi secara sempurna dan karenanya tidak disebut sebagai poliglukosamin. Kitin merupakan bahan dari spesies Arthropoda sp., Mollusca sp., Coelenterata sp., Annelida sp., Nematoda sp. termasuk tulang belakang invertebrata. (Li & Chitin, 2009) dan beberapa jamur yang berbeda (Bergey, 2005). Selain sakit invertebrata, kitin juga ditemukan di insang, trakea, dinding usus, dan kulit cumi-cumi. Sumber utama kitin berasal dari deasilasi Crustaceae sp., yaitu cangkang udang, lobster, kepiting, dan kerang lainnya, terutama yang berasal dari laut (Muzzarelli, 1985).

Kitosan adalah polisakarida monomer rantai lurus yang terdiri dari glukosamin dengan (1-4) hubungan β -glikosidik (Pillai, Paul & Sharma, 2009). Chitosan adalah padatan amorf putih yang tidak larut dalam basa dan asam mineral kecuali dalam kondisi tertentu dan memiliki berat molekul tinggi. Hasilnya, viskositas kitosan cukup baik dalam kondisi asam. Kitosan yang dihasilkan dari deasetilasi kitin, larut dalam asam encer seperti asam asetat dan asam format (Pandey *et al.*, 2014). Kitosan memiliki gugus amino (NH_2) yang relatif lebih banyak daripada kitin, sehingga lebih bersifat nukleofilik dan basa, termasuk produk biologi yang bersifat kationik, tidak beracun, dapat terurai secara hayati dan biokompatibel. Kitosan tidak larut dalam air dan beberapa pelarut organik seperti dimetilsulfur oksida (DMSO), dimetilformamida (DMF), larutan alkohol organik dan piridin. Pelarut yang baik untuk kitosan adalah asam format, asam asetat, dan asam glutamat. Kitosan larut dalam asam/mineral organik encer melalui protonasi

gugus amino bebas (NH_2NH^{3+}) pada pH di bawah 6,5. Kelarutan kitosan menurun dengan meningkatnya berat molekul. Kristalinitas kitosan karena ikatan hidrogen antarmolekul dan intramolekul lebih rendah daripada kitin, sehingga memudahkan penerapannya dalam berbagai reagen. Parameter lain yang mempengaruhi sifat kitosan adalah berat molekul (BM) dan derajat deasetilasi (DD). Derajat deasetilasi menunjukkan adanya reduksi gugus asetil kitin menjadi gugus amino pada kitosan (Pandey *et al.*, 2014).

DAFTAR PUSTAKA

- Bergey, D. H. 2005. 'Bergey's Manual of Systematic Bacteriology - Vol 2: The Proteobacteria Part A - Introductory Essays', Springer-Verlag New York Inc., p. 332. doi: 10.1345/aph.1P777
- Carlsson, N. et al. 2014, Enzymes immobilized in mesoporous silica: A physical- chemical perspective. *Adv. Colloid Interface Sci.* 205, 339-360.
- Chibata, I. 1978. *Immobilized Enzymes*. Halsted Press Book. Tokyo.
- Crueger, W. and A. Crueger. 1984. *Biotechnology. A Textbook of Industrial Microbiology*. Broch. T. D., editor Science Tech. Inc. Madison. USA. 178- 180, 202-206.
- Asrul, dkk. 2014. *Evaluasi Pembelajaran*. Medan: Cipta pustaka Media.
- Datta, S., Christena, L. R. & Rajaram, Y. R. S. 2013, Enzyme immobilization: an overview on techniques and support materials. *3 Biotech* 3, 1- 9.
- Devi, N. dan Tarun K.M., 2010. Microencapsulation of Isoniazid in Genipin-crosslinked Gelatin -A-k-Carrageenan Polyelectrolyte Complex. *Drug Development and Industrial Pharmacy* Vol. 36 (1) Page: 56-63
- El-Ghaffar, M. A. A. and Hashem, M. S. 2010. 'Chitosan and its amino acids condensation adducts as reactive natural polymer supports for cellulase immobilization', *Carbohydrate Polymers*. Elsevier Ltd., 81(3), pp. 507- 516. doi: 10.1016/j.carbpol.2010.02.025.
- Gorecka, E. & Jastrzebska, M. 2011, Immobilization techniques and biopolymer carriers. *Biotechnol Food Science* 75, 65-68.
- Hambali, E., Ani S., Mira R., Pudji P. 2019. *Teknologi Surfaktan dan Aplikasinya edisi Revisi*. Penerbit IPB Press: Bogor.
- Hartmann, M. & Kostrov, X. 2013, Immobilization of enzymes on porous silicas - benefits and challenges. *Chem. Soc. Rev.* 42, 6277.

- Hartono, S. B. & Hadisoewignyo, L. 2017, Pembuatan, modifikasi dan pemanfaatan material nano-pori. *Widya Tek.* 16, 105–110.
- Hanafeld, U., Gardossib, L., E. Magnerc. 2009. Understanding enzyme immobilization. *Chem. Soc. Rev.* 38 (2): 453-468.
- Hartoto, L. 2008. Mata Kuliah Enzim (S2): Imobilisasi Enzim. Program Studi TIP IPB. Bogor.
- Jesionowski, T., Zdarta, J. & Krajewska, B. 2014. Enzyme Immobilization by Adsorption: A Review. *Adsorption* 20, 801-821
- Johnson, E.L., dan Stevenson, R. 1978. Basic Liquid Chromatography. Terjemahan Kosasih Padmawinata (1991). *Dasar Kromatografi Cair*. ITB. Bandung. Halaman 4-8
- Judoamidjojo dan Endang, G.S. 1990. *Teknologi Fermentasi*. Rajawali Press. Jakarta.
- Krajewska, B. 2004. Application of chitin- and chitosan-based materials for enzyme immobilizations: a review', 35, pp. 126–139. doi: 10.1016/j.enzmictec.2003.12.013.
- Ii, B. A. B. and Kitin, S. 2009. 'Gambar 1. Struktur Kitin (Muzzarelli, 1977)'.
- Lee, S., Yun, H.-S. & Kim, S.-H. 2011, The comparative effects of mesoporous silica nanoparticles and colloidal silica on inflammation and apoptosis. *Biomaterials* 32, 9434–9443.
- Lee, J. M. 2001. 'Biochemical Engineering'.
- Mahajan, R., V.K. Gupta., J. Sharma. 2010. Comparison and Suitability of Gel Matrix for Entrapping Higher Content of Enzymes for Commercial Applications. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 72(2):page: 223-228. Doi: [10.4103/0250-474X.65010](https://doi.org/10.4103/0250-474X.65010)

- Moon, J.S., H. M. Jeon., W. Meng., T. Akaike & I.K. Kang. 2005. Morphology and Metabolism of Hepatocytes Microencapsulated with Acrylic Terpolymer-Alginate Using Gelatin and Poly(Vinyl alcohol) as Extracellular Matrices. *Journal of Biomaterials Science, Polimer Edition* Vol. 16. 10 page 1245-1259
- Muzzarelli, R. A. A. and Consulting, M. (no date) Chitin and chitosan hydrogels, *Handbook of hydrocolloids*. Woodhead Publishing Limited. doi: 10.1533/9781845695873.849.
- Neau, S., and Seema S. B., 2002. Immobilization of Lipase Using Hydrophilic Polymers in the Form of Hydrogel Beads. *Biomaterials*. Vol. 23 (17) page : 3627-3636
- Palmer, T. 1991. Understanding Enzymes. England : Ellis Horwood*
- Pandey, S. et al. 2014. 'Effect of Various Physiological Parameters and Different Carbon Sources on Cellulase and Xylanase Induction by Different Strains of *Trichoderma* Species', 3(1), pp. 1–5. doi: 10.4172/2329-6674.1000120.
- Payne, G., V. Bringi, C. Prince, and M. Shuler. 1992. *Plant Cell and Tissue Culture in Liquid Systems*. Hanser Publishers. Munich-Vienna. 177-223. Pelczar, M.J., dan E.C.S. Chan. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. UI-Press. Jakarta.
- Pillai, C. K. S., Paul, W. and Sharma, C. P. 2009. 'Progress in Polymer Science Chitin and chitosan polymers : Chemistry , solubility and fiber formation', 34, pp. 641–678. doi: 10.1016/j.progpolymsci.2009.04.001
- S,N., S, A. K. & N, G. 2012. A Review on Methods, Application and Properties of Immobilized Enzyme. *Chem. Chem. Sci. Rev. Lett.* 1, 148-155
- Singh, R, K., Zhang. Y. W, N. Nguye, M. Jaye, dan J.K. Lee. 2010. Covalent immobilization of β -1,4-glucosidase from *Agaricus arvensis* onto Functionalized Silicon Oxide Nanoparticles. *Appl Microbiol Biotechnol.* 89 (2): 337-344

- Suhartono, M.T. 1989. Enzim dan Bioteknologi. PAU. Bioteknologi ITB. Bogor. 322.2 nd ed. Marburg thieme.
- Sun, L., Liang, H., Yuan, Q., Wang, T. & Zhang, H. 2012. Study on A Carboxyl-Acvtived Carrier and Its Properties for Papain Immobilization. J. Chem. Technol. Biotechnol. 87, 1083-1088.
- Tan Y, H., Liu. M, Nilthing, Go. J. G, Gervay-Hague. J, dan Liu. G.Y. 2008. A nanoengineering approach for investigation and regulation of protein immobilization. ACS Nano. 2(11): 2374-2384.
- Tan, T., Lu, J., Nie, K., Deng, L., and Wang, F., 2010, Biodiesel Production with Immobilized Lipase : A Review, J. Biotech. Adv., 28, 628-634.
- Tavassoli-Kafrani, E., Shekarchizadeh, H. & Masoudpour-Behabadi, M. 2016, Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans. Carbohydr. Polym. 137, 360–374.
- Wahba, M. I. & Hassan, M. E. 2017, Agarcarrageenan hydrogel blend as a carrier for the covalent immobilization of β -D-galactosidase. Macromol. Res. 25, 913–923.
- Wang, D.I. 1979. Fermentation and Enzymes Technology. John Wiley and Sons Inc. New York.
- Yushkova, E. D. et al. 2019, Application of Immobilized Enzymes in Food Industry. J. Agric. Food Chem. 67, 11553–11567.
- Zucca, P. & Sanjust, E. 2014, Inorganic Materials as Supports for Covalent Enzyme Immobilization: Methods and Mechanisms. Molecules 19, 14139–14194.

BAB 5

APLIKASI ENZIM DALAM INDUSTRI

Oleh Aldilla Sari Utami

5.1 Pendahuluan

Enzim digunakan dalam berbagai produk industri, khususnya industri pangan. Meningkatnya kepedulian masyarakat akan pentingnya kesehatan memberikan peluang bagi potensi enzim sebagai aditif yang efektif dalam industri pangan. Hingga saat ini, banyak penelitian mengenai aplikasi enzim pangan yang telah dikomersilkan. Enzim sebagai protein yang memiliki aktivitas katalitik dalam produk pangan bersifat sebagai bahan tambahan makanan yang digunakan dengan dosis tertentu. Penggunaannya tidak boleh melebihi dosis maksimum yang telah ditetapkan. Selain itu, enzim diperbolehkan terdeteksi pada produk pangan akhir jika tidak berpengaruh terhadap kualitas serta keamanan pangan yang diproduksi.

Di Indonesia, enzim dianggap sebagai biokatalis ramah lingkungan yang menggantikan peran bahan aditif kimiawi. Karakteristik yang paling diharapkan dari sebuah enzim adalah perannya dalam mempercepat laju reaksi pada kondisi temperatur dan tekanan normal serta bersifat substrat spesifik. Enzim pangan yang pertama kali diproduksi dalam skala industri adalah *calf-derived chymosin* yang digunakan sebagai pengkoagulasi susu di Denmark pada akhir abad ke 19. Seiring berkembangnya teknologi, saat ini enzim lebih banyak diproduksi secara mikrobiologis karena kemudahan akan kultivasi massa serta produktivitasnya yang tinggi. Lebih lanjut lagi, enzim yang diturunkan dari hewan maupun tumbuhan juga diproduksi oleh mikroorganisme menggunakan teknologi rekombinan.

Enzim mengkatalisis reaksi kimia tertentu. Misalnya, enzim pendegradasi memecah zat AB menjadi A dan B. Sebagai contoh, amilase memecah pati dan protease memecah protein. Seperti yang diketahui, reaksi kimia membutuhkan energi dalam jumlah besar seperti panas. Oleh karena itu, dibutuhkan peran enzim sebagai katalis. Katalis mempercepat laju reaksi sehingga mampu mengurangi energi yang dibutuhkan. Bahkan, waktu reaksi dapat dipersingkat. Fitur yang paling penting dari enzim adalah substrat (reaksi) spesifisitas. Suatu zat yang reaksi kimianya dibantu oleh enzim hanya mengkatalisasi satu substrat (reaksi). Dengan dua fungsi katalisis dan spesifisitas ini, enzim sangat diperlukan bagi industri untuk efisiensi produksi.

Dulu, fokus utama dalam penelitian biokatalitik hanya berfokus pada penemuan enzim enzim baru dan pengklasifikasiannya dalam beberapa jenis. Seiring perkembangan teknologi, para peneliti mulai mengkaji mengenai struktur enzim dan perbandingan kinerja ataupun aktivitasnya. Di dunia industri, pengkajian aplikasi enzim berkembang lebih luas lagi, terutama yang berkaitan dengan efisiensi produksi. Selain sifat fungsional enzim, hal yang kerap menjadi perhatian para pelaku industri yang memanfaatkan enzim adalah produktivitasnya yang tinggi serta pengurangan waktu proses produksi.

5.2 Jenis jenis enzim dan peranannya dalam industri pangan

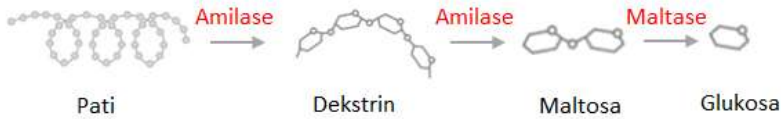
Pada industri pangan, tren terkini penggunaan enzim meliputi industri sakarifikasi, pengolahan pati, pengolahan protein, pembuatan roti, dan sebagainya. Berbagai enzim mampu memenuhi permintaan industri pangan akan produk akhir yang diharapkan, seperti perbaikan tekstur, rasa atau nilai gizi, serta peningkatan efisiensi dalam proses produksi. Hingga saat ini, enzim berperan penting dalam berbagai pengolahan produk pangan tradisional maupun modern. Terdapat banyak enzim untuk

pengolahan pangan yang tersedia dari berbagai sumber. Adapun beberapa jenis enzim yang sudah digunakan secara luas di industri pangan adalah sebagai berikut

1. **α -amilase (karbohidrase) dari *Bacillus licheniformis*, *Aspergillus oryzae*, var, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus subtilis*, dan *Bacillus megaterium*.**

α -amilase adalah enzim yang mengkatalisasi hidrolisis dari ikatan internal α -1,4 glikosidik dari pati dengan berat molekul rendah, seperti glukosa, maltosa, dan maltotriosa (Rajagopalan *et al.*, 2008). Saat ini, banyak jenis amilase mikrobial yang tersedia secara komersil dan hampir sepenuhnya telah menggantikan keberadaan metode kimiawi untuk hidrolisis pati di kalangan industri pengolahan pati. Amilase yang berasal dari mikroorganisme memiliki spektrum yang luas untuk aplikasi industri karena lebih stabil daripada α -amilase yang berasal dari hewan maupun tanaman (Tanyildizi *et al.*, 2005).

Amilase merupakan salah satu dari enzim utama yang digunakan di industri. Enzim ini menghidrolisis molekul pati menjadi polimer yang tersusun atas unit unit glukosa (Gambar 5.1). Pati sendiri merupakan konstituen penting dalam kebutuhan nutrisi manusia dan merupakan sumber nutrisi utama yang terdapat pada banyak bahan pangan penting, seperti gandum, beras, jagung, tapioka dan kentang. Enzim pengkonversi pati digunakan dalam produksi maltodekstrin, pati modifikasi, dan sirup glukosa atau fruktosa. Karakteristik dari tiap α -amilase meliputi kestabilan suhu, profil pH, dan ketidak tergantungan akan Ca merupakan penelitian penting dalam proses fermentasi. Enzim amilase sendiri telah banyak diaplikasikan di industri pengolahan pangan, seperti industri bakery dan kue, industri bir, jus buah dan sirup gula pati.



Gambar 5.1. Hidrolisis pati oleh enzim amilase

Perkembangan saat ini adalah produksi molekul α -amilase yang stabil dan memiliki aktivitas yang tinggi meskipun dalam keadaan konsentrasi kalsium rendah. Nilai pH optimal untuk likuifikasi oleh α -amilase adalah pH netral sehingga penting untuk menjaga kondisi pH di rentang 5.6-6.2 pada proses likuifaksi pati menjadi dekstrin. Selama proses lanjutan yakni sakarifikasi dekstrin menjadi glukosa, pH harus disesuaikan menjadi sekitar 4.0-4.5, dimana merupakan pH optimal untuk glukoamilase. Saat ini, α -amilase sedang dikembangkan untuk dapat bekerja pula pada kondisi pH rendah sehingga industri dapat menghilangkan tahapan proses penyesuaian pH. Lebih lanjut lagi, reaksi Maillard yang diketahui sulit terjadi pada pH rendah akan memberikan keuntungan dari modifikasi α -amilase yang sedang dikembangkan ini karena perubahan warna pada larutan gula dan pembentukan maltulosa akibat isomerisasi alkalin dari maltosa akan dapat dihindari. Seperti yang kita ketahui, reaksi Maillard dan pembentukan maltulosa merupakan hal yang dihindari pada industri pengolahan pati atau tepung. Hal ini dikarenakan reaksi Maillard menghasilkan produk bernama Melanoidin yang berwarna coklat.

2. **Protease dari *Aspergillus oryzae***

Protease adalah enzim yang mendegradasi protein dengan menghidrolisis ikatan peptida. Enzim proteolitik memiliki aplikasi praktis di bidang kedokteran, pelunakan kulit, deterjen, dan pengolahan makanan. Dalam industri makanan, protease digunakan dalam makanan yang dipanggang, bir dan

anggur, sereal, susu, pelunak daging, produk ikan, kacang-kacangan, dan dalam produksi hidrolisat protein dan ekstrak rasa.

Protease yang digunakan dalam pengolahan makanan termasuk enzim pembekuan susu untuk produksi keju. Untuk mengentalkan susu menjadi keju, enzim pembekuan harus ditambahkan untuk memecah protein yang menjaga cairan susu. Lebih khusus lagi, ketika protein didenaturasi atau dimodifikasi, susu kehilangan struktur cairnya dan mulai menggumpal.

Rennet, enzim penggumpal susu yang diperoleh dari abomasum (abomasum anak sapi), telah digunakan dalam pembuatan keju selama bertahun-tahun. Enzim utama yang diekstraksi dari rennet anak sapi adalah chymosin. Namun, rennet pedet mahal dan sulit diperoleh karena kekurangan pedet yang kronis sebagai bahan baku chymosin.

Berbagai enzim pembekuan susu yang berasal dari hewan, tumbuhan dan mikroba telah diidentifikasi sebagai alternatif untuk chymosin dan sedang diuji dalam pembuatan keju. Protease dari *Aspergillus oryzae* merupakan kandidat potensial sebagai pengganti rennet. Protease sendiri telah banyak digunakan sebagai pengubah daging dan zat pengental dalam industri pengolahan makanan.

Penggunaan protease pembekuan susu merupakan langkah penting dalam pembuatan keju. Tekstur adalah salah satu karakteristik keju yang paling penting dan dapat dipengaruhi oleh jenis dadih. Perbedaan tekstur ini terkait dengan struktur jaringan dadih. Struktur mikro dan sineresis ekstrak kasar untuk memeriksa sifat tekstur berguna dalam menilai kesesuaian potensi protease penggumpal susu sebagai pengganti rennet.

Protease diklasifikasikan menjadi empat kelompok berdasarkan mekanisme katalitiknya, yaitu, serin, sistein,

asam, dan proton logam. protease dengan spesifisitas substrat yang luas. Mikrobial protease telah mencuri perhatian besar di industri pangan karena sifat spesifiknya seperti produktivitas tinggi, substrat spesifik, dan aktivitas tinggi serta ramah lingkungan. Protease juga memiliki rentang suhu (20–80 °C) dan nilai pH (3–13) yang luas, sehingga dapat diaplikasikan lebih beragam lagi.

3. Papain

Papain, ditemukan dalam pepaya, adalah enzim proteolitik terkuat dalam makanan. Enzim ini banyak digunakan sebagai agen pengolah dalam industri makanan, yakni sebagai "pelunak daging" untuk memecah serat daging dan melembutkan otot daging. Papain adalah enzim proteolitik yang terkandung dalam emulsi pepaya muda (pepaya hijau). Emulsi ini dijual dalam keadaan kering dan bubuk. Saat pepaya matang, warnanya menjadi oranye, tetapi kandungan papainnya sangatlah sedikit.

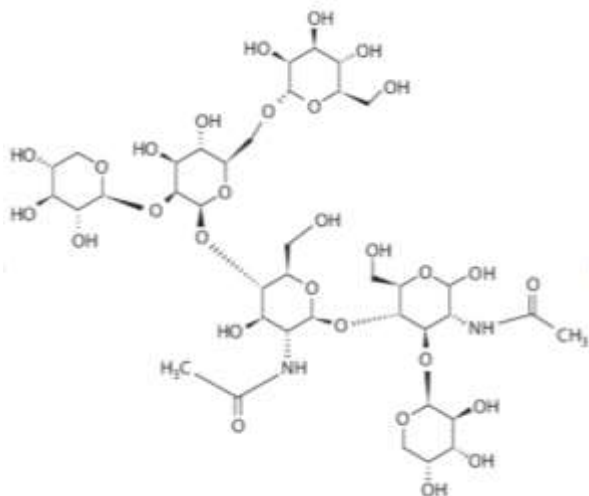
Di Jepang, papain dijual secara komersil sebagai bahan tambahan saat memasak nasi. Protein dalam nasi terurai dan berubah menjadi asam amino, membuat nasi menjadi enak. Selain itu, papain juga biasa digunakan dalam pembuatan bir di luar negeri. Bir dibuat dengan memfermentasi barley malt dan bahan-bahan sekunder seperti barley, beras, dan tepung jagung dengan ragi, lalu disaring, jika protein tetap berada dalam cairan yang disaring, produk akhir akan menjadi keruh. Papain terkadang digunakan untuk memecah dan menghilangkan kekeruhan ini.

Enzim ini memiliki ciri-ciri sebagai berikut, yakni paling aktif pada pH 6.5-8.0 (40°C, 1% kasein substrat), Stabil pada kisaran pH yang luas. Stabil pada rentang suhu yang luas, memiliki ketahanan panas yang kuat, dan kehilangan aktivitasnya di atas 80°C. Suhu aktivitas tertinggi adalah 60-75°C (pH 6,0, 1%

kasein substrat). enzim ini memiliki kekhususan substrat yang luas, yang berarti memiliki kemampuan untuk menguraikan berbagai zat.

4. **Bromelin**

Bromelin merupakan enzim proteolitik yang ditemukan dalam nanas mentah. Secara tradisional, masyarakat mengasinkan daging mentah dengan nanas sebelum dimasak. Hal ini dilakukan karena nanas diyakini mampu memecah serat daging dan melunakkan daging. Bromelin mampu menghidrolisis protein dengan berat molekul tinggi dalam protein daging menjadi asam amino dan protein molekul kecil yang mudah diserap. Enzim ini dapat digunakan secara luas untuk finishing produk daging. Selain itu, jus nanas mentah yang ditambahkan ke jeli diketahui mampu membuat jeli tidak lengket. Hal ini dikarenakan gelatin sebagai bahan baku agar-agar yang terbuat dari kolagen yang dapat dipecah oleh bromelin sehingga dapat mencegah agar-agar tidak mengeras. Bromelain termasuk dalam golongan glikoprotein (Gambar 1) dengan sisi aktif pada -Cys-Gly-Ala-Cys-Trp-Asn-Gly-Asp-Pro-Cys-Gly-Ala-Cys-Cys-Trp (Gautam et al., 2010). Karakteristik dari bromelin sendiri yakni memiliki suhu optimal 50-60°C dan bekerja baik pada rentang pH 5-8. Jenis enzim ini larut dalam air, tidak larut dalam aseton, eter, metanol, dan etanol. Aktivitas enzim ini dapat dihambat oleh aktivator ion logam seperti besi, aluminium, dan kalsium. Akan tetapi, efek penghambatan dapat dihilangkan dengan menambahkan L-sistein.



Gambar 5.2. Struktur Kimia Bromelin (Khalid, et al., 2016)

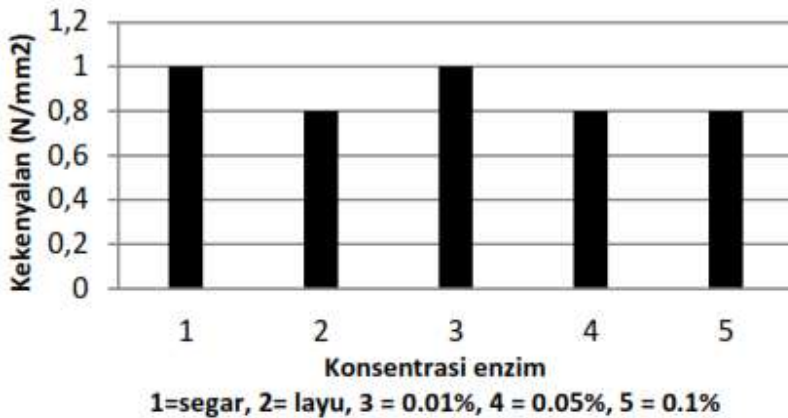
Dalam aplikasinya di industri makanan, bromelain dikenal sebagai enzim yang bebas dari efek samping. Selain tujuan pelunakan daging, aplikasi bromelin di dunia industri juga meliputi produksi peptida bioaktif, hidrolisis gelatin, pembuatan konsentrat protein kedelai, penjernihan bir, produksi kecap ikan dan susu kedelai yang difermentasi. Lebih lanjut lagi, di pabrik roti, bromelin ditambahkan ke adonan untuk menurunkan gluten, membuat adonan lebih lembut dan lebih mudah diproses. Selan itu, juga digunakan untuk meningkatkan rasa dan kualitas biskuit dan roti. Pada industri keju, bromelin mulai diaplikasikan untuk memadatkan kasein. Menariknya lagi, di masa pandemi bromelin diketahui memiliki aktivitas inhibitor dalam melawan infeksi virus corona (SARS-CoV-2). Luasnya aplikasi bromelin dalam dunia industri inilah yang memicu harapan yang besar bagi para pelaku industri untuk teknik ekstraksi enzim bromelin yang efisien dari segi kemurnian enzim yang tinggi.

5. Transglutaminase

Aplikasi enzim yang terbaru pada industri pangan adalah penggunaan enzim sebagai alat modifikasi struktur protein. Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan, digunakan enzim transglutaminase yang berasal dari mikroba untuk memperbaiki kualitas suatu produk pangan. Enzim ini bekerja secara intra dan inter seluler menghasilkan ikatan silang antar protein sehingga karakteristik protein yang tidak diinginkan dalam produk pangan dapat dihilangkan. Sebagai contoh, perubahan sifat fungsional protein dengan perlakuan enzim transglutaminase yang berbeda dengan sifat asli protein, yakni sifat pembuihan, pembentukan gel protein, kelarutan, peningkatan elastisitas adonan dan peningkatan stabilitas protein terhadap panas (Srianta, 2012). Transglutaminase bekerja dengan mengkatalisasi reaksi residu lisin dan residu glutamin serta membentuk ikatan lisin isopeptida yang membentuk gabungan ikatan kovalen inter atau intramolekul yang berikatan silang dengan protein makanan (Nielsen *et al.*, 1995). Contoh penggunaan enzim transglutaminase pada produk pangan, yakni gandum. Kemampuan Transglutaminase untuk mengubah sifat fisik protein gandum secara efektif seperti kelengketan, kemampuan mengembangkan serta elastisitas adonan (Mayashopha *et al.*, 2015).

Contoh aplikasi lainnya adalah penggunaan transglutaminase pada pembuatan bakso. Protein sebagai komponen yang berperan penting sebagai pengikat sekaligus emulsifier yang sangat menentukan tekstur bakso yang dihasilkan oleh produsen. Keberadaan enzim transglutaminase mampu memperbaiki tekstur bakso yang diproduksi menggunakan daging layu (daging yang telah disimpan lama) dengan cara menambah ikatan silang protein melalui pembentukan ikatan silang α -(γ -Glutamyl) lysine. Seguro *et al.* (1995)

membandingkan kekenyalan bakso daging segar dan bakso daging layu serta bakso daging layu yang telah diberi perlakuan enzim transglutaminase (Gambar 5.3).



Gambar 5.3. Perbandingan produk bakso diproduksi secara konvensional dan bakso diproduksi dengan penambahan enzim transglutaminase (Seguro *et al.*, 1995)

6. Penggunaan enzim sebagai suplemen yang dikonsumsi secara langsung

Di negara maju, enzim sudah mulai dikonsumsi sebagai suplemen harian. Sebagai contoh, orang dengan klaim *lactose intolerant* yang tidak mampu mencerna laktosa dapat meminum suplemen laktase setelah konsumsi susu untuk membantu pencernaannya. Lebih lanjut lagi, protease dikonsumsi oleh para *body builders* setelah makan untuk meningkatkan efisiensi absorpsi dari peptida bagi pembentukan otot. Adapun α -galactosidase sebagai enzim yang dapat menguraikan oligosakarida dikonsumsi oleh orang yang banyak mengonsumsi kacang-kacangan untuk mencegah buang angin. Di Jepang, konsumsi enzim yang

dikonsumsi langsung bahkan diklasifikasikan sebagai obat, bukan hanya sebagai suplemen sehingga regulasinya mengikuti peraturan distribusi secara farmakologis.

Adapun beberapa jenis enzim lainnya yang digunakan dalam pengolahan makanan dan pembuatan bahan tambahan makanan secara global dapat dilihat pada tabel berikut

Tabel 5.1. Aplikasi enzim dalam industri pangan

Jenis Industri Pangan	Jenis Enzim	Fungsi Enzim
Roti/ <i>bakery</i>	Amilase	Meningkatkan kelembutan dan umur simpan
	Hemiselulase	
	Protease	Meningkatkan volume adonan, peningkatan kelembutan
	Lipoksigenase	Perbaikan elastisitas adonan, penambah rasa
	Askorbat oksidase	
	Lipase	
Coklat	Fosfolipase A1.A2	Pemutih adonan Modifikasi adonan
		Meningkatkan volume adonan, meningkatkan kelembutan
		Meningkatkan volume adonan
Konfeksionari (permen)	Lipase	Mencegah " <i>blooming</i> " pada coklat
	Invertase	Pelunakan bagian tengah
Konfeksionari (permen)	Invertase	Meningkatkan rasa, kilau dan mencegah kristalisasi
	β amilase	Memperpanjang umur simpan
	Dekstronase	Pencegahan karies

Jenis Industri Pangan	Jenis Enzim	Fungsi Enzim
Es krim	β galaktosidase	Anti kristalisasi
Kraker beras	Protease	Mempertahankan kualitas
Ekstrak daging	Protease	Kelarutan , peningkatan
	Peptidase	hasil, menjaga rasa
Pemanis buatan	Protease	Pembuatan aspartam
Pengolahan daging	Papain	Pelunak
Glukosa	transglutaminase	Pengolahan protein
	α -amilase,	Sakarifikasi pati
	pullulanase,	
	glukoamilase	
Produk gula isomerisasi	glukosa isomerase	produksi fruktosa
Susu	laktoperoksidase	meningkatkan umur simpan
Keju, mentega	Lipase, peptidase, protease, esterase	Dekomposisi lemak susu, produksi rasa produk susu

5.3 Permasalahan dan Regulasi mengenai penggunaan enzim dalam industri pangan

Peningkatan permintaan global akan pangan terjadi di negara-negara berkembang termasuk di Indonesia. Tantangannya adalah bagaimana memenuhi kebutuhan pangan dengan biaya input yang lebih rendah dan tidak memberikan dampak negatif terhadap ekosistem. Di sinilah enzim hadir sebagai bahan tambahan dalam proses pengolahan pangan untuk menjawab tantangan tersebut. Penggunaan dan kebutuhan akan enzim di zaman modern ini telah mengalami peningkatan pesat yang sejalan dengan perkembangan industri, kemajuan ilmu pengetahuan, dan teknologi.

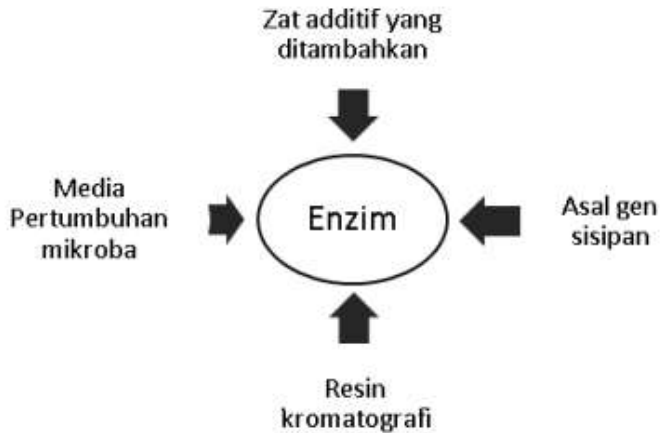
Enzim yang digunakan pada proses pengolahan pangan diperlakukan selayaknya bahan tambahan pangan. Reaksi enzimatik sendiri diketahui secara umum sangat dipengaruhi oleh suhu dan pH. Reaksi ini dapat berlangsung pada kondisi mild dan

umumnya memproduksi beberapa hasil sampingan. Sehingga, dibutuhkan beberapa alternatif dari metode kimiawi. Sebagai contoh, modifikasi minyak dan lemak dimana lipase digunakan untuk memproduksi lemak pengganti kakao. Meningkatnya konsumsi coklat menyebabkan naiknya harga bahan pangan ini. Oleh karena itu, dibutuhkan alternatif lemak pengganti kakao dengan sumber bahan pangan yang lebih terjangkau, misalnya lemak sawit. Pada umumnya, digunakan metode kimia menggunakan katalis metal pada lingkungan ekstrim basa yang tidak ramah lingkungan sehingga diperlukan alternatif metode lainnya, yakni secara enzimatis.

Aplikasi enzim dalam industri sangat esensial namun permasalahan stabilitas selama penyimpanan masih menjadi perhatian besar. Enzim yang digunakan di pabrik seringkali disimpan dalam kondisi yang tidak tepat. Belum lagi, kebutuhan enzim dalam industri sangat menekankan produktivitas tinggi untuk menekan biaya produksi. Jika enzim tersedia dalam bentuk cair, penambahan bahan penstabil dibutuhkan untuk mengurangi konsentrasi efektif dari aktivitas enzim pada produk. Terlebih lagi volume yang dibutuhkan lebih besar untuk tingkat aktivitas yang sama serta biaya distribusi yang tinggi. Padahal, status enzim sebagai bahan tambahan pangan di industri tidak boleh memberikan kenaikan biaya produksi yang signifikan.

Sebagai tambahan, diversitas enzim yang diproduksi mikroorganisme di alam tidak terbatas dan jumlah enzim yang sekuensnya telah diteliti secara ilmiah sudah sangat banyak. Hanya saja, enzim yang memiliki karakteristik khusus seperti tahan suhu tinggi, tahan asam ataupun tahan basa umumnya sulit diaplikasikan di industri karena tidak memiliki produktivitas yang tinggi. Untuk mengatasi masalah ini, penelitian masih berkisar pada rekayasa protein untuk memodifikasi enzim yang bekerja pada suhu ruang agar memiliki karakteristik khusus tersebut sehingga dapat praktikal di industri.

Adapun fokus lain yang tidak kalah penting berkaitan dengan aplikasi enzim pada industri adalah permasalahan titik kritis halalnya. Hal ini tidak lain sesuai dengan ikrar Indonesia sebagai pusat halal dunia dan pelopor dalam sertifikasi halal global. Tentunya, negara kita telah mengatur permasalahan halal melalui perundang undangan. Definisi pangan halal menurut keputusan Menteri Agama Nomor 518 Tahun 2001 adalah pangan yang tidak mengandung unsur atau bahan haram atau dilarang untuk konsumsi umat Islam dan pengolahannya tidak bertentangan dengan syariat Islam. Seperti yang kita ketahui, tahapan audit dan sertifikasi halal pada beberapa produk pangan cukup rumit, butuh ketelitian dan kedetilan, serta pengetahuan mendalam terutama pada produk-produk bioteknologi. Produk mikrobial sendiri sudah ditetapkan menjadi titik kritis dimana salah satu produk mikrobial yang banyak diproduksi adalah enzim. Resiko titik kritis selama produksi enzim antara lain media yang digunakan untuk pertumbuhan atau penyegaran, gen asing yang disisipkan ke mikroba, resin kromatografi yang digunakan untuk purifikasi dan zat aditif yang ditambahkan untuk stabilitas enzim (Atma et al., 2017). Resiko akan terjadi jika mikroorganisme atau bakteri yang digunakan merupakan hasil rekayasa genetika. Bisa juga kemungkinan media menumbuhkan mikroorganisme yang digunakan dalam teknik bioproses mengandung bahan yang tidak halal (Halal Corner, 2013). Secara global, aturan produk halal sendiri telah diatur dalam alal Codex General Guidlines for Use of the Term “Halal” CAC/GL 24 1997.



Gambar 5.4. Resiko titik kritis enzim mikrobial (Atma et al., 2017)

Di Indonesia, enzim ditetapkan statusnya sebagai aditif pada pengolahan pangan. Seperti yang berlaku di Jepang, makanan yang mengandung enzim diberi label sebagai "enzim" dan memiliki persyaratan tertentu sesuai peraturan yang berlaku. Begitupun di negara kita, peraturan mengenai enzim diatur dalam Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 10 Tahun 2016 tentang Penggunaan Bahan Penolong Golongan Enzim dan Golongan Penyerap Enzim dalam Pengolahan Pangan. Dalam aturan tersebut enzim didefinisikan sebagai bahan penolong yang memiliki definisi sebagai bahan, tidak termasuk peralatan, yang lazimnya tidak dikonsumsi sebagai Pangan, yang digunakan dalam pengolahan Pangan untuk memenuhi tujuan teknologi tertentu dan tidak meninggalkan residu pada produk akhir, tetapi apabila tidak mungkin dihindari, residu dan/atau turunannya dalam produk akhir tidak menimbulkan resiko terhadap kesehatan serta tidak mempunyai fungsi teknologi. Ada 66 jenis enzim yang telah diatur dalam undang undang dimana dalam Pasal 8 (1) disebutkan bahwa penggunaan Bahan Penolong golongan enzim yang diperoleh

melalui proses rekayasa genetik dilakukan pengkajian sesuai dengan ketentuan peraturan perundang undangan.

Peraturan juga berkaitan dengan pencantuman label halal pada kemasan pangan. Kepedulian penggiat usaha pangan terhadap sertifikasi halal, selama ini baru terbatas pada penggiat usaha berskala besar. Belum ada perhatian khusus bagi penggiat UMKM skala kecil dan menengah. Penggiat usaha pangan kecil dan menengah biasanya merasa cukup dengan pencantuman nomor P-IRT (Pangan Industri Rumah Tangga) yang dikeluarkan oleh Dinas Kesehatan. Kewajiban sertifikasi halal dengan tegas dinyatakan dalam Pasal 4 Undang-Undang Nomor 33 Tahun 2014 tentang Jaminan Produk Halal yang menyatakan bahwa “produk yang masuk, beredar, dan diperdagangkan di wilayah Indonesia wajib bersertifikat halal.” Seharusnya, pasal ini menegaskan bahwa tiap produk pangan baik diproduksi oleh penggiat usaha pangan baik kecil, menengah dan besar wajib bersertifikat halal dan mencantumkan logo halal pada kemasannya.

Sertifikasi halal adalah dokumen fatwa yang dikeluarkan oleh Majelis Ulama Indonesia. Sertifikat halal MUI adalah sertifikat yang memuat informasi berupa pernyataan tertulis tentang kehalalan produk yang disebutkan dalam sertifikat. Sertifikat Halal ini termasuk dalam persyaratan bagi pedagang yang mengajukan izin untuk membubuhkan label Halal pada kemasan produk dari instansi pemerintah yang berwenang. Pasal 1 Nomor 10 Undang-Undang Nomor 33 Tahun 2014 tentang Jaminan Produk Halal menyebutkan:

DAFTAR PUSTAKA

- Atma, Y. et al. 2018. Identifikasi Resiko Titik Kritis Kehalalan Produk Pangan Bioteknologi Pangan : Studi Produk Bioteknologi. Jurnal Teknologi (10) : 1
- Srianta. 2012. Potensi Aplikasi Transglutaminase Dalam Industri Pangan. Jurnal Teknologi Pangan dan Gizi (1) :2
- Mayasopha, et al. 2015. Aplikasi Enzim Transglutaminase pada Produk Pangan. Jurnal Pangan dan Agroindustri (3) : 1145-1151
- Nielsen, GS et al. 1995. Impact of Salt, Phosphate and Temperature on the Effect of a Transglutaminase (F XIIIa) on the Texture of Restructured Meat. Meat Science 41 : 293-299
- Seguro et al. 1995. Microbial Transglutaminase and γ -(γ -glutamyl) Lysine Cross-link effect Properties of kamaboko gels. J Food Sci. 60 : 305-311
- Khalid, Nauman & Suleria, Hafiz & Ahmed, Iftikhar. (2016). Pineapple Juice in "Handbook of Functional Beverages and Human Health". CRC Press (489-498)
- Sawano, Y. 2023. Research trends of Bromelain, a protease from pineapple : biochemistry, extraction and purification. Tokyo Medical and Dental University Liberal Arts Research Bulletin 53: 15-24
- Rajagopalan G. dan Krishnan C. 2008. Alpha-amylase production from catabolite derepressed *Bacillus subtilis* KCC103 utilizing sugarcane bagasse hydrolysate. Bioresour.Technol. 99: 3044–3050.
- Tanyildizi M.S., Ozer D., Elibol M. Optimization of α -amylase production by *Bacillus* sp. using response surface methodology. Process Biochem. 2005;40:2291–2296)

BAB 6

KINETIKA SEL

Oleh Revita Permata Hati

Konsep laju (pada volume konstan) adalah perubahan konsentrasi reaktan atau produk terhadap waktu (Mrwebi, 2004). Misalnya pada pertumbuhan sel mikroba dapat dilihat dari berbagai perspektif dan dengan berbagai tingkat kompleksitas, tergantung apakah antar individual sel dalam sistem dibedakan (*structuring at the population level*) atau apakah reaksi tiap metabolik yang terjadi di dalam sel diamati (*structuring at the cell level*) (Mrwebi 2004).

Metode untuk mempelajari reaksi intraseluler berfokus pada penentuan parameter kinetik. Biasanya data yang diperoleh dari tes eksperimental harus dimasukkan ke dalam model matematika sebelum dapat ditafsirkan secara bermakna. Sebagian besar model ini didasarkan pada model makroskopik dan deterministik kimia fisika klasik. Contoh yang menonjol dari analisis ini adalah karakterisasi enzim menggunakan persamaan Michaelis-Menten (Grima and Schnell, 2008).

Konstanta Michaelis-Menten yaitu seluruh sel ($K(T)$), yang bergantung pada rasio enzim pembatas laju dengan transporter, dapat relatif bebas dari perubahan derajat (A) dan paling baik digunakan untuk menggambarkan konsentrasi dimana kejenuhan mulai terjadi. Teori menetapkan bahwa oligotrof yang baik memiliki derajat (A) yang besar untuk pengumpulan nutrisi dan V (maks) yang kecil untuk penghematan enzim, menghasilkan $K(T)$ yang kecil. Produk dari dua konstanta secara universal agak konstan sehingga oligotrofik diskalakan pada sebidang derajat (A)

versus $K(T)$, dengan oligotrof yang lebih baik di salah satu ujungnya (Button, 1991).

Ada empat kerangka teori dan simulasi yang berbeda untuk mengetahui aktivitas biokimia rumit yang terjadi di dalam sel. Empat kerangka teori dan simulasi tersebut yaitu (1) non-spasial dan deterministik, (2) spasial dan deterministik, (3) non-spasial dan stokastik, dan (4) spasial dan stokastik. Setiap kerangka kerja dapat disesuaikan untuk memodelkan dan menafsirkan kinetika reaksi intraseluler. Dengan memperkirakan skala panjang fundamental, dapat secara kasar menentukan model mana yang paling cocok untuk jalur reaksi tertentu (Grima and Schnell, 2008).

Selain empat kerangka teori dan simulasi, terdapat empat strategi pemodelan utama dalam konteks kinetika intraseluler. Pertama asumsi homogenitas dan kontinum yang melekat dalam penggunaan model biokimia klasik. Kedua tentang berbagai proses biokimia intraseluler. Ketiga mempelajari melalui model stokastik dan diskrit. Keempat efek kebisingan atau noise (model stokastik vs. deterministik) dan ruang atau space (model homogen vs. heterogen) pada prediksi fisiologis (Grima and Schnell, 2008).

6.1 Model Klasik Kinetika Reaksi Kimia

Semua jalur reaksi dapat didekomposisi menjadi serangkaian langkah reaksi elementer, yang masing-masing dapat berupa unimolekuler atau bimolekuler. Pertimbangkan reaksi kimia yang terjadi dalam wadah kubik kecil dengan panjang sisi L . Jika suatu campuran homogen di seluruh wadah sepanjang waktu, maka suatu kondisi yang dapat diperoleh dengan pengadukan konstan. Keadaan campuran pada setiap titik waktu sepenuhnya dijelaskan oleh jumlah total partikel dari setiap spesies molekul dalam wadah. Saat $n_{[I]}$ menjadi jumlah total partikel spesies I dalam wadah; maka konsentrasi spesies, dilambangkan dengan $[I]$, sama dengan $n_{[I]} / L^3$. Untuk reaksi biomolekul reversibel, $A + B \rightleftharpoons [k_1] C$, laju reaksi maju (yaitu jumlah peristiwa molekuler

yang mengarah ke reaksi sukses per satuan volume per satuan waktu) adalah $k_1 [A][B]$, sedangkan laju reaksi mundur adalah $k_{-1} [C]$. Persamaan laju (RE) untuk spesies C kemudian diberikan oleh persamaan klasik yang sudah dikenal (Grima and Schnell, 2008). Persamaan 1 dapat dilihat sebagai berikut:

$$d[C] / dt = k_1 [A] [B] - k_{-1} [C]$$

Asumsi penting yang tersirat dalam RE adalah bahwa konsentrasi lokal di setiap titik dalam ruang di dalam wadah harus sama dengan konsentrasi global setiap saat. Dengan kata lain, semua gradien konsentrasi harus nol. Dan, sebagai hasilnya, model non-spasial cukup untuk menggambarkan kinetika. Hal ini disebut asumsi homogenitas (Grima and Schnell, 2008).

Dalam aplikasi industri, hal ini mudah dipenuhi dengan pengadukan konstan (konvektif). Di dalam sel, homogenitas hanya diperoleh jika koefisien difusi efektif cukup besar. Yang terakhir tidak dapat dianggap 'a priori'. Kriteria matematis yang tepat untuk difusi agar cukup untuk mempertahankan homogenitas di dalam wadahnya adalah $D \tau \gg L^2$, dimana D adalah koefisien difusi molekuler dan τ adalah umur rata-rata molekul reaktan. Jarak $l_k = D\tau$ adalah ukuran jarak yang ditempuh oleh molekul selama masa hidupnya (Grima and Schnell, 2008).

Ukuran jarak tersebut terkadang disebut sebagai panjang Kuramoto. Jika $l_k \gg L$, maka setiap fluktuasi konsentrasi pada titik tertentu di dalam wadah dengan cepat berdifusi ke seluruh bagian wadah dan homogenitas dipertahankan sepanjang waktu. Di sisi lain, jika $l_k \ll L$, fluktuasi tetap terlokalisasi di wilayah tempat terjadinya dan bagian yang jauh dari wadah akan memiliki konsentrasi yang berbeda dan, akibatnya, homogenitas tidak dapat diasumsikan. Estimasi panjang Kuramoto bergantung pada penentuan masa hidup molekuler (Grima and Schnell, 2008).

Secara umum, agar homogenitas diasumsikan, panjang Kuramoto dari setiap spesies molekuler di jalur harus memenuhi batasan yang jauh lebih besar dari ukuran wadah. Jika tidak demikian, maka diperlukan deskripsi matematis tentang evolusi waktu dari konsentrasi lokal. Dapat dikatakan bahwa model spasial dimana difusi dijelaskan secara eksplisit (Grima and Schnell, 2008).

Hal tersebut dapat dicapai dengan membagi volume wadah menjadi banyak elemen kubik kecil dengan ukuran linier δL , sedemikian rupa sehingga dalam setiap elemen berlaku homogenitas, yaitu $\delta L \ll l_k$. Laju perubahan konsentrasi spesies C dalam setiap unsur disebabkan oleh (i) reaksi antara molekul tipe A dan B di dalam unsur dan (ii) karena difusi molekul yang sama tipe C dari unsur-unsur yang berdekatan. Kemudian mengikuti dinamika di setiap elemen dijelaskan oleh persamaan dari bentuk yang sama seperti persamaan 1 dengan istilah difusi tambahan (Grima and Schnell, 2008). Persamaan 2 dapat dilihat sebagai berikut:

$$\partial[C] / \partial T = k_1[A][B] - k_{-1}[C] + D \nabla^2[C]$$

Ini disebut persamaan reaksi-difus (*reaction-diffusion equation* / RDE). Sementara RE dan RDE berbeda dengan apakah asumsi homogenitas berlaku untuk seluruh atau sebagian volume di mana reaksi terjadi. Keduanya memiliki asumsi implisit yang sama. Asumsi tersebut yaitu keduanya merupakan pendekatan deterministik. Konsentrasi dalam persamaan ini adalah konsentrasi rata-rata dan dengan demikian hanya valid ketika fluktuasi stokastik terhadap rerata sangat kecil (Grima and Schnell, 2008).

6.2 Reaksi Intraseluler Menggunakan Model Klasik

Meskipun informasi tentang konsentrasi dan jumlah molekul di dalam sel terbatas, telah banyak bukti eksperimental yang beragam yang menunjukkan bahwa banyak reaksi biokimia intraseluler melibatkan nanomolar (nM) atau konsentrasi molekul reaktan yang lebih kecil. Dalam angka absolut, konsentrasi 1 nM kira-kira setara dengan 2500 molekul di dalam rata-rata sel kultur jaringan mamalia (diperkirakan sebagai bola dengan diameter sama dengan 20 mikron), sedangkan 100 nM setara dengan 100 molekul di dalam sel bakteri *Escherichia coli* (diperkirakan sebagai silinder dengan diameter satu mikron dan panjang dua mikron) (Grima and Schnell, 2008).

Jumlah mutlak molekul pengatur telah dilaporkan sekitar seribu per sel untuk dua protein ragi endogen, paling banyak beberapa ribu per sel untuk protein yang terlibat dalam jam sirkadian mamalia, dan berkisar dari puluhan hingga ratusan per sel untuk molekul di beberapa bakteri. Sebaliknya, hanya beberapa ratus yang diperlukan untuk menginduksi kemotaksis pada sel amoeboid, untuk memperluas kerucut pertumbuhan pada sel akar ganglion dorsal ayam atau untuk menginduksi respon kalsium intraseluler pada sel HeLa (Grima and Schnell, 2008).

Konsentrasi 1 nM sesuai dengan jarak antar molekul rata-rata kira-kira sama dengan satu mikron sedangkan 100 nM sesuai dengan kira-kira sama dengan seperempat mikron. Perhatikan bahwa besarnya skala panjang antarmolekul sebanding dengan ukuran tipikal banyak kompartemen intraseluler di dalam sel. Misalnya, ukuran lisosom adalah 0,2 sampai 0,5 mikron, ukuran mitokondria adalah 0,5 sampai satu mikron dan ukuran nukleus adalah 3 sampai 10 mikron (Grima and Schnell, 2008).

Penting untuk diingat bahwa tidak semua metabolit di dalam sel memiliki konsentrasi dalam kisaran nanomolar. Sejumlah intermediet glikolitik dalam bakteri *Lactobacillus lactis* dilaporkan dalam kisaran puluhan milimolar. Konsentrasi seperti

itu sesuai dengan jarak antar molekul rata-rata l_i kira-kira sama dengan 10 nanometer, skala panjang yang jauh lebih kecil daripada skala kompartemen intraseluler (Grima and Schnell, 2008).

Fakta bahwa konsentrasi nanomolar sesuai dengan jarak antarmolekul yang sebanding dengan ukuran kompartemen intraseluler memiliki implikasi penting untuk validitas asumsi kontinum dan homogenitas di dalam sel. Pembagian sel-sel eukariotik menjadi kompartemen-kompartemen yang terikat membran yang berbeda secara fungsional berarti bahwa sebuah sel masih jauh dari kantong metabolit yang tercampur dengan baik. Kompartemen menyediakan sel dengan ruang aqueous khusus yang fungsional, terpisah dari sitosol (Grima and Schnell, 2008).

Telah diketahui bahwa enzim dari beberapa jalur metabolisme tidak terjadi di sitoplasma aqueous. Hal ini terjadi sebaliknya, beberapa jalur metabolisme disusun menjadi unit struktural dan fungsional, biasanya berada di membran atau komponen sitoskeleton. Beberapa contoh termasuk perancah dan adaptor protein (berfungsi sebagai situs docking untuk perakitan berbagai kompleks pada membran plasma), enzim yang terlibat dalam metabolisme lipid dan enzim yang terlibat dalam glikolisis (Grima and Schnell, 2008).

Asumsi homogenitas berlaku untuk skala panjang jauh lebih kecil daripada ukuran tipikal kompartemen intraseluler (skala panjang terakhir sama dengan L_s) dan dari panjang molekul Kuramoto. Karena jarak antar molekul sebanding dengan ukuran kompartemen intraseluler, jumlah molekul reaktan di wilayah spasial dengan ukuran ini biasanya akan sangat kecil sehingga sifat diskritnya tidak dapat diabaikan dan perkiraan kontinumnya rusak. Maka dari itu tidak mungkin kedua asumsi tersebut dapat bertahan secara bersamaan. Oleh karena itu penggunaan model klasik tampaknya tidak sesuai untuk memodelkan reaksi dengan konsentrasi nanomolar. Dan tidak terhindarkan bahwa model

kinetika kimia intraseluler dengan persyaratannya berlaku untuk skala panjang, perkiraan homogenitas (Grima and Schnell, 2008).

6.3 Model Diskrit Dan Stokastik Kinetika Reaksi Kimia

Model diskrit merupakan model di mana perubahan temporal dalam kerapatan partikel di suatu wilayah ruang terjadi dengan jumlah bilangan bulat. Model diskrit dapat bersifat deterministik atau stokastik. Ketika fluktuasi jumlah rerata partikel dalam volume tertentu kecil, maka model deterministik dalam kondisi konsentrasi rerata biasanya cukup. Jika tidak, model stokastik akan dibutuhkan. Di daerah kubik ruang berukuran δL di mana jumlah rata-rata partikel sama dengan ' n '. Sementara, fluktuasi rerata adalah urutan $\sqrt{N}$ (Grima and Schnell, 2008).

Konsentrasi 1nM dalam kotak 2 mikron kubik. Konsentrasi tersebut mewakili volume yang ditempati oleh organel khas dalam sel mamalia. Selain itu konsentrasi itu akan menyiratkan sekitar 5 ± 2 partikel di dalam kotak. Ukuran fluktuasi sebanding dengan rata-rata, deskripsi stokastik kinetika reaksi kimia diskrit menjadi pilihan untuk proses intraseluler. Hal itu terjadi di mana satu atau lebih konsentrasi metabolit berada dalam kisaran nanomolar (Grima and Schnell, 2008).

Ada dua jenis formulasi kinetika kimia diskrit dan stokastik, paralel persis dengan pendekatan RE dan RDE klasik. Pada kasus di mana reaktan bersifat homogen. Dan kemudian kasus di mana reaktan bersifat heterogen dalam wadah. Dalam hal ini, istilah wadah mengacu pada sel. Unsur-unsur kecil ruang tempatnya dibagi adalah kompartemen intraseluler atau wilayah spasial yang lebih kecil (Grima and Schnell, 2008).

Ketika reaksi kimia bimolekuler non-reversibel yang terjadi dalam wadah berukuran L antara dua spesies kimia yang berbeda, yaitu : $A + B \xrightarrow{[k]} C$. Dapat diasumsikan bahwa reaksi terjadi dalam kondisi tercampur dengan baik, yaitu $L \ll l_k$, tetapi tidak

mengharuskan L jauh lebih besar daripada jarak antarmolekul tipikal. Jika sebuah jumlah molekul diskrit bilangan bulat bukan kontinyu namun konsentrasi bernilai nyata (Grima and Schnell, 2008).

Diasumsikan bahwa kondisi tercampur dengan baik, posisi dan kecepatan masing-masing molekul dapat diabaikan. Dan dengan demikian keadaan sistem setiap saat ditentukan sepenuhnya oleh jumlah molekul dari kedua spesies. Pada kedua spesies tersebut dengan jumlah molekul tipe C dapat menjadi diabaikan. Hal tersebut karena tidak berkontribusi pada kinetika reaksi (Grima and Schnell, 2008).

Misalkan $P(n_A, n_B, t)$ adalah probabilitas bahwa dalam wadah terdapat n_A molekul spesies A dan n_B molekul spesies B pada waktu t . Vektor keadaannya adalah (n_A, n_B) . Menerapkan hukum probabilitas menghasilkan persamaan yang menggambarkan evolusi waktu sistem (Grima and Schnell, 2008). Persamaan 3 dapat dilihat sebagai berikut :

$$\frac{d}{dt} P(n_A, n_B, t) = T(n_A, n_B | n_A+1, n_B+1) - P(n_A+1, n_B+1, t) \\ T(n_A-1, n_B-1 | n_A, n_B) P(n_A, n_B, t)$$

Pada persamaan tersebut di mana $T(n_A', n_B' | n_A, n_B) \Delta t$ memberikan probabilitas peristiwa reaksi bimolekul tunggal yang terjadi dalam interval waktu Δt dan menyebabkan vektor keadaan berubah dari (n_A, n_B) ke (n_A', n_B') . Suku pertama menyatakan perubahan keadaan $(n_A+1, n_B+1) \rightarrow (n_A, n_B)$ sedangkan suku kedua menyatakan perubahan keadaan $(n_A, n_B) \rightarrow (n_A-1, n_B-1)$ (Grima and Schnell, 2008).

Pada persamaan 3 sering disebut Persamaan Utama – Master Equation atau Chemical Master Equation (CME) untuk reaksi bimolekuler. Fungsi T biasanya disebut sebagai fungsi kecenderungan. Untuk reaksi yang ditinjau, T harus sebanding dengan k (konstanta laju makroskopik yang sudah dikenal) dan

dengan jumlah pasangan AB dalam volume reaksi tetapi berbanding terbalik dengan volume wadah (karena volume yang lebih besar menyiratkan pertemuan sukses yang lebih jarang) (Grima and Schnell, 2008).

CME hanya dapat diselesaikan dengan tepat dalam beberapa kasus sederhana. Hal tersebut mengakibatkan simulasi komputer seringkali penting. Metode simulasi yang paling umum adalah algoritma simulasi stokastik (*stochastic simulation algorithm* / SSA) dari Gillespie. Ada beberapa paket perangkat lunak simulasi stokastik yang tersedia untuk simulasi CME melalui algoritma Gillespie. Perangkat lunak tersebut misalnya Dizzy, BioNetS dan Dynetica (Grima and Schnell, 2008).

Saat ini telah banyak model yang mengasumsikan kondisi yang tercampur dengan baik di seluruh volume ruang di mana proses intraseluler yang menarik terjadi. Model-model ini dibangun dengan mendekomposisi jalur reaksi yang relevan menjadi serangkaian langkah-langkah reaksi elementer unimolekuler dan bimolekular. Dan kemudian menulis persamaan induk untuk setiap langkah. Prosedur tersebut sekarang telah diterapkan untuk mempelajari sejumlah besar proses intraseluler, termasuk jaringan pengatur genetik, siklus substrat enzimatis (motif kontrol berulang dalam jaringan molekul biologis), kinetika enzim tunggal dan jam circadian *Drosophila*, *Neurospora* dan mamalia (Grima and Schnell, 2008).

Adanya suatu asumsi bahwa frekuensi tumbukan sebanding dengan perkalian jumlah spesies partikel; ini terbukti baik dalam bentuk persamaan 1 maupun dalam fungsi kecenderungan. Jika distribusi kecepatan Maxwell dipertahankan, maka asumsi frekuensi tumbukan sebanding dengan perkalian jumlah spesies partikel adalah benar (Grima and Schnell, 2008).

Ketika proses transpor yang dominan adalah difusi anomali, kecepatan molekul tidak mengikuti distribusi Maxwell; Proses transpor itu merupakan kasus ketika ada efek crowding molekul

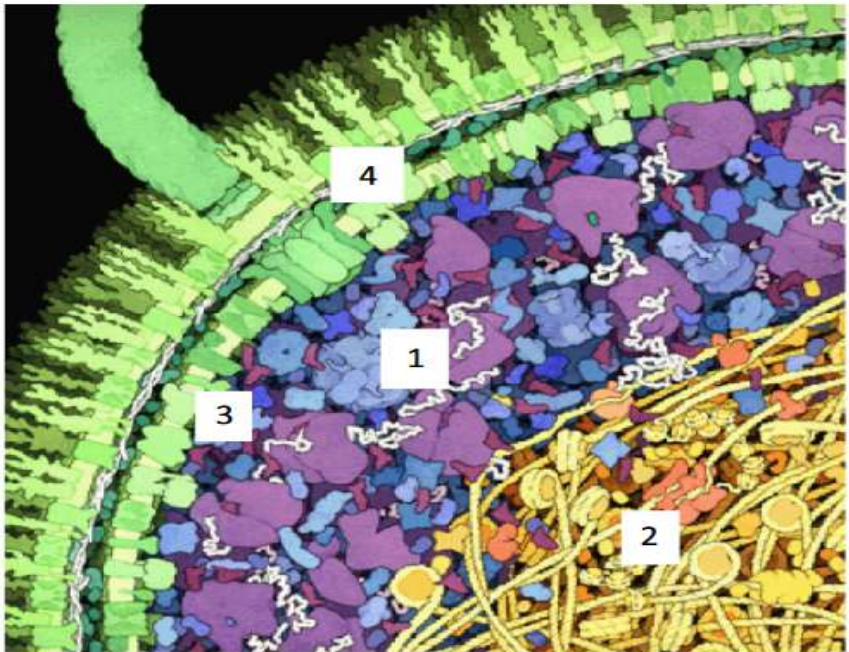
yang signifikan di wilayah sel di mana reaksi terjadi. Efek crowding molekul tersebut misalnya pada tiga gerakan protein di dalam membran sel, di nukleoplasma dan dalam sitoplasma sel HeLa dan *E. coli*). Deskripsi kinetika reaksi dengan adanya crowding membutuhkan pendekatan yang lebih canggih daripada CME (Grima and Schnell, 2008).

Mempelajari 'in-cell crowding' adalah untuk memasukkan protein pelacak berlabel fluoresensi atau isotop ke dalam sel melalui transfeksi, mikroinjeksi, atau ekspresi rekombinan. Kinetika dan/atau kesetimbangan reaksi yang melibatkan spesies pelacak kemudian dicirikan dengan mikroskop fluoresensi atau spektroskopi NMR. Perkiraan konsentrasi total makromolekul (protein, asam nukleat, polisakarida) dalam rentang sel dari 200 sampai lebih dari 400 g/l. tetapi perkiraan ini sangat kasar dan tidak membedakan antara spesies bergerak atau difusi dan tidak bergerak (Rivas and Minton, 2016).

Meskipun sel utuh menghadirkan sistem yang menarik untuk mempelajari 'crowding in vivo', interpretasi hasil yang diperoleh dari mempelajari 'crowding in vivo' harus memperhitungkan kompleksitas dan heterogenitas interior seluler. Bahkan organisme prokariotik (misalnya sel *Escherichia coli*) yang paling sederhana menyediakan berbagai lingkungan mikro yang komposisinya cukup berbeda. Sehingga satu jenis molekul probe dalam masing-masing lingkungan mikro ini dapat menunjukkan sifat transportasi dan termodinamika yang berbeda secara signifikan, yang mungkin berasal tidak hanya dari kepadatan massal tetapi juga dari kurungan, adsorpsi, dan pemisahan fase cair-cair (Rivas and Minton, 2016).

Pada bagian dalam sel eukariotik jauh lebih kompleks, mengandung berbagai organel yang tertutup membran serta jaringan serat sitoskeleton. Kontribusi relatif dari crowding, kurungan, dan adsorpsi terhadap reaktivitas makromolekul kemungkinan akan berbeda antara masing-masing lingkungan

mikro intraseluler (Rivas and Minton, 2016). Ilustrasi interior organisme prokariotik, misalnya sel *Escherichia coli* dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 6.1. Ilustrasi interior organisme prokariotik – sel *Escherichia coli*.

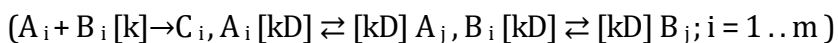
Pada gambar 6.1, terdapat empat microcompartments yang berbeda ditunjukkan. Keempat microcompartments tersebut yaitu (1) Sitoplasma di luar nukleoid, terdiri dari protein yang larut, asam ribonukleat, dan rakitan makromolekul seperti ribosom dan proteasom; (2) Bagian dalam nukleoid, dengan konsentrasi lokal DNA dan protein pengikat DNA dan kondensasi DNA yang sangat tinggi; (3) Daerah yang berbatasan langsung dengan membran plasma bagian dalam, mengandung konsentrasi lipid membran

lokal dan protein membran intrinsik yang tinggi; (4) Periplasm, mengandung protein membran dan proteoglikan interstitial dengan konsentrasi lokal yang tinggi (Rivas and Minton, 2016).

Persamaan stokastik dapat diturunkan dengan mengaturnya. Jika panjang molekul Kuramoto jauh lebih kecil daripada wadah sehingga mengarah ke heterogenitas spasial yang signifikan dalam konsentrasi. Maka pendekatan konseptual dapat diadopsi sama seperti yang digunakan sebelumnya untuk menurunkan persamaan reaksi-difusi deterministik. Namun pendekatan konseptual tersebut dengan satu perbedaan penting yaitu pendekatan kontinum tidak dibuat (Rivas and Minton, 2016).

Volume reaksi dibagi menjadi m kubus kecil dengan panjang sisi δL , sehingga reaksi tercampur dengan baik di setiap kubus, yaitu $\delta L \ll l_k$. Reaksi di dalam setiap kubus dapat diperlakukan dengan cara yang sama seperti pada bagian sebelumnya. Namun, sekarang kita harus mempertimbangkan difusi antara kubus yang bertetangga (seperti yang juga terjadi pada RDE). Difusi spesies A antara dua kubus yang berdekatan, i dan j , dapat direpresentasikan sebagai $A_i[k_D] \rightleftharpoons [k_D] A_j$ di mana $k_D = D / z\delta L^2$ adalah kecepatan di mana molekul berdifusi di antara dua kubus (z adalah jumlah kubus terdekat yang berdekatan) (Grima and Schnell, 2008).

Sehingga terlihat bahwa difusi secara matematis setara dengan serangkaian proses unimolekular. Oleh karena itu, Dapat menggambarkan reaksi dan difusi di seluruh ruang dengan menulis CME untuk serangkaian proses reaksi. Proses reaksi ini disebut persamaan induk multivariat atau reaction-diffusion master equation (RDME) (Grima and Schnell, 2008). Persamaan dapat dilihat pada berikut ini:



Perlakuan analitik menyeluruh dari persamaan ini dapat ditemukan pada simulasi RDME yang efisien dalam konteks biologis dapat dicapai dengan ekstensi dan varian algoritma Gillespie. Misalnya SmartCell dan MesoRD. Masalah penting yang harus diselesaikan sebelum sistem yang diperluas secara spasial dapat disimulasikan menggunakan RDME adalah penentuan ukuran δL elemen kubik kecil di mana homogenitas diasumsikan berlaku (Grima and Schnell, 2008).

Cara paling mudah untuk memastikan ukuran kubus yang tepat untuk digunakan dalam simulasi tertentu membutuhkan perbandingan frekuensi transfer molekul. Pada perbandingan frekuensi transfer molekul memiliki difusi antara kubus yang berdekatan, f_d , dan frekuensi reaksi kimia yang terjadi di dalam kubus, f_c . Ketika $f_d \gg f_c$, homogenitas di dalam setiap kubus terjamin; jika tidak, ukuran kubus yang lebih kecil harus dipilih (Grima and Schnell, 2008).

Selain penggunaan RDME dan simulasinya melalui variasi algoritma Gillespie. Terdapat kerangka kerja matematika dan simulasi lain yang tersedia untuk memodelkan kinetika stokastik dalam kondisi heterogen. Metode kelompok renormalisasi teori lapangan dapat memberikan pendekatan analitis alternatif. Sedangkan perangkat lunak berdasarkan dinamika Brown. Perangkat lunak tersebut misalnya, Smoldyn, Virtual Cell dan M-cell. Perangkat-perangkat tersebut menyediakan stokastik spasial simulasi dengan detail molekul tunggal (Grima and Schnell, 2008).

Hingga saat ini terdapat beberapa contoh di mana model stokastik spasial telah digunakan untuk memodelkan kinetika intraseluler yang realistis. Model stokastik spasial tersebut termasuk jalur pensinyalan kemotaksis bakteri, osilasi min-protein pada *E. coli* yang tersedia pada halaman website MesoRD, transmisi saraf pada ganglion silia anak ayam dan gelombang kalsium pada neuroblastoma terdiferensiasi sel (Grima and Schnell, 2008).

Berdasarkan perlakuan model stokastik spasial, dapat dianggap bahwa k_D sebagai konstanta di seluruh ruang; dengan membiarkan parameter ini menjadi fungsi ruang. Ketika menggunakan atau memperoleh model stokastik dan diskrit dari reaksi intraseluler dan lingkungan intraseluler kompleks tempat terjadinya. Misalnya, membran permeabel dapat dimodelkan dengan mensyaratkan nilai k_D untuk setiap kubus yang mendiskritisasi membran berbeda dari nilai k_D untuk setiap kubus mendiskritisasi sitosol sekitarnya (Grima and Schnell, 2008).

Dengan cara pemodelan membran permeabel, maka sejumlah geometri sitoplasma kompleks dapat dengan mudah dimodelkan. Terdapat proses intraseluler di mana difusi anomali adalah proses transportasi yang dominan dapat dimodelkan dengan RDME dengan memperkenalkan distribusi spasial hambatan yang tidak dapat ditembus dalam volume reaksi (untuk diskusi tentang hubungan antara difusi anomali dan konsentrasi hambatan lihat Saxton) (Grima and Schnell, 2008).

6.4 Model Homogen Versus Heterogen

Model kinetika intraseluler stokastik sebagian besar saat ini mengasumsikan pencampuran yang baik di wilayah intraseluler tempat reaksi terjadi. Model kinetika intraseluler stokastik ini hanyalah perkiraan model stokastik yang diperluas secara spasial. Sehingga prediksinya dapat diharapkan realistis secara fisik, hanya ketika panjang Kuramoto dari setiap spesies molekul yang berinteraksi secara signifikan lebih besar daripada diameter sel. Jika koefisien laju dan perkiraan jumlah molekul diketahui maka kondisi di atas dapat diperiksa dengan perhitungan eksplisit menggunakan rumus persamaan-persamaan. Jika tidak, perhitungan dapat secara eksperimental menandai spesies molekuler kunci dengan protein fluoresen hijau dan menganalisis distribusi spasial selama periode waktu tertentu (Grima and Schnell, 2008).

Secara umum, jika skema reaksi yang dipertimbangkan melibatkan satu atau lebih reaksi terbatas-difusi. Reaksi terbatas-difusi yaitu probabilitas reaksinya mendekati satu (misalnya, model kinetika enzim super efisien), maka prediksinya model homogen mungkin salah. Dalam kasus ini, molekul reaktan bergerak agak jauh sebelum bereaksi, menyiratkan bahwa konsentrasi di wilayah ruang yang berbeda akan berkembang seiring waktu dengan cara yang berbeda. Misalnya, simulasi stokastik homogen dari reaksi bimolekul terbatas difusi (Grima and Schnell, 2008). Reaksinya dapat dilihat sebagai berikut :



Reaksi bimolekul terbatas difusi tersebut dengan konsentrasi reaktan awal yang sama melalui algoritme Gillespie dan analisis melalui perluasan Van-Kampen. Reaksi bimolekul terbatas difusi tersebut menunjukkan bahwa rata-rata konsentrasi reaktan mengikuti hukum peluruhan klasik (Grima and Schnell, 2008). Reaksinya dapat dilihat sebagai berikut :

$$[A] = [B] \propto 1/t$$

Hukum peluruhan klasik tersebut dalam semua dimensi spasial. Sedangkan secara spasial simulasi diperpanjang menunjukkan bahwa hukum peluruhan waktu lama yang benar (Grima and Schnell, 2008). Reaksi hukum peluruhan dapat dilihat sebagai berikut :

$$[A] = [B] \propto 1/t - d/4$$

Hukum peluruhan waktu lama di mana 'd' adalah dimensi ruang. Perhatikan bahwa reaksi berlangsung lebih lambat dari yang diperkirakan oleh model non-spasial yang sesuai; Hal ini

disebabkan oleh, selama berlangsungnya reaksi, domain bolak-balik dari partikel A-only dan B-only terbentuk dan reaksi dapat berlangsung hanya pada batas domain daripada di seluruh volume ruang, seperti yang diasumsikan oleh non-spasial (Grima and Schnell, 2008).

Model non-spasial tersebut merupakan posisi partikel dalam ruang dua dimensi, pada waktu tertentu, dari dua jenis partikel, A (lingkaran putih) dan B (lingkaran hitam padat), yang terlibat dalam reaksi bimolekul, $A + B \rightarrow C$. Simulasi bersifat spasial dan stokastik. Pemisahan menjadi domain kaya-A dan kaya-B menyebabkan laju reaksi berkurang dibandingkan dengan prediksi model non-spasial (Toussaint and Wilczek, 1983).

Perbedaan antara hukum peluruhan konsentrasi yang diprediksi oleh model non-spasial dan spasial meningkat dengan penurunan dimensi. Perbedaan ini memiliki implikasi mendalam untuk pemodelan jaringan biokimia intraseluler di mana beberapa reaksi terjadi melalui gerakan dimensi rendah yang efektif. Mekanisme yang dapat digunakan yaitu kombinasi difusi tiga dimensi (dalam sitosol) dan satu atau dua dimensi (misalnya meluncur sepanjang polimer linier atau permukaan membran). Mekanisme ini memfasilitasi lokasi target dan juga kemungkinan cukup umum di dalam sel. Misalnya, satu dimensional gliding dari tetrameric *E. coli* lac repressor dan polimerase RNA sepanjang rantai DNA untuk menemukan binding sites spesifik (Grima and Schnell, 2008).

Prediksi model stokastik dan diskrit dengan model deterministik dan kontinyu yang sesuai untuk sistem biologis atau biokimia tertentu. Telah diketahui bahwa efek stokastik memainkan peran penting dalam biologi sel, memberikan penyempurnaan moderat pada perilaku yang diprediksi oleh deskripsi sistem deterministik klasik. Selain itu, deskripsi deterministik cukup untuk menangkap perkiraan, perilaku

fisiologis kualitatif yang diperlihatkan oleh sistem biologis nyata (Grima and Schnell, 2008).

Beberapa contoh deskripsi deterministik termasuk model siklus sel ragi pemula, jalur glikolisis dalam ragi dan *Lactobacillus lactis* dan regulasi umpan balik dalam operon laktosa. Namun, ada juga banyak contoh di mana telah ditunjukkan bahwa efek stokastik mengarah pada prediksi fisiologis yang tidak dapat direproduksi secara kualitatif atau kuantitatif dengan model deterministik yang sesuai. Contoh yang menonjol dari model deterministik terjadi pada model osilasi biokimia (misalnya, ritme sirkadian, osilasi kalsium, dan osilasi konsentrasi ADP dan ATP dalam glikolisis) di mana telah ditunjukkan bahwa noise umumnya memperluas wilayah ruang parameter di mana siklus diperkirakan akan terjadi dengan model deterministik (Grima and Schnell, 2008).

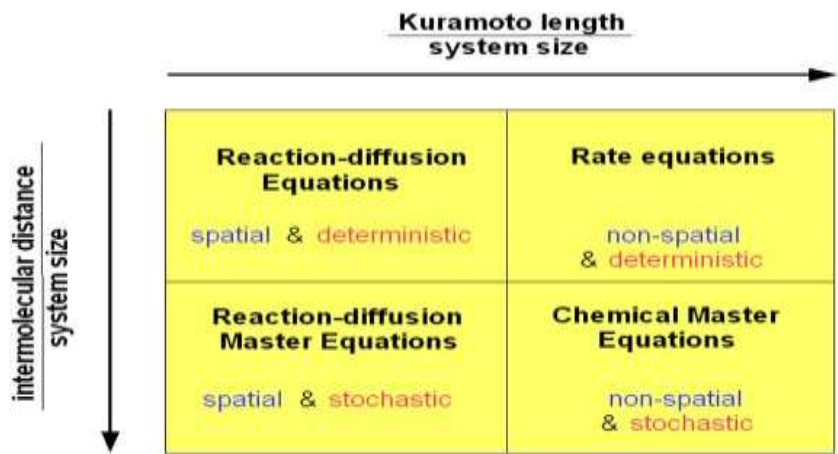
Model deterministik tersebut misalnya pada perbandingan prediksi model RE (ode) dan CME (*low stochasticity, high stochasticity*) untuk osilator sirkadian di *Drosophila*. Parameter V (sumbu x) adalah laju transkripsi gen. Sedangkan frekuensi M (p (sumbu y) adalah frekuensi siklus konsentrasi mRNA. Dimana warna-warna yang terbentuk menjadi warna yang mewakili kekuatan log frekuensi. Maka osilasi secara paradoks ditingkatkan oleh noise; untuk tingkat transkripsi yang rendah, model stokastik memprediksi osilasi yang signifikan sedangkan yang deterministik tidak memprediksi apa pun (Orrell dan Hamid, 2004).

Dalam beberapa kasus noise bahkan dapat menyebabkan osilasi dalam sistem di mana model deterministik yang sesuai memprediksi bahwa tidak ada osilasi yang mungkin terjadi di seluruh ruang parameter. Sebagai contoh, noise dapat menyebabkan siklus dalam skema reaksi yang melibatkan hanya dua bahan kimia sedangkan model deterministik memprediksi bahwa setidaknya diperlukan tiga bahan kimia. Secara umum, telah ditemukan bahwa fluktuasi dapat menyebabkan keadaan tunak

dalam sistem reaksi-difusi kimia yang tidak diprediksi oleh RDE (Grima and Schnell, 2008).

6.5 Penentuan Model Kinetika Reaksi Dalam Sel

Pada keempat metodologi utama untuk memodelkan kinetika reaksi dalam sel. Maka dilakukan penentuan model mana yang paling relevan untuk analisis jalur reaksi intraseluler tertentu terkait erat dengan sifat fisik wilayah intraseluler tempat terjadinya dan juga dengan konsentrasi kimia khas yang terlibat dalam reaksi (Grima and Schnell, 2008). Skema keempat model kinetika reaksi dalam sel dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 6.2. Empat model model kinetika reaksi dalam sel

Pada skema empat model model kinetika reaksi dalam sel. Tergambarkan bahwa empat strategi pemodelan dan kondisi yang mendasari penggunaan dan validitasnya. Besarnya panjang Kuramoto dan jarak antar molekul dibandingkan dengan ukuran sistem menentukan apakah asumsi homogenitas dan kontinum berlaku, masing-masing (Grima and Schnell, 2008).

Secara khusus saat penggunaan keempat model tersebut, terdapat hal yang perlu dipertimbangkan. Seperti memperkirakan skala panjang Kuramoto, ukuran wilayah intraseluler tempat terjadinya reaksi dan rata-rata jarak antar molekul. Hal ini dapat diperkirakan dari pengetahuan tentang koefisien difusi, konstanta reaksi dan konsentrasi molekul. Pada saat memilih model yang tepat untuk aplikasi yang ada, perlu memastikan interpretasi yang tepat dari data eksperimen. Misalnya, analisis data yang diperoleh dari teknik single-molecule imaging (SMI) (Grima and Schnell, 2008).

6.6 Aplikasi Model Kinetika Reaksi Dalam Sel

Aplikasi model kinetika dapat dilakukan untuk mempelajari kinetika fermentasi. Penggambaran sel mikroba dilakukan dengan mengkombinasi penelitian eksperimental dan pemodelan matematika. Hal tersebut memberikan interpretasi yang lebih baik. Model matematikanya adalah model kinetik. Pertumbuhan sel mikroba tergambarkan dari beragam perspektif dan dengan berbagai tingkat kompleksitas. Misalnya berdasarkan structuring at the population level atau structuring at the cell level (Mrwebi 2004). Maka bermacam model-model kinetik dapat dikembangkan agar mendeskripsikan pertumbuhan mikroba pada berbagai kondisi atau situasi.

Pendekatan pertumbuhan sel ada empat yaitu unstructured non-segregated, unstructured segregated, structured non-segregated, structured segregated. Pengertian unstructured yaitu komponen, struktur, dan reaksi yang terjadi di dalam sel dianggap sama. Sementara, pendekatan structured yaitu dimana komponen, struktur, dan reaksi yang terjadi di dalam sel dibedakan, dengan kata lain sel dianggap kompleks. Selain itu, pendekatan segregated yaitu dimana individu sel di dalam populasi dibedakan satu sama lain atau heterogen. pendekatan segregated ini misalnya, umur dan perhitungan massa sel. Dan kemudian non-segregated yaitu

individu sel di dalam populasi dianggap sama atau homogen. Homogen yang dimaksud yaitu pada umur dan massa sel dirata-rata atau dianggap identik (Nielsen et al. 2003).

Pada parameter kinetika fermentasi, parameter yang dapat digunakan yaitu nilai laju spesifik (μ , q_S , q_P , μ_{max} , K_d , dan m), yield coefficient (YX/S , Y_P/S , dan $YX/S(\text{growth})$), konstanta saturasi atau konstanta Monod (K_S), serta konsentrasi akhir sel maksimum (X_{max}). Parameter-parameter kinetik tersebut diperoleh melalui perhitungan yang selanjutnya digunakan dalam menggambarkan proses fermentasi serta digunakan dalam simulasi. Simulasi dilakukan untuk menggambarkan keseluruhan proses fermentasi pada berbagai level atau konsentrasi medium sintesis. Selama fermentasi berlangsung, sel berlipat ganda, mengkonsumsi substrat, dan memproduksi produk (misalnya bioetanol) pada selang waktu tertentu. Fenomena tersebut dapat dijelaskan secara kuantitatif oleh parameter kinetik, seperti laju pertumbuhan sel spesifik (μ), laju konsumsi substrat spesifik (q_S), dan laju pembentukan produk spesifik (q_P) (Fahlevi, 2019)

6.7 Rangkuman

Kinetika reaksi intraseluler dapat dimodelkan menggunakan empat pendekatan utama yang berbeda (RE, RDE, CME, RDME); pilihan model yang tepat untuk jalur reaksi tertentu yang sedang dipelajari bergantung pada konsentrasi dan panjang Kuramoto dari semua spesies molekuler, ukuran ruang intraseluler tempat terjadinya reaksi, dan tingkat kepadatan makromolekul di region nya.

Secara umum, efek stokastik, tipikal reaksi yang melibatkan konsentrasi nanomolar, tidak hanya menambah perbaikan kuantitatif sedang pada perilaku yang diprediksikan oleh model deterministik klasik (RE, RDE). Noise dapat menyebabkan perilaku fisiologis baru dan kualitatif berbeda dari yang diperkirakan oleh model deterministik.

TUGAS DAN EVALUASI

- 1) Apa yang saudara ketahui mengenai konstanta Michaelis-Menten?
- 2) Apa yang saudara ketahui mengenai model biokimia klasik?
- 3) Apa yang saudara ketahui mengenai model biokimia intraseluler?
- 4) Apa yang saudara ketahui mengenai model stokastik dan diskrit?
- 5) Apa yang saudara ketahui mengenai model homogen versus heterogen?

DAFTAR PUSTAKA

- Mrwebi M. 2004. Testing Monod: growth rate as a function of glucose concentration in *Saccharomyces cerevisiae* [thesis]. Stellenbosch (ZA): Faculty of Medicine and Health Science, University of Stellenbosch.
- Grima R, Schnell S. Modelling reaction kinetics inside cells. *Essays Biochem.* 2008;45:41-56. doi: 10.1042/BSE0450041. PMID: 18793122; PMCID: PMC2737326.
- Button DK. Biochemical basis for whole-cell uptake kinetics: specific affinity, oligotrophic capacity, and the meaning of the michaelis constant. *Appl Environ Microbiol.* 1991 Jul;57(7):2033-8. doi: 10.1128/aem.57.7.2033-2038.1991. PMID: 16348524; PMCID: PMC183517.
- Rivas, G., & Minton, A. P. (2016). Macromolecular Crowding In Vitro , In Vivo , and In Between. *Trends in Biochemical Sciences*, 41(11), 970–981. doi:10.1016/j.tibs.2016.08.013
- Orrell D and Hamid B. 2004. Control of internal and external noise in genetic regulatory networks. *Journal of Theoretical Biology*: Vol. 230, pp. 301-312. Elsevier.
- Toussaint D and Wilczek F. 1983. Particle-antiparticle annihilation in diffusive motion. *Journal of Chemical Physics*: Vol. 78, pp. 2642-2647. American Institute of Physics.
- Nielsen J, Villadsen J, Liden G. 2003. *Bioreaction Engineering Principles*. Ed 2nd. New York (US): Kluwer Ac/Plenum Pub
- Fahlevi RO. 2019. *Kinetika Fermentasi Produksi Bioetanol Menggunakan Fermentor pada Medium Sintetis Bersenyawa Inhibitor* [skripsi]. IPB University.

BAB 7

REKAYASA GENETIKA

Oleh Fathimah

7.1 Pendahuluan

Rekayasa genetik telah muncul sebagai alat revolusioner dengan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi, yang memungkinkan para ilmuwan untuk mengubah DNA organisme (Oladipo *et al.*, 2020). Teknologi ini memiliki potensi besar untuk berbagai aplikasi, termasuk produksi tanaman yang dimodifikasi secara genetik, pengembangan obat dan terapi baru, dan bahkan kemungkinan modifikasi genetik pada manusia (Aziz *et al.*, 2022). Sejak deskripsi pertama tentang teknik DNA rekombinan, banyak kemajuan telah dicapai di bidang biologi molekuler dan modifikasi genetik (Ali *et al.*, 2016). Salah satu area di mana modifikasi genetik telah menunjukkan potensi besar adalah dalam modifikasi genetik virus. Modifikasi genetik virus memungkinkan pengenalan asam nukleat asing ke dalam sel, jaringan, atau model *in vivo* dengan efisiensi tinggi dan mudah dibandingkan dengan metode lain seperti pendekatan kimia atau fisiologis (Callens *et al.*, 2021).

Teknologi modifikasi genetik tidak terbatas pada virus tetapi juga dapat diterapkan pada hewan, tanaman, bakteri, dan organisme lainnya. Teknologi modifikasi genetik telah banyak diterapkan dalam sektor pertanian untuk meningkatkan sifat tanaman. Misalnya, tanaman dapat dimodifikasi secara genetik untuk memiliki karakteristik yang lebih baik seperti ketahanan terhadap herbisida, hama, dan penyakit. Modifikasi genetik juga dapat meningkatkan rasa dan nilai gizi tanaman serta memperpanjang umur simpannya dengan menunda pematangan (Montaner *et al.*, 2023).

7.2 Mengenal Rekayasa Genetika

Rekayasa genetika adalah teknologi yang digunakan untuk memodifikasi materi genetik organisme, termasuk tanaman dan hewan, dengan cara memasukkan, menghapus, atau mengubah gen tertentu (Vega *et al*, 2022).

Perubahan teknologi langsung pada gen organisme disebut sebagai rekayasa genetika sering dikenal sebagai modifikasi genetik atau manipulasi genetik. Rekayasa genetika meliputi perubahan susunan genetik sel, baik dengan membuat DNA baru atau memindahkan gen di dalam dan di antara spesies.

Untuk menghasilkan spesies yang lebih baik atau lebih baru, dilakukan rekayasa genetika dengan menggunakan teknik DNA rekombinan atau DNA sintetis untuk mengisolasi dan mereplikasi materi genetik yang diinginkan. Prosedur ini dapat melibatkan penambahan lebih banyak salinan gen, menghilangkan area DNA Tertentu, Atau Mengubah Pasangan Basa Tunggal.

Rekayasa Genetik dapat digunakan dalam berbagai bidang menurut Tsatsakis (2017) antara lain:

1. Pertanian: Rekayasa Genetik dapat digunakan untuk meningkatkan hasil panen, mengurangi penggunaan pestisida dan herbisida, serta meningkatkan ketahanan tanaman terhadap kondisi lingkungan yang ekstrem. Contoh penggunaan Rekayasa Genetik dalam bidang pertanian adalah pengembangan tanaman jagung yang tahan terhadap serangan hama dan gulma, serta pengembangan tanaman kedelai yang tahan terhadap kondisi lingkungan yang ekstrem
2. Kedokteran: Rekayasa Genetik dapat digunakan untuk menghasilkan obat-obatan dan vaksin yang lebih efektif dan efisien. Contoh penggunaan Rekayasa Genetik dalam bidang kedokteran adalah pengembangan insulin untuk pengobatan diabetes dan pengembangan vaksin untuk mencegah penyakit tertentu.

3. Industri: Rekayasa Genetik dapat digunakan untuk menghasilkan bahan bakar nabati yang lebih ramah lingkungan dan berkelanjutan. Contoh penggunaan Rekayasa Genetik dalam bidang industri adalah pengembangan bahan bakar nabati yang lebih ramah lingkungan dan berkelanjutan.
4. Lingkungan: Rekayasa Genetik dapat digunakan untuk membersihkan lingkungan dari polutan dan limbah berbahaya. Contoh penggunaan Rekayasa Genetik dalam bidang lingkungan adalah pengembangan bakteri yang dapat membersihkan limbah berbahaya dari lingkungan.
5. Pangan: Rekayasa Genetik dapat digunakan untuk menghasilkan makanan yang lebih tahan lama, lebih bergizi, dan lebih aman dari segi kesehatan. Contoh penggunaan Rekayasa Genetik dalam bidang pangan adalah pengembangan tomat yang lebih tahan lama dan pengembangan beras yang lebih bergizi.

Rekayasa genetika sangat penting dalam konteks ilmu pengetahuan dan teknologi kontemporer karena memiliki potensi untuk memecahkan banyak masalah dan meningkatkan kualitas hidup.

7.3 Teknik Rekayasa Genetika

Berbagai teknik yang digunakan dalam rekayasa genetika, seperti homologous recombination, knockout, knockin, replacement, *random integration of DNA after direct transfection*, *transposon-mediated DNA insertion*, dan *DNA insertion mediated by viral vectors*.

7.3.1 Teknik Homologous Recombination

Homologous recombination adalah teknik rekayasa genetika yang digunakan untuk memperkenalkan perubahan spesifik pada DNA organisme dengan cara memanipulasi jalur perbaikan DNA

alami. Teknik ini melibatkan pengenalan DNA asing yang memiliki sekuens homolog dengan DNA organisme target, sehingga terjadi rekombinasi antara DNA asing dan DNA target. Dalam proses ini, fragmen DNA yang tidak diinginkan dapat dihilangkan dan digantikan dengan fragmen DNA yang diinginkan. Homologous recombination sering digunakan dalam rekayasa genetika untuk menghasilkan organisme dengan sifat-sifat yang diinginkan (Kucherlapati *et al.* 1984).

Salah satu contoh teknik homologous recombination adalah teknik gene targeting. Dalam teknik ini, DNA asing yang telah dimodifikasi dengan sekuens homolog dengan sekuens spesifik dalam genom organisme target dimasukkan ke dalam sel target. Sekuens homolog pada DNA asing akan berpasangan dengan sekuens spesifik dalam genom organisme target, dan kemudian terjadi rekombinasi homolog yang menghasilkan penggabungan DNA asing ke dalam genom organisme target. Teknik ini memungkinkan untuk mengganti atau memperbaiki sekuens spesifik dalam genom organisme target dengan sekuens yang diinginkan. Teknik gene targeting sering digunakan dalam rekayasa genetika untuk menghasilkan organisme transgenik atau untuk mempelajari fungsi gen tertentu dalam organisme. Teknik ini memiliki keuntungan yaitu menghasilkan integrasi DNA yang spesifik dan terkontrol, namun memiliki kelemahan yaitu efisiensi integrasi yang rendah dan sulit dilakukan pada organisme yang kompleks seperti mamalia (Thomas *et al.*, 1987).

7.3.2 Teknik Knockout

Knockout adalah teknik rekayasa genetika yang digunakan untuk menghilangkan atau menonaktifkan urutan DNA tertentu dalam genom organisme. Teknik ini biasanya dilakukan dengan memotong urutan DNA yang diinginkan menggunakan endonuklease, seperti CRISPR/Cas9 (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*)/CRISPR-associated protein

9), dan membiarkan sel memperbaiki kerusakan DNA dengan cara *non-homologous end joining* (NHEJ) atau *homology-directed repair* (HDR). Jika NHEJ terjadi, maka urutan DNA yang diinginkan akan hilang atau terhapus dari genom organisme. Jika HDR terjadi, maka urutan DNA yang diinginkan dapat diganti dengan urutan DNA yang diinginkan. Teknik knockout digunakan untuk mempelajari fungsi gen tertentu dalam organisme, dan dapat digunakan untuk membuat model penyakit genetik. Model knockout dapat dibuat pada hewan, seperti tikus atau mencit, atau pada sel manusia. Teknik knockout juga dapat digunakan untuk menghasilkan tanaman transgenik yang lebih tahan terhadap penyakit atau lingkungan yang berbeda. Oleh karena itu, teknik knockout adalah teknik rekayasa genetika yang penting dan sering digunakan dalam penelitian dan aplikasi bioteknologi. Penghapusan dalam genom dapat digunakan untuk **knockout** ekspresi gen (Arias *et al.*, 2019).

7.3.3 Teknik knockins

Knockin adalah teknik rekayasa genetika yang digunakan untuk menyisipkan urutan DNA baru ke dalam genom organisme. Teknik ini biasanya dilakukan dengan memotong urutan DNA yang diinginkan menggunakan endonuklease, seperti CRISPR/Cas9 (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*)/CRISPR-associated protein 9), dan memasukkan urutan DNA baru ke dalam genom organisme melalui homologous recombination. Teknik knockin dapat digunakan untuk mempelajari fungsi gen tertentu dalam organisme, dan dapat digunakan untuk membuat model penyakit genetik. Model knockin dapat dibuat pada hewan, seperti tikus atau mencit, atau pada sel manusia. Teknik knockin juga dapat digunakan untuk menghasilkan tanaman transgenik yang lebih tahan terhadap penyakit atau lingkungan yang berbeda. Selain itu, teknik knockin juga dapat digunakan untuk memasukkan sekuens DNA yang mengkodekan protein reporter, seperti GFP (*Green Fluorescent*

Protein) atau mCherry (*monomeric Cherry*), ke dalam genom organisme untuk mempelajari ekspresi gen atau untuk melacak sel atau jaringan tertentu dalam organisme. Oleh karena itu, teknik knockin adalah teknik rekayasa genetika yang penting dan sering digunakan dalam penelitian dan aplikasi bioteknologi. Metode yang efektif untuk mengubah gen adalah knockin. Dengan menyisipkan gen reporter fluoresen seperti eGFP (*enhanced GFP*) atau mCherry sedemikian rupa sehingga melemahkan gen pada posisi penyisipan, knockin dapat digunakan untuk memblokir fungsi gen, seperti halnya penghapusan genom dapat digunakan untuk mengubah fungsi gen (Mizuhashi *et al.*, 2018).

7.3.4 Teknik Replecement

Replacement adalah teknik rekayasa genetika yang digunakan untuk mengganti urutan DNA yang ada dalam genom organisme dengan urutan DNA eksogen yang diinginkan. Teknik ini biasanya dilakukan dengan memotong urutan DNA yang diinginkan menggunakan endonuklease, seperti CRISPR/Cas9, dan memasukkan urutan DNA eksogen ke dalam genom organisme melalui homologous recombination. Teknik replacement dapat digunakan untuk mempelajari fungsi gen tertentu dalam organisme, dan dapat digunakan untuk membuat model penyakit genetik. Model replacement dapat dibuat pada hewan, seperti tikus atau mencit, atau pada sel manusia. Teknik replacement juga dapat digunakan untuk menghasilkan tanaman transgenik yang lebih tahan terhadap penyakit atau lingkungan yang berbeda. Selain itu, teknik replacement dapat digunakan untuk mengganti sekuens DNA yang ada dengan sekuens DNA yang diinginkan, seperti mengganti sekuens DNA yang mengkodekan gen yang cacat dengan sekuens DNA yang normal. Teknik replacement juga dapat digunakan untuk mengganti sekuens DNA yang ada dengan sekuens DNA yang mengkodekan protein reporter, seperti GFP atau mCherry, untuk mempelajari ekspresi gen atau untuk melacak

sel atau jaringan tertentu dalam organisme. Oleh karena itu, teknik replacement adalah teknik rekayasa genetika yang penting dan sering digunakan dalam penelitian dan aplikasi bioteknologi. Replacement urutan DNA dalam genom dapat digunakan untuk mencapai dua tujuan sekaligus, seperti menghambat fungsi gen, sambil mengaktifkan fungsi gen baru (lai et al., 2015).

7.3.5 Teknik Random Integration of DNA after Direct Transfection

Random *integration of DNA after direct transfection* adalah teknik rekayasa genetika yang melibatkan pengenalan DNA asing ke dalam sel organisme dengan cara langsung, tanpa menggunakan vektor atau agen pengantar lainnya. Dalam teknik ini, DNA asing dimasukkan ke dalam sel melalui metode fisik seperti elektroporasi atau mikroinjeksi. Setelah masuk ke dalam sel, DNA asing akan secara acak terintegrasi ke dalam genom sel, tanpa mengikuti pola atau urutan tertentu (Chen *et al.*, 1987).

Salah satu contoh teknik *random integration of DNA after direct transfection* adalah penggunaan teknik transfection kalsium fosfat untuk memasukkan DNA asing ke dalam sel. Dalam teknik ini, DNA asing dan kalsium fosfat dicampur bersama dan ditambahkan ke sel target. Kalsium fosfat membantu DNA asing menempel pada permukaan sel dan masuk ke dalam sel melalui endositosis. Setelah masuk ke dalam sel, DNA asing akan mengalami integrasi acak ke dalam genom sel melalui proses *non-homologous end joining* (NHEJ) atau *homologous recombination* (HR). Teknik ini sering digunakan dalam rekayasa genetika untuk menghasilkan sel transgenik atau organisme transgenik, meskipun memiliki beberapa kelemahan, seperti efisiensi integrasi yang rendah dan risiko terjadinya mutasi atau kerusakan DNA yang tidak diinginkan (Potter *et al.*, 1991).

7.3.7 Teknik Transposon-Mediated DNA Insertion

Transposon-mediated DNA insertion adalah teknik rekayasa genetika yang melibatkan penggunaan transposon sebagai vektor untuk memasukkan DNA asing ke dalam genom organisme target. Transposon adalah elemen DNA yang dapat berpindah dari satu lokasi ke lokasi lain dalam genom, dan dapat digunakan sebagai alat untuk memasukkan DNA asing ke dalam genom organisme target. Dalam teknik ini, DNA asing dimasukkan ke dalam transposon, yang kemudian dimasukkan ke dalam sel organisme target. Setelah masuk ke dalam sel, transposon akan berpindah ke lokasi acak dalam genom dan memasukkan DNA asing ke dalam genom (Cary *et al.*, 1989).

Salah satu contoh teknik *transposon-mediated DNA insertion* adalah penggunaan transposon Sleeping Beauty sebagai vektor untuk memasukkan DNA asing ke dalam genom organisme target. Transposon Sleeping Beauty adalah elemen DNA yang dapat berpindah dari satu lokasi ke lokasi lain dalam genom, dan dapat digunakan sebagai alat untuk memasukkan DNA asing ke dalam genom organisme target. Dalam teknik ini, DNA asing dimasukkan ke dalam transposon Sleeping Beauty, yang kemudian dimasukkan ke dalam sel organisme target. Setelah masuk ke dalam sel, transposon Sleeping Beauty akan berpindah ke lokasi acak dalam genom dan memasukkan DNA asing ke dalam genom. Teknik ini sering digunakan dalam rekayasa genetika untuk menghasilkan organisme transgenik, meskipun memiliki beberapa kelemahan, seperti risiko terjadinya mutasi atau kerusakan DNA yang tidak diinginkan (Kowarz *et al.*, 2015).

7.3.7 Teknik DNA Insertion Mediated by Viral Vectors

DNA insertion mediated by viral vectors adalah teknik rekayasa genetika yang melibatkan penggunaan virus sebagai vektor untuk memasukkan DNA asing ke dalam genom organisme target. Virus dimodifikasi untuk membawa DNA asing ke dalam sel

organisme target, dan kemudian DNA asing dimasukkan ke dalam genom sel melalui integrasi virus. Teknik ini sering digunakan dalam rekayasa genetika untuk menghasilkan organisme transgenik, karena virus dapat menginfeksi sel dengan efektif dan memasukkan DNA asing ke dalam genom sel (Bushman *et al.*, 2005).

Contoh dari teknik ini adalah penggunaan lentivirus sebagai vektor untuk memasukkan gen terapi ke dalam sel manusia untuk mengobati penyakit genetik, seperti HIV dan kanker. Lentivirus dimodifikasi untuk membawa gen terapi, dan kemudian dimasukkan ke dalam sel manusia melalui integrasi virus. Setelah integrasi, gen terapi dapat diekspresikan oleh sel manusia dan membantu mengobati penyakit genetik (Cattoglio *et al.*, 2007).

7.4 Prinsip Rekayasa Genetika

Beberapa prinsip rekayasa genetika meliputi:

1. **Teknologi berbasis endonuklease:** Teknologi berbasis endonuklease, seperti CRISPR/Cas9, telah menjadi metode yang paling banyak digunakan untuk merekayasa genom, karena dapat menargetkan sekuens DNA spesifik.

Teknologi berbasis endonuklease, seperti CRISPR/Cas9, adalah metode yang paling banyak digunakan untuk merekayasa genom karena dapat menargetkan sekuens DNA spesifik. Endonuklease adalah enzim yang memotong DNA pada sekuens tertentu, dan teknologi berbasis endonuklease memanfaatkan endonuklease untuk memotong DNA pada sekuens yang diinginkan. CRISPR/Cas9 adalah salah satu teknologi berbasis endonuklease yang paling populer dan efektif. CRISPR (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*) adalah sekuens DNA yang ditemukan pada bakteri dan arkea, yang berfungsi sebagai sistem pertahanan terhadap virus dan bakteriofag (Kim *et al.*, 2014).

Cas9 (*CRISPR-associated protein 9*) adalah enzim yang digunakan oleh bakteri untuk memotong DNA virus yang masuk ke dalam sel. Dalam teknologi CRISPR/Cas9, sekuens RNA yang disebut sgRNA (*single guide RNA*) digunakan untuk memandu Cas9 untuk memotong DNA pada sekuens yang diinginkan. Setelah pemotongan, DNA dapat diperbaiki melalui proses homologous recombination atau non-homologous end joining, yang memungkinkan untuk mengganti, menambahkan, atau menghapus sekuens DNA tertentu dalam genom organisme. Teknologi berbasis endonuklease seperti CRISPR/Cas9 memungkinkan untuk merekayasa genom dengan lebih efisien dan spesifik daripada teknologi sebelumnya, seperti teknologi berbasis transgenik (Mali et al., 2013).

2. **Perlunya pemutusan kromosom:** Sebagian besar teknologi rekayasa genetika memerlukan pemutusan kromosom untuk memungkinkan integrasi DNA asing ke dalam genom organisme target.

Sebagian besar teknologi rekayasa genetika memerlukan pemutusan kromosom untuk memungkinkan integrasi DNA asing ke dalam genom organisme target. Pemutusan kromosom dapat dilakukan dengan menggunakan teknologi berbasis endonuklease, seperti CRISPR/Cas9, atau teknologi lain seperti nukleofeksi atau elektroporasi. Pemutusan kromosom memungkinkan untuk memasukkan DNA asing ke dalam genom organisme target, yang dapat digunakan untuk merekayasa sifat-sifat organisme. Namun, pemutusan kromosom juga dapat menyebabkan perubahan yang tidak diinginkan pada genom organisme, seperti mutasi atau kromosom yang rusak. Oleh karena itu, teknologi rekayasa genetika harus dilakukan dengan hati-hati dan

mempertimbangkan etika dan keamanan, serta meminimalkan risiko terhadap organisme dan lingkungan (Boch *et al.*, 2009).

3. **Penggunaan Tes Genotyping:** Tes genotyping spesifik dan sensitif digunakan untuk mendeteksi perubahan genom yang dihasilkan oleh teknologi rekayasa genetika.

Tes genotyping digunakan untuk mengidentifikasi organisme yang mengandung modifikasi genetik yang diinginkan, seperti knockin atau knockout gen. Tes genotyping dapat dilakukan dengan menggunakan teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*), yang memungkinkan untuk mengamplifikasi sekuens DNA tertentu dari genom organisme. PCR dapat digunakan untuk mendeteksi perubahan genom yang dihasilkan oleh teknologi rekayasa genetika, seperti pemutusan kromosom atau integrasi DNA asing. Tes genotyping juga dapat dilakukan dengan menggunakan teknik lain seperti Southern blotting, Northern blotting, atau western blotting. Tes genotyping yang spesifik dan sensitif sangat penting untuk memastikan bahwa organisme yang dihasilkan memiliki modifikasi genetik yang diinginkan dan tidak memiliki perubahan genom yang tidak diinginkan (Capecchi., 2005).

4. **Pengiriman modalitas:** Modalitas pengiriman DNA asing ke dalam sel target dapat mempengaruhi karakterisasi modifikasi genetik yang dihasilkan.

Ada beberapa metode pengiriman DNA asing ke dalam sel target, seperti transduksi virus, transfeksi, elektroporasi, dan nukleofeksi. Setiap metode pengiriman memiliki kelebihan dan kekurangan masing-masing, dan dapat mempengaruhi karakterisasi modifikasi genetik yang dihasilkan. Misalnya, pengiriman DNA asing melalui virus dapat menghasilkan integrasi genom yang stabil dan efisien, tetapi dapat

menyebabkan mutasi atau perubahan genom yang tidak diinginkan. Transfeksi DNA asing ke dalam sel target dapat dilakukan dengan mudah dan murah, tetapi efisiensi pengiriman DNA asing ke dalam sel target relatif rendah. Elektroporasi dan nukleofeksi dapat meningkatkan efisiensi pengiriman DNA asing ke dalam sel target, tetapi dapat menyebabkan kerusakan pada sel dan genom organisme. Oleh karena itu, pemilihan modalitas pengiriman yang tepat sangat penting untuk memastikan karakterisasi modifikasi genetik yang dihasilkan akurat dan efisien (Capecchi., 2005).

5. **Perkembangan Teknologi:** Prinsip rekayasa genetika terus berkembang seiring dengan perkembangan teknologi, dan teknologi baru terus muncul untuk merekayasa genom dengan lebih efisien dan spesifik. Sebagai contoh, teknologi homologous recombination dapat digunakan untuk merekayasa genom dengan cara mengganti sekuens DNA yang ada dengan sekuens DNA yang diinginkan. Namun, teknologi homologous recombination relatif sulit dan tidak efisien. Oleh karena itu, teknologi baru seperti teknologi berbasis endonuklease, seperti CRISPR/Cas9, telah dikembangkan untuk merekayasa genom dengan lebih efisien dan spesifik. Teknologi CRISPR/Cas9 memungkinkan untuk memotong sekuens DNA yang spesifik dan menggantinya dengan sekuens DNA yang diinginkan. Teknologi ini telah merevolusi bidang rekayasa genetika dan digunakan secara luas dalam penelitian dan aplikasi bioteknologi. Selain itu, teknologi baru seperti teknologi pengiriman DNA asing melalui nanopartikel dan teknologi pengeditan gen berbasis RNA juga sedang dikembangkan untuk merekayasa genom dengan lebih efisien dan spesifik. Oleh karena itu, prinsip rekayasa genetika terus berkembang

seiring dengan perkembangan teknologi, dan teknologi baru terus muncul untuk merekayasa genom dengan lebih efisien dan spesifik (Thomas *et al.* 2019).

7.5 Manfaat dan Risiko Rekayasa Genetika

Manfaat dan risiko yang terkait dengan organisme yang dimodifikasi secara genetik telah menjadi subjek perdebatan dan kontroversi yang banyak (Adeboye *et al.*, 2022). Beberapa manfaat rekayasa genetika yaitu:

1. **Peningkatan Hasil Tanaman:** Rekayasa Genetik dapat dirancang untuk tahan terhadap hama, penyakit, dan kondisi lingkungan tertentu, sehingga meningkatkan hasil dan produktivitas tanaman. Hal ini dapat membantu memenuhi permintaan pangan yang semakin meningkat di dunia.
2. **Kualitas Gizi yang Ditingkatkan:** Rekayasa Genetik dapat dimodifikasi untuk meningkatkan kandungan nutrisi dalam tanaman, seperti meningkatkan kadar vitamin, mineral, atau protein. Hal ini dapat membantu dalam mengatasi masalah gizi di beberapa daerah.
3. **Petahanan terhadap Perubahan Iklim:** Dengan menggunakan rekayasa genetika, tanaman dapat diubah untuk lebih tahan terhadap perubahan iklim dan kondisi lingkungan yang ekstrem.
4. **Pengobatan dan Vaksin:** Rekayasa genetika juga digunakan dalam produksi obat-obatan dan vaksin, termasuk insulin dan vaksin hepatitis B, yang telah membantu dalam pengobatan beberapa penyakit.

Beberapa risiko potensial rekayasa genetika terhadap kesehatan manusia, lingkungan, dan praktik pertanian tradisional (Mukhammadiyah *et al.*, 2020), antara lain:

1. Kesehatan Manusia: Beberapa orang khawatir tentang potensi dampak kesehatan jangka panjang dari mengonsumsi produk Rekayasa Genetik. Meskipun banyak studi menunjukkan bahwa Rekayasa Genetik aman untuk dikonsumsi, tetapi perdebatan masih berlanjut.
2. Dampak Lingkungan: Pengenalan tanaman Rekayasa Genetik dapat mempengaruhi ekosistem dan biodiversitas karena tanaman Rekayasa Genetik dapat menyebar ke lingkungan alami dan bersilangan dengan spesies liar terkait.
3. Keberlanjutan Pertanian: Adopsi luas tanaman Rekayasa Genetik dapat menyebabkan ketergantungan petani pada satu jenis tanaman, mengurangi keanekaragaman pertanian dan mengancam keberlanjutan pertanian jangka panjang.
4. Potensi Kontaminasi Lintas Spesies: Tanaman Rekayasa Genetik dapat berpindah gen ke spesies liar terkait atau varietas non-Rekayasa Genetik, penyebaran tanaman yang dimodifikasi secara genetik berpotensi pencemaran tanaman non-Rekayasa Genetik, menyebabkan hilangnya praktik pertanian organik dan tradisional (Njegomir *et al.*, 2016)
5. Perdebatan Etika: Beberapa orang menganggap rekayasa genetika sebagai campur tangan manusia dalam alam dan mengajukan pertanyaan etika tentang hakikat hidup dan keberagaman hayati.

Penting untuk terus melakukan penelitian dan evaluasi risiko serta manfaat yang terkait dengan rekayasa genetika. Pengembangan dan implementasi teknologi ini harus diatur dengan ketat untuk memastikan keamanan dan kesejahteraan manusia serta lingkungan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adeboye, S. E., Ajenifujah-Solebo, S. O., Oladipo, H. O., Adeshina, D. A. 2022. Case Study On Risk and Benefit Of Genetically Modified Nitrogen-use Efficient Water-use Efficient And Salt-tolerant Rice Breed In Nigeria. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*, (7), 139-146. <https://doi.org/10.22161/ijeab.73.19>
- Ali, S. A., Baldanta, S., Fernández-Escobar, M., & Guerra, S. 2016. Use of Reporter Genes in the Generation of Vaccinia Virus-Derived Vectors. <https://scite.ai/reports/10.3390/v8050134>
- Arias, E.B.; Zheng, X.; Agrawal, S.; Cartee, G.D. 2019. Whole body glucoregulation and tissue-specific glucose uptake in a novel Akt substrate of 160 kDa knockout rat model. *PLoS ONE*, 14, e0216236.
- Aziz, M. A., Brini, F., Rouached, H., & Masmoudi, K. 2022. Genetically engineered crops for sustainably enhanced food production systems. <https://scite.ai/reports/10.3389/fpls.1027828>
- Boch, J.; Scholze, H.; Schornack, S.; Landgraf, A.; Hahn, S.; Kay, S.; Lahaye, T.; Nickstadt, A.; Bonas, U. 2009. Breaking the code of DNA binding specificity of TAL-type III effectors. *Science*, 326, 1509–1512.
- Bushman, F.; Lewinski, M.; Ciuffi, A.; Barr, S.; Leipzig, J.; Hannenhalli, S.; Hoffmann, C. 2005. Genome-wide analysis of retroviral DNA integration. *Nat. Rev. Microbiol.* 3, 848–858.
- Callens, M., Pradier, L., Finnegan, M., Rose, C., & Bedhomme, S. 2021. Read between the Lines: Diversity of Nontranslational Selection Pressures on Local Codon Usage. *Genome Biology and Evolution*, 13(9). <https://doi.org/10.1093/gbe/evab097>

- Capecchi, M.R. 2005. Gene targeting in mice: Functional analysis of the mammalian genome for the twenty-first century. *Nat. Rev. Genet.* 2005, 6, 507–512.
- Cary, L.C.; Goebel, M.; Corsaro, B.G.; Wang, H.G.; Rosen, E.; Fraser, M.J. 1989. Transposon mutagenesis of baculoviruses: Analysis of *Trichoplusia ni* transposon IFP2 insertions within the FP-locus of nuclear polyhedrosis viruses. *Virology*, 172, 156–169
- Cattoglio, C.; Facchini, G.; Sartori, D.; Antonelli, A.; Miccio, A.; Cassani, B.; Schmidt, M.; von Kalle, C.; Howe, S.; Thrasher, A.J.; et al. 2007. Hot spots of retroviral integration in human CD34+ hematopoietic cells. *Blood*, 110, 1770–1778.
- Chen, C.; Okayama, H. 1987. High-efficiency transformation of mammalian cells by plasmid DNA. *Mol. Cell. Biol.*, 7, 2745–2752.
- Gu, B.; Posfai, E.; Rossant, J. 2018. Efficient generation of targeted large insertions by microinjection into two-cell-stage mouse embryos. *Nat. Biotechnol.* 36, 632–637
- Kim, H.; Kim, J.S. A 2014. guide to genome engineering with programmable nucleases. *Nat. Rev. Genet.* 15, 321–334.
- Kowarz, E.; Löscher, D.; Marschalek, R. 2015. Optimized Sleeping Beauty transposons rapidly generate stable transgenic cell lines. *Biotechnol. J.* 10, 647–653
- Kucherlapati, R.S.; Eves, E.M.; Song, K.Y.; Morse, B.S.; Smithies, O. 1984. Homologous recombination between plasmids in mammalian cells can be enhanced by treatment of input DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81, 3153–3157.
- Lai, K.M.; Gong, G.; Atanasio, A.; Rojas, J.; Quispe, J.; Posca, J.; White, D.; Huang, M.; Fedorova, D.; Grant, C.; et al. 2015. Diverse phenotypes and specific transcription patterns in twenty mouse lines with ablated LincRNAs. *PLoS ONE*. 10, e0125522

- Mali, P.; Yang, L.; Esvelt, K.M.; Aach, J.; Guell, M.; DiCarlo, J.E.; Norville, J.E.; Church, G.M. 2013. RNA-guided human genome engineering via Cas9. *Science*, 339, 823–826
- Mizuhashi, K.; Ono, W.; Matsushita, Y.; Sakagami, N.; Takahashi, A.; Saunders, T.L.; Nagasawa, T.; Kronenberg, H.M.; Ono, N. 2018. Resting zone of the growth plate houses a unique class of skeletal stem cells. *Nature*, 563, 254–258
- Montaner, C., Mallor, C., Laguna, S., & Zufiaurre, R. 2023. Bioactive compounds, antioxidant activity, and mineral content of bróquil: A traditional crop of *Brassica oleracea* var. *italica*. <https://scite.ai/reports/10.3389/fnut.2022.1006012>
- Mukhammadieva, G., Bakirov, A., Karimov, D., Kudoyarov, E., Nazarova, L., Valova, Y., ... & Ziatdinova, M. M. 2020. Analysis Of Gmo Contents As a Component In Risk-oriented Surveillance Over Food Products Safety. *Health Risk Analysis*, 4, 92-97. <https://doi.org/10.21668/health.risk/2020.4.10.eng>
- Njegomir, V., Tepavac, R., Bikicki, T. 2016. Risk Management In Agriculture Under Climate Changes. *Ekonomika Poljoprivrede*, 4(63), 1403-1416. <https://doi.org/10.5937/ekopolj1604403n>
- Oladipo, O. H., Ibrahim, R. R., Adeboye, S. E., & Kuiper, H. 2020. Readiness of the Nigerian public for the introduction of genetically modified crops into the food market. *African Journal of Biotechnology*, 19(7), 426-438. <https://doi.org/10.5897/ajb2020.17136>
- Phillips, T. 2008. Genetically modified organisms (GMOs): Transgenic crops and recombinant DNA technology. *Nature Education* 1(1):213
- Potter, H.; Heller, R.; Nielsen, P.E.; Jaffee, B.; Sakaki, Y.; Weller, P.; Heller, C. 1991. Transfection of brain cells in primary culture with liposome-entrapped plasmid DNA. *Mol. Cell. Neurosci.* 2, 305–311.

- Su, D.; Wang, M.; Ye, C.; Fang, J.; Duan, Y.; Zhang, Z.; Hua, Q.; Shi, C.; Zhang, L.; Zhang, R.; et al. 2017. One-step generation of mice carrying a conditional allele together with an HA-tag insertion for the delta opioid receptor. *Sci. Rep.* 7, 44476.
- Thomas M.L., Huiira C.K., Thomas L.S. 2020. Principles of Genetic Engineering (Review). *Genes*, 11, 291; doi:10.3390/genes11030291
- Tsatsakis AM, Nawaz MA, Tutelyan VA, Golokhvast KS, Kalantzi OI, Chung DH, Kang SJ, Coleman MD, Tyshko N, Yang SH, Chung G. 2017. Impact on environment, ecosystem, diversity and health from culturing and using GMOs as feed and food. *Food Chem Toxicol. Sep*;107(Pt A):108-121. doi: 10.1016/j.fct.2017.06.033. Epub 2017 Jun 20. PMID: 28645870.
- Vega Rodríguez, A.; Rodríguez-Oramas, C.; Sanjuán Velázquez, E.; Hardisson de la Torre, A.; Rubio Armendáriz, C.; Carrascosa Iruzubieta, C. 2022. Myths and Realities about Genetically Modified Food: A Risk-Benefit Analysis. *Appl. Sci.* 12, 2861. <https://doi.org/10.3390/app12062861>

BAB 8

GIZI, KOMPOSISI DAN FAEDAH MAKANAN

Oleh Nur Susan Iriyanti Ibrahim

8.1 Pendahuluan

Pada bab ini akan membahas tentang Gizi, Komposisi dan Faedah Makanan bagi manusia. Menjadi suatu hal yang penting karena saat ini makanan bergizi menggunakan pedoman gizi seimbang sesuai Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 41 Tahun 2014. Zat gizi penting bagi tubuh manusia meliputi gizi makro dan gizi mikro yang terdiri dari pangan sumber karbohidrat, protein, vitamin, mineral, dan air. Seluruh komponen gizi ini memiliki fungsi dan manfaat bagi keberlangsungan fungsi tubuh manusia agar dapat tumbuh dan berfungsi optimal.

8.2 Gizi dalam Makanan

Gizi di dalam Kamus Besar Bahasa Indonesia (KBBI) diterjemahkan sebagai senyawa dalam makanan yang diperlukan oleh tubuh manusia untuk menunjang proses pertumbuhan dan kesehatan yang optimal. Selanjutnya makanan dalam KBBI diartikan sebagai segala sesuatu yang dapat dimakan atau dapat masuk ke dalam tubuh kita yang membentuk atau mengganti jaringan tubuh, memberi tenaga, ataupun mengatur semua proses kimia di dalam tubuh kita. Maka makanan bergizi merupakan segala sesuatu yang dapat dimakan yang mengandung senyawa yang dibutuhkan oleh tubuh untuk bahan tenaga (energi), zat pembangun tubuh, dan zat pengatur sehingga tubuh bisa sehat optimal (KBBI, 2023).

Dalam rangka meningkatkan kualitas sumber daya manusia, perlu dilakukan upaya perbaikan gizi masyarakat melalui penerapan gizi seimbang, sehingga pemerintah menetapkan Peraturan menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 41 Tahun 2014 tentang pedoman Gizi seimbang. Pedoman ini dibuat karena masih ditemui masalah gizi di Indonesia hingga saat ini.

Data survei status gizi balita di Indonesia tahun 2022 dalam Laporan Status Gizi Survei Status Gizi Indonesia tahun 2022 yaitu masih ditemukan masalah kekurangan dan kelebihan gizi berupa *stunting*, *underweight*, *wasting*, dan *overweight*. Data menunjukkan bahwa prevalensi *stunting* 21,6%, *underweight* 17,1%, *wasting* 7,7%, dan *overweight* 3,5%.

Pedoman gizi seimbang bertujuan untuk memberikan panduan konsumsi makanan sehari-hari dan berperilaku sehat berdasarkan prinsip konsumsi aneka ragam pangan, perilaku hidup bersih, aktivitas fisik, dan memantau berat badan secara teratur dalam rangka mempertahankan berat badan normal.

8.2.1 Pengertian Gizi Seimbang

Gizi seimbang merupakan pedoman makanan bergizi yang berisi susunan pangan sehari-hari yang mengandung zat gizi dalam jenis dan jumlah yang sesuai dengan kebutuhan tubuh, dengan memperhatikan prinsip keanekaragaman pangan, aktivitas fisik, perilaku hidup bersih dan memantau berat badan secara teratur dalam rangka mempertahankan berat badan normal untuk mencegah masalah gizi (Kemenkes RI, 2023).

Pangan adalah segala sesuatu yang berasal dari sumber hayati dan air, baik yang diolah maupun tidak diolah yang diperuntukan bagi konsumsi manusia, termasuk bahan tambahan pangan, bahan baku pangan, dan bahan lain yang

digunakan dalam proses penyiapan, pengolahan dan atau pembuatan makanan dan minuman (Kemenkes RI, 2023).

Keanekaragaman pangan adalah anekaragam kelompok pangan yang terdiri dari makanan pokok, lauk pauk, sayuran dan buah-buahan dan air serta beranekaragam dalam setiap kelompok pangan (Kemenkes RI, 2023).

Makanan beragam yaitu berbagai makanan yang dikonsumsi beragam baik antar kelompok pangan maupun dalam setiap kelompok pangan. Contoh makanan beragam adalah makanan utama atau makanan pokok, lauk hewani serta nabati, sayur mayur, dan buah (Kemenkes RI, 2023).

Makanan utama atau makanan pokok merupakan pangan mengandung karbohidrat sebagai sumber energi tubuh. Jenis-jenis makanan pokok sangat beragam sesuai tempat dan budaya serta kearifan lokal. Misalnya penduduk Indonesia barat menjadikan beras (nasi) sebagai makanan pokok sedangkan sebagian besar penduduk Indonesia timur menjadikan ubi atau sagu sebagai makanan pokoknya (Kemenkes RI, 2017).

Pangan lauk pauk menjadi sumber protein bagi tubuh yang dapat diperoleh dari hewani maupun nabati, diantaranya yaitu ikan air laut dan air tawar, telur unggas, daging unggas, kacang-kacangan maupun produk olahannya dan lain sebagainya. Selanjutnya sayur mayur dan buah menjadi sumber vitamin dan mineral untuk tubuh. Jenis atau macam-macam sayur dan buah sangat bergantung juga kepada kondisi lingkungan dan geografis wilayah. Beberapa contoh sayuran Indonesia adalah bayam, kangkung, wortel, kacang panjang, sawi, jeruk, pepaya, pisang, manga, semangka, dan lain-lain (Kemenkes RI, 2017).

Pangan bergizi lainnya yang sangat dibutuhkan oleh tubuh adalah air yang merupakan bagian terpenting penyusun tubuh kita. Manusia 60-70% komposisi tubuhnya mengandung

air, sehingga air menjadi zat gizi penting untuk menjaga kesehatan dan fungsi tubuh (Kemenkes RI, 2017).

Berdasarkan uraian diatas maka dapat disimpulkan bahwa pangan bergizi adalah makanan dan minuman yang terdiri dari makanan pokok, lauk pauk, sayuran, buah-buahan, dan air. Semuanya saling bersinergi dan berkolaborasi dalam menjalankan fungsi dan proses kimia didalam tubuh kita sehingga menghasilkan tubuh yang sehat dan prima.

8.2.2 Fungsi gizi untuk kesehatan

Tubuh kita membutuhkan dua jenis zat gizi (*nutrient*) yaitu *macronutrient* dan *micronutrient*. Zat gizi makro atau *macronutrient* adalah karbohidrat (pati), protein (asam amino), lemak, dan air sedangkan zat gizi mikro atau *micronutrient* terdiri dari vitamin dan mineral. Masing-masing zat gizi memiliki fungsi dan peranan yang berbeda didalam tubuh kita sesuai tugasnya. Berikut adalah uraian fungsi dari masing-masing zat gizi menurut Agung *et. all.* (2016):

1) Karbohidrat

karbohidrat merupakan sumber energi utama bagi tubuh kita, sehingga karbohidrat sering disebut sebagai zat tenaga. Indonesia merupakan Negara berkembang dimana kurang lebih sekitar 80% energi utama berasal dari karbohidrat.

2) Protein

Protein disebut juga sebagai zat pembangun, karena berfungsi untuk proses pertumbuhan dan perkembangan tubuh. Senyawa utama yang terkandung dalam protein adalah asam amino yang dapat diserap oleh tubuh sehingga dapat dimanfaatkan dalam proses kimia didalam tubuh manusia. Secara lengkap adapun beberapa fungsi protein yaitu:

- a. Menyediakan asam amino yang diperlukan tubuh (enzim, antibodi, hormon, dan lainnya)
- b. Mempertahankan kondisi asam-basa tubuh
- c. Mengatur keseimbangan air didalam tubuh
- d. Membentuk jaringan baru
- e. Memelihara jaringan tubuh
- f. Memperbaiki dan mengganti jaringan tubuh yang rusak.

3) Lemak

Lemak dapat bersumber dari hewani dan nabati. Lemak hewani berbentuk padatan dalam suhu ruang, berbeda dengan lemak nabati yang berbentuk cairan dalam suhu kamar. Secara umum menurut Sunita tahun 2009, lemak memiliki beberapa fungsi yaitu:

- a. Sumber energi
- b. Seumber lemak esensial
- c. Membantu proses pencernaan dan metabolisme vitamin larut lemak
- d. Menghambat katabolisme protein
- e. Menjaga rasa kenyang lebih lama
- f. Memberikan rasa lezat dalam makanan
- g. Sebagai pelumas
- h. Menjaga kestabilan suhu tubuh
- i. Melindungi organ tubuh.

4) Air

Air merupakan senyawa yang tak kalah penting dari karbohidrat, protein, dan lemak. Air menjadi komponen utama penyusun hampir semua struktur sel dan berperan dalam proses reaksi kimia dalam tubuh (Ibrahim N.S.I *et. al.*, 2018)

Air berguna untuk memelihara kehidupan yang optimal agar dapat berfungsi dengan baik. Sebagian besar berat tubuh manusia terdiri atas air, yaitu sekitar 60% (Benelam dan Wyness 2010). Fungsi air diantaranya

sebagai zat pelarut pada reaksi biokimia, alat transport, dan dapat menyerap panas metabolik. Air dibutuhkan untuk menjaga volume sistem vascular, membantu membawa zat gizi ke dalam jaringan, dan membuang sampah sisa metabolisme melalui sistem pernafasan, ginjal, dan hati (IOM 2004).

Tubuh memperoleh air dari konsumsi (makanan dan minuman) dan hasil metabolisme menurut Hardinsyah *et al.* Tahun 2017. Faktor pola makan terdiri atas kebiasaan konsumsi kafein, alkohol, *macronutrient* serta natrium.

5) Vitamin

Vitamin terbagi dalam dua jenis yaitu vitamin larut lemak (vitamin A, D, E, K) dan vitamin larut air (vitamin B kompleks dan C). Masing-masing jenis vitamin memiliki fungsi khususnya, namun secara umum berikut adalah beberapa fungsi vitamin yaitu:

- a. Tidak memberikan kontribusi sebagai sumber energi
- b. Membantu proses metabolisme energi
- c. Sebagai kofaktor enzim
- d. Membantu penyerapan mineral
- e. Sebagai antioksidan
- f. Menjaga kesehatan jaringan epitel

6) Mineral

Selain vitamin terdapat mineral juga yang dibutuhkan oleh tubuh kita. Mineral terdiri dari mineral makro dan mikro. Mineral makro diantaranya yaitu kalsium, pospor, potassium, kalium, klorida, magnesium, dan sulfur. Selanjutnya mineral mikro diantaranya *cobalt*, *cupprum*, *flour*, zat besi, mangan, dan *zink*.

Sama halnya dengan vitamin, mineral juga memiliki fungsi signifikan sesuai jenis mineralnya dan memiliki fungsi umum seperti :

- a. Sebagai kofaktor enzim

- b. Membantu proses metabolisme gizi makro
- c. Menjaga kesetimbangan cairan dan elektrolit tubuh
- d. Sebagai antioksidan
- e. Pembentuk struktur dan jaringan tubuh

8.2.3 Kandungan gizi dalam makanan

Kandungan gizi dalam makanan menurut Agung *et. al.* Tahun 2016 yaitu makanan mengandung karbohidrat, protein, lemak, air, vitamin, dan mineral. Berikut adalah uraian dari masing-masing:

1) Karbohidrat

Karbohidrat dikenal sebagai makanan pokok, Beberapa makanan yang mengandung sumber karbohidrat adalah

- a. Sagu (papeda)
- b. Ubi atau Batatas
- c. Talas atau keladi
- d. Singkong
- e. Beras/ nasi
- f. Beras merah
- g. Gandum dan produk turunannya (tepung-tepungan)
- h. Kentang
- i. Jagung
- j. Mie

2) Protein

Protein menjadi sumber lauk pauk dalam makanan yang sering kita konsumsi sehari-hari. Terdapat dua jenis protein yaitu nabati dan hewani. Sesuai penamaannya maka protein nabati bersumber dari tumbuh-tumbuhan dan protein hewani bersumber dari hewan. Berikut adalah contoh pangan yang mengandung protein nabati

- a. Kacang merah
- b. Kacang tanah
- c. Kacang ijo

- d. Kacang kedelai
 - e. Kacang polong
 - f. Kacang mete
 - g. Tahu
 - h. Tempe
 - i. dan jenis kacang lainnya serta produk turunannya
- Selanjutnya contoh pangan hewani yaitu
- a. Ikan air laut
 - b. Ikan air tawar
 - c. Daging unggas (bebek, ayam, itik, dll)
 - d. Telur
 - e. Daging ruminansia (sapi, kambing, domba, babi dll)
 - f. Susu dan turunannya (keju, yogurt, dll)
 - g. Hewan laut yang dapat dikonsumsi (cumi, gurita, udang, kerang, dll)

3) Lemak

Lemak dalam makanan memberikan rasa gurih dan enak. Sebagian besar masyarakat Indonesia menggunakan lemak dalam proses pengolahan makanan, yaitu untuk proses menggoreng atau menumis. Berikut adalah contoh beberapa pangan sumber lemak

- a. Minyak goreng
- b. Minyak kelapa
- c. Susu
- d. Santan kelapa
- e. Kelapa parut
- f. Alpukat
- g. Mentega
- h. Margarin
- i. Lemak hewan (sapi, kambing, babi dll)

4) Air

Sumber air bagi tubuh kita dapat diperoleh dari makanan dan minuman. Beberapa makanan secara alamiah

mengandung air namun kadarnya berbeda-beda. Kemudian juga air bisa diperoleh dari minuman yang kita konsumsi sehari-hari baik air putih atau air yang memiliki rasa tertentu contohnya teh, kopi, susu, sirup, dan lain sebagainya.

5) Vitamin dan mineral

Vitamin dan mineral banyak terdapat pada sayur-sayuran dan buah-buahan. Indonesia merupakan Negara tropis sehingga kaya akan jenis buah dan sayur, sehingga pangan sumber vitamin dan mineral sangat melimpah. Beberapa jenis sayur diantaranya kangkung, daun singkong, daun ubi, labu siam, wortel, terong, kol, bayam, pare, lobak, bunga kol, dan sebagainya. Selanjutnya jenis buah diantaranya, durian, rambutan, mangga, jeruk, nanas, papaya, melon, semangka, matoa, markisa, salak, jambu, belimbing, pisang, dan lain-lain.

8.3 Komposisi Makanan

8.3.1 Karbohidrat

Pangan mengandung beberapa jenis karbohidrat, baik karbohidrat kompleks (polisakarida) maupun karbohidrat sederhana (monosakarida). Karbohidrat dalam pangan menjadi sumber energi utama bagi manusia diseluruh dunia. Sumber karbohidrat terdapat dalam makanan pokok. Fungsi dari karbohidrat dalam makanan adalah sebagai flavor, membentuk struktur, dan tekstur makanan (Tarigan I, 2019).

Berikut adalah klasifikasi karbohidrat menurut Tarigan I Tahun 2019 jumlah gugus gulanya berdasarkan

1) Monosakarida

Jenis karbohidrat ini adalah karbohidrat yang tersusun atas satu gugus gula sehingga tidak bisa dihidrolisis atau dipecah menjadi gula yang lebih sederhana lagi. Contohnya adalah glukosa, fruktosa, galaktosa, triosa, tetrosa, pentosa dan heksosa.

2) Oligosakarida

Karbohidrat ini adalah hasil gabungan atau ikatan antara dua sampai dengan sepuluh monosakarida, sehingga membentuk ikatan antar gugus gula. Contohnya adalah laktosa, maltose, dan sukrosa.

3) Polisakarida

Jenis karbohidrat ini adalah hasil ikatan antara lebih dari dua puluh gugus monosakarida sehingga membentuk ikatan yang kompleks dan panjang. Contohnya adalah pati, dekstrin, selulosa, hemiselulosa, dan sebagainya.

Analisis kualitatif kadar karbohidrat dapat dilakukan melalui tiga jenis reaksi berdasarkan reagen tes yang digunakan yaitu reaksi asam dehidrasi, reagen kondensasi, dan reagen gula pereduksi. Analisis kualitatif glukosa juga bisa menggunakan tes tromer, tes fehling atau tes Nilender. Selain uji kualitatif juga dapat dilakukan uji kuantitatif karbohidrat yaitu dengan menggunakan instrument spektrofotometri dan kromatografi.

8.3.2 Protein

Protein adalah salah satu zat gizi yang selain berperan sebagai zat pengatur dalam tubuh juga dapat digunakan tubuh untuk sumber energi sebagai cadangan akhir tubuh. Bahan pangan yang mengandung banyak protein bersumber dari hasil tanaman ataupun hewan (Muchtadi, 2001).

Protein dalam bahan pangan tersusun dari molekul protein sederhana yaitu asam amino, masing-masing molekul ini saling berikatan membentuk ikatan yang kompleks yang terdiri dari 12 sampai dengan 18 jenis asam amino. Ikatan peptida adalah ikatan yang menghubungkan antar molekul hewan (Muchtadi, 2001).

Analisis Protein yang sederhana dan umum dapat digunakan adalah metode kjeidahl yaitu berdasarkan total unsur

nitrogen dalam sampel bahan pangan, dimana mayoritas protein memiliki unsur N sekitar 16%.

8.3.3 Lemak

Lemak dalam pangan umumnya terdapat dalam pangan berminyak baik dari pangan hewani maupun nabati. Lemak juga merupakan sumber energi bagi tubuh manusia. Satu gram lemak mengandung 9 kalori energi, lebih tinggi jika dibandingkan protein dan karbohidrat. Lemak dapat berubah bentuk menjadi cairan dalam suhu ruang dan dapat menjadi bentuk padatan pada suhu dingin (Beck, 2011). Lemak dapat meningkatkan rasa enak dan lezat dari makanan atau sering disebut palabilitas (Sikorski dan Kolakowska, 2003).

Lemak tersusun dari elemen dasar karbon, hydrogen, dan oksigen. Lemak merupakan bagian dari lipida yang merupakan ester asam lemak dengan gliserol. Satu molekul lemak tersusun atas satu molekul gliserol dan tiga molekul asam lemak sehingga lemak disebut triasilgliserol atau trigliserida (Akoh dan Min 2008).

Gunstone Tahun 2004 Dalam Basuki *et.al* Tahun 2020 menerangkan bahwa asam lemak dapat dikelompokkan menjadi tiga macam berdasarkan ikatan rangkap yang ada dalam rantai karbonnya, yaitu :

- 1) Asam lemak jenuh (*saturated fatty acids*, SFA) adalah asam lemak yang tidak memiliki ikatan rangkap.
- 2) Asam lemak tidak jenuh tunggal (*mono unsaturated fatty acids*, MUFA) yaitu asam lemak yang memiliki satu ikatan rangkap.
- 3) Asam lemak tidak jenuh jamak (*poly-unsaturated fatty acids*, PUFA) yaitu asam lemak yang memiliki dua atau lebih ikatan rangkap.

Lemak atau lipid merupakan senyawa organik dari tanaman ataupun hewan yang larut dalam sloven non-polar. Analisis dilaboratorium dapat dilakukan dengan menggunakan analisa proksimat metode ekstraksi langsung dengan alat soxhlet.

8.3.4 Vitamin

Berdasarkan sifat kelarutannya vitamin diklasifikasikan ke dalam dua jenis yaitu vitamin larut lemak dan vitamin larut air. Vitamin larut lemak tidak disintesis oleh tubuh sehingga diperlukan dari asupan makanan. Vitamin ini merupakan molekul hidrofobik apola yang berupa derivate isoprene.

Selanjutnya vitamin larut air merupakan molekul hidrofilik yang memiliki sifat umum yaitu tidak memiliki precursor, perlu asupan dari makanan setiap hari, tidak dapat disimpan dalam tubuh (jika berlebihan akan dibuang memalui urin, gejala defisiensi muncul relative cepat, dan mudah rusak akibat pemanasan.

Beberapa metode analisis laboratorium yang umum digunakan untuk menentukan kadar vitamin dalam pangan yaitu metode serimetri dan metode spektrofotometri (Tarigan I, 2019).

8.3.5 Mineral

Mineral merupakan senyawa inorganik yang diperlukan oleh tubuh untuk menunjang proses kimia dalam tubuh manusia berupa bentuk ion atau elemen bebas. Mineral dalam tanah (unsur hara) berbeda dengan mineral dalam makanan. Mineral dalam makanan memiliki struktur ion berbeda sehingga dapat membantu proses kimia yang terjadi dalam tubuh dan dalam diserap oleh sistem pencernaan manusia.

Mineral dalam makanan dapat dianalisis dengan menentukan mineral total yaitu menentukan kadar abur. Metode lainnya yang dapat digunakan untuk melakukan analisis mineral adalah dengan menggunakan metode spektrofotometri serapan atom atau SSA (Tarigan I, 2019).

8.3.6 Air

Pangan yaitu makanan dan minuman mengandung air yang memiliki fungsi penting. Adapun fungsi utamanya adalah sebagai zat pelarut atau pengurai. Air mampu menguraikan vitamin, mineral, garam, dan senyawa cita rasa dalam bahan pangan. Kandungan air pangan juga berhubungan dengan kualitas dan stabilitas bahan pangan. Pangan yang tinggi kandungan air lebih mudah rusak akibat adanya fungi, pemanasan, serangga, dan resiko perkecambagan (Basuki E, *et al*, 2020).

Kandungan air dalam pangan dapat dianalisis di laboratorium berdasarkan bobot basah (*wet basis*) atau bobot kering (*dry basis*). Adapun perbedaan keduanya yaitu *wet basis* merupakan total air yang terkandung dalam suatu massa bahan basah dan *dry basis* merupakan total air yang terkandung dalam suatu massa bahan padatan kering (Basuki E, *et al*, 2020).

Cara lain yang dapat digunakan untuk mengetahui kandungan gizi dalam pangan meliputi kadungan karbohidrat, protein, lemak, vitamin, mineral dan air menurut Ibrahim N.S.I, Tahun 2017 adalah dapat dilakukan dengan menggunakan instrument Daftar Komposisi Bahan Makanan (DKBM) dan Tabel Konsumsi Pangan Indonesia (TKPI) melalui pendekatan kandungan gizi pangan yang tersedia dalam daftar tabel. Adapun rumus yang dapat digunakan adalah

$$Kgij = \{(Bj/100) \times Gij \times (BDDj/100)\}$$

Keterangan:

Kgij = Kandungan zat gizi-I dalam bahan makanan-j

Bj = Berat makanan-j yang dikonsumsi (gram)

Gij = Kandungan zat gizi dalam 100 gram BDD bahan makanan-j

BDDj = Bagian bahan makanan-j yang dapat dimakan

8.4 Faedah Makanan

Faedah makanan berdasarkan fungsi dalam tubuh telah diuraikan pada materi Fungsi Gizi Untuk Makanan, yaitu zat gizi memiliki peranan dan fungsi dalam mengoptimalkan kerja dan proses tubuh manusia. Faedah lain makanan adalah makanan sebagai fungsi sosial. Menurut Ibrahim N.S.I Tahun 2020, fungsi sosial makanan terdiri dari tiga fungsi yaitu fungsi gastronomik, alat identitas budaya, dan alat komunikasi.

Hasil penelitian terkait fungsi sosial makanan pada masyarakat Papua yang telah dilakukan oleh Ibrahim, N.S.I Tahun 2020 dengan judul “Kebiasaan makan dan fungsi sosial makanan bagi masyarakat wilayah Adat Mee Pagoo.” Penelitian telah dilakukan pada kelompok Masyarakat Pedalaman dan Masyarakat Pesisir Papua.

8.4.1 *Gastronomic function* atau fungsi gastronomik

Makanan sebagai kebutuhan rasa senang diri dan mengisi perut. Contohnya banyak orang yang makan untuk memenuhi hasrat rasa lapar dan untuk membuat diri merasa senang.

Masyarakat pedalaman dan pesisir menganut bahwa makanan yang mereka makan memberikan dampak rasa kenyang dan rasa puas di hati setelah mereka selesai makan. Pemilihan makanan didasarkan pada kandungan energi yang dikandung. Ubi jalar atau batatas merupakan makanan pokok pilihan bagi masyarakat pedalaman karena dianggap lebih mengenyangkan dibandingkan makanan pokok jenis lain. Berbeda dengan masyarakat pesisir, lebih memilih nasi sebagai pengganti sagu (papeda) karena dianggap konsumsi nasi lebih mengenyangkan.

8.4.2 Alat Identitas Budaya

Budaya tertentu memaknai makanan sebagai ciri khas dari suatu nilai budaya masyarakat tertentu. Contohnya arti makanan bagi masyarakat Yogyakarta, Sunda, dan Papua berbeda. Yogyakarta memiliki makanan khas daerahnya Gudeg, Sunda

dengan makanan khasnya nasi liwet, dan Papua dengan makanan papeda kuah kuning sebagai makanan khasnya.

Makanan dijadikan ciri khusus identitas budaya masyarakat yang merupakan pangan lokal asli dan telah ada sejak jaman nenek moyang terdahulu. Batatas atau Nota sebutan umum ubi jalar masyarakat pedalaman Papua dijadikan sebagai makanan pokok khas masyarakat pegunungan Papua. Sementara sagu atau papeda dijadikan sebagai makanan pokok khas masyarakat pesisir Papua.

8.4.3 Alat komunikasi

Makanan digunakan untuk mengirimkan pesan atau maksud tertentu. Misalnya antar tetangga atau keluarga saling bergantian mengirimkan makanan sebagai tanda keakraban dan meningkatkan rasa kasih sayang.

Pada masyarakat pedalaman dan pesisir memiliki adat makan bersama, dimana semua keluarga duduk bersama saat waktu makan tiba. Tujuannya adalah menjalin kebersamaan dan keakraban antar anggota keluarga. Sistem makan bersama juga dilakukan saat sedang pesta suku adat. Masyarakat duduk bersama dan menikmati makanan secara bersama-sama.

Hal lain yang dilakukan adalah sebagai rasa ucap syukur atas rejeki yang telah tuhan berikan mereka melakukan kegiatan berbagi makanan kepada sanak family dan tetangga lingkungan tempat tinggalnya. Tujuannya untuk menjalin cinta kasih antar sesama umat manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- [IOM] Institute of medicine. 2004. Dietary reference intakes for water, potasium, sodium, chloride, adn sulfate. Washington DC (US): the national academies press.
- Agung I. G. A. A, Sumantra I. Ketut, Widnyana I. Ketut. 2016. Pangan, Gizi, dan Kesehatan Masyarakat. UNMAS PRESS: Denpasar.
- Basuki Eko, Cicilia Siska, Saloko Satrijo. 2020. Buku Ajar Kimia Pangan. Mataram: Mataram University Press.
- Beck. 2011. Ilmu Gizi dan Diet Hubungannya dengan Penyakit-penyakit untuk Perawat dan Dokter. Yayasan Essential Medica: Yogyakarta.
- Benelam B, Wyness L. 2010. Hydration and health: a review. Nutrition bulletin. 35:3–25.
- Hardinsyah, Santoso BI, Siregar P, Pardede SO. 2017. Air Bagi Kesehatan. Jakarta (ID): Centra Communications.
- Ibrahim NSI, Hardinsyah, Setiawan B. 2018. Hydration Status and Liver function of Young Men Before and After Ramadan Fasting. Jurnal Gizi dan Pangan 13 (1), 33-38. EISSN 2407-0920.
- Ibrahim, Nur Susan Iriyanti. 2017. Status hidrasi dan fungsi hati pada pria usia dewasa muda sebelum dan saat puasa ramadhan. Tesis. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Ibrahim, Nur Susan Iriyanti. 2020. Kebiasaan makan dan fungsi social makanan bagi masyarakat wilayah Adat Mee Pagoo. Jurnal Komunikasi dan Kebudayaan 7 (2) 221-228.
- Kamur Besar Bahasa Indonesia KBBI online. 2023. Terhubung berkala <https://kbbi.web.id/>
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2014. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 41 Tahun 2014 tentang Pedoman Gizi Seimbang. Menteri Kesehatan Republik Indonesia: Jakarta.

- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2017. Buku Saku Isi Piringku. Menteri Kesehatan Republik Indonesia: Jakarta.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2023. Hasil Survei Status Gizi Indonesia (SSGI) 2022. Menteri Kesehatan Republik Indonesia: Jakarta.
- Muchtadi. 2001. Sayuran Sebagai Sumber Serat Pangan Untuk Mencegah Timbulnya Penyakit Degeneratif. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan. 12:61-71.
- Tarigan Idra Lasmana. 2019. Dasar-dasar Kimia Air, Makanan dan Minuman. Malang: Media Nusa Creative Publishing.

BAB 9

TEKNOLOGI PENGAWETAN

Oleh Dini Wulan Dari

9.1 Pendahuluan

Dengan pertambahan jumlah penduduk, konsumen kini menuntut makanan yang segar, sehat, dan bergizi, meskipun jumlah makanan yang diproduksi setiap hari sudah cukup untuk menyediakan makanan bagi seluruh dunia. Namun, teknologi dan distribusi makanan yang ada belum mampu tersebar secara merata. Oleh karena itu, pemborosan makanan telah menjadi tantangan utama di sektor pengolahan makanan. Setiap jenis makanan akan mulai mengalami proses pembusukan setelah dipanen. Salah satu solusi berkelanjutan untuk mengatasi masalah pemborosan makanan adalah dengan menggunakan teknologi pengawetan makanan. Konsep pengawetan makanan telah dikenalkan sejak zaman kuno ketika nenek moyang kita menemukan cara untuk menjaga agar makanan tetap segar dan dapat dikonsumsi. Konsep seperti pengeringan menggunakan sinar matahari, pengasinan, dan pasteurisasi diperkenalkan tergantung pada faktor iklim dan musim. Melalui proses pengawetan, manusia dapat membentuk komunitas, menghentikan pemburuan hewan secara berlebihan, dan mengadopsi sikap bijaksana dalam menyimpan makanan untuk waktu yang lebih lama (Sridhar *et al.*, 2021).

Keselamatan, proses inovatif, dan keberlanjutan adalah topik yang paling menarik bagi sebagian besar negara dan perekonomiannya. Keamanan pangan mengasosiasikan inovasi dan keberlanjutan dengan menjadi tema utama industri produksi dan pengawetan pangan. Selama produksi pangan,

transportasi, penyimpanan, dan konsumsi akhir, sifat pangan dapat dipengaruhi dalam beberapa cara. Untuk memastikan keamanan dan stabilitas, tanpa kehilangan nutrisi dan mutu sensorinya, metode pengawetan makanan yang cocok, efektif dan ekonomis harus dipilih. Ada beberapa teknik pengawetan konvensional yang sedang berkembang seperti pasteurisasi, sterilisasi, pendinginan, pembekuan, pemanasan ohmik, gelombang mikro dan frekuensi radio, yang merupakan teknologi pengawetan termal. Selain itu, pengawetan makanan kemasan dari autooksidasi juga penting untuk menentukan dan memperpanjang umur simpan makanan, meningkatkan keamanan pangan, dan meningkatkan penerimaan konsumen. Molekul biologis seperti protein, DNA, dan lipid serta sistem pertahanan dalam sel memburuk akibat pengaruh radikal oksigen dan spesies nonradikal lainnya yang berdampak buruk bagi kesehatan manusia dan kualitas makanan. Antioksidan sintetik seperti butylated hydroxyanisole, butylated hydroxytoluene, dan antioksidan alami digunakan secara luas untuk menghambat oksidasi. Oleh karena itu, memahami efek dari masing-masing metode pengawetan pada makanan merupakan titik kritis yang harus diketahui (Tavman *et al.*, 2019).

Dengan pesatnya proses industrialisasi dan munculnya metode lean, berbagai proses seperti perlakuan panas, pengalengan, dan pembekuan telah dikembangkan untuk meningkatkan masa simpan makanan dengan mengendalikan pathogen. Namun, keamanan pangan dan kualitas menjadi perhatian utama karena pertumbuhan populasi dan peningkatan standar serta tuntutan konsumen untuk makanan yang sehat dan bergizi (Saravanan *et al.*, 2020). Konsep pengawetan makanan berkembang pesat dengan tujuan untuk menyediakan makanan yang aman dan bervariasi bagi semua orang. Tujuan utama dari teknik pengawetan makanan adalah menghambat reaksi biokimia

dan membatasi masuknya bakteri atau jamur, sehingga meminimalkan pemborosan dengan meningkatkan masa simpan produk. Beberapa teknik pengawetan konvensional yang populer, seperti pemanasan, pengeringan, dan pembekuan, telah diimplementasikan dalam industri besar (Pereira *et al.*, 2018; Białkowska *et al.*, 2020; Said *et al.*, 2020). Meskipun demikian, telah ditemukan bahwa beberapa teknik pengawetan seperti perlakuan panas dan pembekuan memiliki kelemahan tertentu, seperti menyebabkan susut makanan, perubahan tekstur, dan kehilangan nutrisi serta sifat organik makanan, yang berakibat pada kerugian keseluruhan pada produk makanan (Jayasena *et al.*, 2015).

9.2 Tujuan Pengawetan Pangan

Pengawetan pangan adalah proses memperpanjang masa simpan produk makanan sambil tetap mempertahankan nilai gizinya, rasa, tekstur, dan keamanannya. Kebutuhan akan pengawetan timbul dari fakta bahwa sebagian besar makanan alami mudah rusak karena adanya mikroorganisme, enzim, dan faktor eksternal lainnya seperti suhu, kelembaban, dan cahaya. Tanpa metode pengawetan yang tepat, makanan dapat dengan cepat menjadi rusak, menyebabkan kerugian sumber daya berharga dan berkontribusi pada kelangkaan pangan. Tujuan pengawetan pangan adalah sebagai berikut :

1. Mengurangi Pemborosan Makanan : metode pengawetan pangan mencegah pembusukan, memungkinkan makanan berlebih disimpan untuk digunakan di masa depan, membantu mengurangi pemborosan makanan, dan menjamin pasokan pangan yang stabil.
2. Memperpanjang Masa Simpan: teknologi pengawetan membantu memperpanjang masa simpan berbagai produk makanan, memungkinkan distribusi dan ketersediaan yang lebih luas, terutama di daerah-daerah dengan akses terbatas terhadap hasil pertanian segar.

3. Mempertahankan Nilai Gizi: teknik pengawetan yang tepat mempertahankan nutrisi penting yang terdapat dalam makanan, sehingga tetap menjadi sumber makanan yang berharga bahkan setelah penyimpanan dalam jangka waktu lama.
4. Menjamin Keamanan Pangan: pengawetan menghambat pertumbuhan mikroorganisme berbahaya, mencegah penyakit yang disebabkan oleh makanan, dan menjamin keamanan konsumen.

9.3 Prinsip Pengawetan Pangan

Prinsip-prinsip pengawetan pangan adalah panduan dasar yang digunakan dalam berbagai teknik dan metode untuk mempertahankan kualitas, kesegaran, dan keselamatan makanan. Beberapa prinsip pengawetan pangan yang umum digunakan sebagai berikut:

1. Pengendalian Suhu: Suhu adalah salah satu faktor kunci dalam pengawetan pangan. Pengurangan suhu makanan dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dan enzim yang menyebabkan pembusukan. Pengawetan dengan mendinginkan, membekukan, atau memanaskan pada suhu tinggi adalah contoh penggunaan prinsip ini.
2. Pengeringan/Dehidrasi: Metode ini melibatkan penghilangan air dari makanan, sehingga menghambat pertumbuhan mikroba. Pengeringan dengan sinar matahari, oven, atau alat khusus dapat digunakan untuk memperpanjang masa simpan makanan.
3. Pengawetan dengan Garam: Pengasinan adalah salah satu metode pengawetan pangan yang telah digunakan sejak zaman kuno. Garam mengurangi ketersediaan air bagi mikroorganisme, sehingga mencegah pertumbuhan dan pembusukan.

4. Pengasaman/Fermentasi: Fermentasi mengubah komponen makanan menjadi asam atau alkohol melalui aksi mikroorganisme, menciptakan lingkungan yang tidak ramah bagi mikroba pembusuk.
5. Pengawetan dengan Gula: Gula dapat digunakan sebagai pengawet alami dalam makanan. Kadar gula yang tinggi menghambat pertumbuhan mikroorganisme dengan mengurangi ketersediaan air bagi mereka.
6. Pengawetan dengan Asap: Asap mengandung senyawa antimikroba yang membantu menghambat pertumbuhan mikroorganisme dan memberikan aroma khas pada makanan.
7. Pengawetan dengan Pengalengan: Pengalengan melibatkan penyegelan makanan dalam wadah kedap udara dan pemanasan untuk menghancurkan mikroorganisme, menjaga kualitas, dan memperpanjang masa simpan makanan.
8. Pengawetan dengan Teknik *High Temperature Short Time* (HTST): Metode ini melibatkan pemanasan makanan pada suhu tinggi untuk jangka waktu singkat, membunuh mikroorganisme patogen tanpa merusak nutrisi esensial.
9. Pengawetan dengan Teknik *Low Temperature Long Time* (LTLT): Metode ini melibatkan pemanasan makanan pada suhu rendah untuk jangka waktu lama, memperpanjang masa simpan tanpa menghilangkan nilai nutrisi.

Prinsip-prinsip ini, ketika diterapkan dengan tepat, membantu menjaga kualitas, keselamatan, dan nilai nutrisi makanan, memungkinkan makanan tetap tersedia dan aman untuk dikonsumsi dalam jangka waktu yang lebih lama.

9.4 Pengawetan Pangan Secara Tradisional

Teknologi pengawetan tradisional adalah serangkaian metode dan teknik yang telah digunakan oleh berbagai budaya di seluruh dunia sejak zaman dahulu kala untuk mempertahankan kualitas dan kesegaran makanan tanpa memerlukan bantuan peralatan atau teknologi modern. Penggunaan teknologi ini didasarkan pada pengetahuan dan pengalaman yang diturunkan dari generasi ke generasi, dan hingga saat ini masih dipertahankan oleh beberapa komunitas karena keefektifan dan kesederhanaannya dalam menjaga makanan tetap layak dikonsumsi. Beberapa teknologi pengawetan tradisional yang populer sebagai berikut:

1. Pengeringan: pengeringan atau dehidrasi adalah metode pengawetan makanan dengan cara menghilangkan air dari produk makanan. Makanan yang ingin diawetkan dijemur di bawah sinar matahari atau di tempat yang hangat, sehingga mengurangi kadar airnya. Dengan menghilangkan air, pertumbuhan mikroorganisme yang menyebabkan pembusukan dapat dihambat, dan makanan dapat bertahan lebih lama tanpa perlu refrigerasi.
2. Pengasaman/Fermentasi: pengasaman atau fermentasi melibatkan penggunaan mikroorganisme, seperti bakteri atau ragi, untuk mengubah komponen makanan menjadi asam atau alkohol. Proses fermentasi menciptakan lingkungan asam yang tidak menguntungkan bagi mikroorganisme pembusuk, sehingga makanan menjadi lebih tahan lama. Contoh makanan yang diawetkan dengan fermentasi antara lain tempe, yogurt, dan kimchi.
3. Pengawetan dengan Garam: pengasinan adalah teknik pengawetan makanan dengan menggunakan garam sebagai bahan pengawet alami. Garam bekerja dengan mengurangi ketersediaan air bagi mikroorganisme, sehingga pertumbuhan mereka terhambat. Makanan seperti ikan asin

dan daging asin merupakan contoh makanan yang diawetkan dengan pengasinan.

4. Pengawetan dengan Asap: pengawetan dengan asap melibatkan penggunaan asap dari kayu atau bahan organik lainnya untuk memberikan rasa, aroma, dan efek pengawet pada makanan. Asap mengandung senyawa antimikroba yang membantu menghambat pertumbuhan mikroorganisme, dan metode ini sering digunakan dalam pengawetan daging dan ikan.
5. Pengawetan dengan Pengalengan: pengalengan adalah metode pengawetan makanan dengan menyegel makanan dalam wadah kedap udara dan memanaskan wadah tersebut untuk menghancurkan mikroorganisme. Proses ini mempertahankan kualitas dan kesegaran makanan, memperpanjang masa simpan, dan memungkinkan penyimpanan tanpa refrigerasi.
6. Pengawetan dengan Pengasapan: pengasapan adalah teknik pengawetan makanan dengan memaparkan makanan pada asap dari kayu atau bahan organik lainnya. Asap membantu melindungi makanan dari pembusukan dan memberikan cita rasa khas yang khas.
7. Pengawetan dengan Gula: pengawetan dengan gula melibatkan penggunaan gula sebagai bahan pengawet alami dalam makanan. Kadar gula yang tinggi menghambat pertumbuhan mikroorganisme dengan mengurangi ketersediaan air bagi mereka, sehingga makanan dapat bertahan lebih lama.
8. Pengawetan dengan Minyak: pengawetan dengan minyak melibatkan merendam makanan dalam minyak, yang membentuk lapisan pelindung yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme dan mencegah kontaminasi.

Teknologi pengawetan tradisional ini memiliki nilai budaya dan historis yang penting, dan meskipun teknologi modern telah berkembang pesat, beberapa metode pengawetan tradisional masih dipraktikkan dan dijaga karena keefektifan dan kesederhanaannya dalam menjaga makanan tetap segar dan aman untuk dikonsumsi. Dalam masyarakat yang mengandalkan tradisi ini, teknologi pengawetan tradisional menjadi bagian penting dari warisan kuliner dan cara hidup yang berkelanjutan.

9.4 Pengawetan Pangan Secara Modern

Teknologi pengawetan pangan secara modern mengacu pada berbagai metode dan teknologi canggih yang digunakan untuk memperpanjang masa simpan makanan dengan mengendalikan pertumbuhan mikroorganisme, mempertahankan kualitas, dan keselamatan makanan. Pengawetan pangan modern dikembangkan dengan tujuan untuk meningkatkan efisiensi, kualitas, dan keamanan produk pangan dalam skala besar, sehingga dapat memenuhi kebutuhan makanan yang semakin meningkat dengan populasi yang tumbuh pesat. Berikut adalah beberapa teknologi pengawetan pangan modern yang umum digunakan:

1. Pendinginan dan Pembekuan: metode ini melibatkan penurunan suhu makanan untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme dan aktivitas enzim yang menyebabkan pembusukan. Pendinginan cepat dan pembekuan digunakan untuk mempertahankan kualitas dan nutrisi makanan secara optimal. Pendinginan dan pembekuan produk telah diimplementasikan secara luas untuk pengawetan sayuran berdaun, rempah-rempah, dan produk susu guna mempertahankan atribut sensorik dan kualitas gizi. Beberapa teknik pembekuan yang umum digunakan meliputi ledakan udara, cryogenic, kontak langsung, dan pencelupan pembekuan. Selain itu, terdapat

teknik lanjutan seperti pembekuan dengan bantuan tekanan tinggi, ultrasound, gangguan elektromagnetik, dan dehidrasi.

Proses pendinginan dan pembekuan sangat tergantung pada perpindahan panas. Ketika pendinginan, energi panas berpindah dari makanan dan wadah kemasan ke lingkungan sekitar, yang menghasilkan proses pendinginan. Karenanya, konduktivitas termal dan difusivitas termal memiliki pengaruh besar pada laju pendinginan atau pembekuan. Selama beberapa tahun terakhir, teknik penyimpanan makanan telah menjadi fokus perhatian yang signifikan untuk memenuhi kebutuhan konsumen. Makanan yang disimpan dengan benar dalam kemasan yang sesuai dan pada suhu yang rendah dapat mencegah masuknya mikroorganisme dan menjaga keamanan pangan. Meskipun pendinginan dan pembekuan adalah cara efektif untuk pengawetan, terdapat beberapa tantangan, seperti waktu pendinginan yang lama, pembentukan kristal es yang tidak merata, biaya penyimpanan, dan persyaratan lingkungan khusus.

Dalam usaha untuk memahami dan mengatasi tantangan ini, teknologi seperti model matematika tiga dimensi dan model dinamika fluida komputasi dievaluasi untuk memahami perpindahan panas dan aliran fluida dalam berbagai formulasi makanan. Hal ini membantu menunjukkan pendekatan untuk meminimalkan masalah yang terkait dengan proses pendinginan dan pembekuan (Zhu *et al.*, 2019a, b; Barbosa de Lima *et al.*, 2020; Brandaño *et al.*, 2020; Stebel *et al.*, 2020).

2. Pemanasan: pemanasan menggunakan suhu tinggi untuk membunuh mikroorganisme dan enzim yang dapat menyebabkan pembusukan. Teknik ini termasuk

pemanasan dengan suhu tinggi dalam waktu singkat (HTST - *High-Temperature Short-Time*) dan pemanasan dengan suhu rendah dalam waktu lama (LTLT - *Low-Temperature Long-Time*). Perlakuan panas atau termal dianggap sebagai salah satu teknik pengawetan makanan yang inovatif. Selama bertahun-tahun, teknik ini telah terbukti efektif dalam berbagai sektor makanan, mulai dari roti dan susu hingga buah-buahan dan sayuran (Wurlitzer *et al.*, 2019; Gharibi *et al.*, 2020; Prieto-Santiago *et al.*, 2020; Christiansen *et al.*, 2020). Prosesnya melibatkan memanaskan makanan pada suhu antara 75 hingga 90°C atau lebih tinggi dengan waktu penahanan selama 25-30 detik. Studi mengenai pengawetan jus apel dengan pasteurisasi dan perlakuan termal pada jagung menunjukkan hasil yang positif terhadap rasa, daya cerna, indeks glikemik, aroma, serta atribut warna dan sensorik (Charles-Rodríguez *et al.*, 2007; Zou *et al.*, 2020). Sebuah laporan terbaru juga menyoroti lima jenis beras yang mengalami perlakuan hidrotermal dan menunjukkan hasil yang sebanding dengan kualitas beras yang ada di pasar (Bhattacharyya dan Pal, 2020). Meskipun pemanasan makanan dapat mengurangi patogen, penelitian yang ekstensif juga menyimpulkan bahwa ada beberapa dampak negatif, seperti hilangnya nutrisi, pemborosan energi, perubahan rasa, dan pengurangan matriks makanan (Rosello-Soto *et al.*, 2018). Studi pada madu terang dan gelap juga menunjukkan perubahan fisikokimia, karakteristik, aktivitas antioksidan, dan variasi nutrisi setelah menjalani perlakuan panas (Nayik dan Nanda, 2016; Zarei *et al.*, 2019). Makanan cair, jus, dan minuman juga dapat mengalami dampak negatif, seperti reaksi gelatinisasi dan pencoklatan (Codina-Torrella *et al.*, 2017; de Souza *et al.*, 2020).

Selama bertahun-tahun, penelitian yang terus-menerus dilakukan untuk mengoptimalkan pemanasan makanan guna meningkatkan masa simpan. Penyesuaian dan sedikit modifikasi pada teknologi sebelumnya telah memberikan kontribusi signifikan dalam kemajuan industri makanan, terutama dengan kombinasi metode listrik dan termal. Proses-proses seperti elektropasmolisis, pemanasan ohmik, dan pemanasan microwave telah menciptakan dampak dramatis dalam kemajuan teknologi industri makanan.

3. Pengalengan: pengalengan melibatkan penyegelan makanan dalam wadah kedap udara dan pemanasan untuk menghancurkan mikroorganisme. Ini adalah metode yang umum digunakan untuk mempertahankan makanan dengan kualitas dan kesegaran yang baik tanpa memerlukan pendinginan atau pembekuan.
4. Pengawetan dengan Teknologi Nitrifikasi: metode ini melibatkan penggunaan gas nitrogen atau campuran gas lainnya untuk menggantikan oksigen dalam kemasan makanan. Ini menghambat pertumbuhan mikroorganisme aerobik dan mencegah oksidasi lipid, mempertahankan kualitas makanan dalam kemasan.
5. Pengeringan Vakum: pengeringan vakum menghilangkan air dari makanan dengan penerapan tekanan rendah. Metode ini membantu menjaga nilai nutrisi makanan dan menghambat pertumbuhan mikroorganisme.
6. Pengawetan dengan Teknologi Irradiasi: metode ini menggunakan radiasi untuk menghancurkan mikroorganisme dan enzim pada makanan. Pengawetan dengan teknologi iradiasi dapat memperpanjang masa simpan dan meningkatkan keamanan makanan.
7. Pengawetan dengan Penggunaan Aditif Makanan: penggunaan bahan-bahan aditif makanan, seperti

pengawet kimia dan antioksidan, juga merupakan teknologi pengawetan pangan modern yang efektif untuk memperpanjang masa simpan makanan.

8. Penggunaan Teknologi Ozon: teknologi ozon dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada makanan dan air, sehingga meningkatkan keamanan dan kualitas produk.
9. Pengemasan Atmosfer Termodifikasi (*Modified Atmosphere Packaging* - MAP): metode ini melibatkan mengganti atmosfer dalam kemasan makanan dengan campuran gas yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme dan memperlambat proses oksidasi.
10. Penggunaan Ultrasound : penerapan ultrasound dalam pengolahan makanan melibatkan penggunaan intensitas tinggi dan frekuensi gelombang suara pada bahan makanan. Teknologi ini dipilih karena sifatnya yang efisien, mudah digunakan, dan biaya yang lebih rendah dibandingkan dengan peralatan canggih lainnya. Fleksibilitas dari ultrasound ditunjukkan oleh penggunaannya di berbagai bidang, mulai dari kedokteran dan kesehatan hingga industri makanan (Dai dan Mumper, 2010). Perkembangan lebih lanjut dalam ekstraksi menggunakan ultrasound bergantung pada faktor-faktor seperti peningkatan penetrasi suara, gangguan sel, kapasitas pembengkakan yang lebih baik, dan efek kapiler yang lebih tinggi (Huang *et al.*, 2020; Xu *et al.*, 2007). Penggunaan ultrasound semakin berkembang di dua sektor industri makanan, yaitu pembuatan anggur dan produk susu. Proses termosonikasi banyak digunakan dalam pengolahan susu dan anggur.

Pada produksi susu, ultrasound frekuensi rendah atau kombinasi termosonikasi (hingga 11,1 detik) atau manotermosonikasi dapat meningkatkan keamanan,

kualitas, dan sifat fungsional produk hingga lima kali lipat (Bermudez-Aguirre *et al.*, 2009; Deshpande dan Walsh, 2020; Gammoh *et al.*, 2020). Penggunaan ultrasound frekuensi rendah juga berperan dalam meningkatkan tekstur dan homogenisasi yoghurt, keju, dan susu skim (Yang *et al.*, 2020). Dengan penerapan termosonikasi (20 kHz, 480 W, 55 C) dalam interval waktu yang lebih singkat, produksi susu meningkat hingga 40% dan juga berdampak positif pada sifat organoleptiknya (Tribst *et al.*, 2020). Pada produksi anggur dan minuman beralkohol, masalah yang sering muncul adalah penanganan mikroorganisme atau ragi. Metode konvensional sering melibatkan penggunaan bahan pengawet kimia seperti sulfur dioksida atau pasteurisasi termal diikuti oleh penyaringan untuk mendapatkan minuman yang lebih murni. Namun, studi terbaru menunjukkan bahwa ultrasound daya tinggi pada frekuensi 24 kHz selama 20 menit dapat mengurangi bakteri asam laktat hingga 85-90% pada pengolahan anggur (Luo *et al.*, 2012; Gracin *et al.*, 2016). Namun, perlu penanganan yang hati-hati untuk menjaga rasa dan tekstur (Izquierdo-Can˜as *et al.*, 2020; Xiong *et al.*, 2020). Studi tentang ultrasound juga menemukan aplikasi dalam isolasi senyawa bioaktif dan pemrosesan pasta dan jus dari berbagai buah dan sayuran. Beberapa contoh aplikasinya adalah pada kunyit, di mana teknik ini digunakan untuk menemukan kandungan fenolik total (Teng *et al.*, 2019; Azam *et al.*, 2020; Yildiz *et al.*, 2020).

Pengawetan pangan secara modern telah membantu mengatasi tantangan dalam penyediaan makanan bagi populasi yang semakin besar dan meningkatkan keselamatan dan kualitas pangan secara keseluruhan. Namun, perlu diingat bahwa penggunaan teknologi pengawetan pangan haruslah diikuti dengan ketat sesuai

dengan regulasi pangan dan norma keamanan untuk memastikan bahwa makanan yang dihasilkan aman dan bermutu tinggi bagi konsumen.

11. Perlakuan Ozon : Dengan meningkatnya permintaan konsumen terhadap makanan sehat dan gaya hidup berkelanjutan, permintaan akan makanan organik telah mengalami pertumbuhan yang pesat. Konsumen saat ini mencari makanan fungsional yang bebas dari bahan tambahan dan pengawet, tetapi tetap memiliki masa simpan yang cukup layak. Oleh karena itu, teknologi pengolahan ozon telah menjadi populer dalam beberapa tahun terakhir.

Ozon, secara sederhana, adalah alotrop oksigen. Molekul ozon terbentuk ketika oksigen terpecah menjadi oksigen tunggal atau oksigen baru dalam hadapan radiasi cahaya atau ultraviolet. Senyawa ini dengan cepat terurai menjadi molekul oksigen dan memiliki potensi oksidasi yang tinggi (2,07 V), sehingga menjadikannya agen antimikroba dan antivirus yang efektif (Fisher *et al.*, 2000; Nakamura *et al.*, 2017) dibandingkan dengan bahan pengawet kimia seperti klorin (1,35 V), hidrogen peroksida (1,78 V), dan asam hipoklorit (1,79 V) (Pandiselvam *et al.*, 2019; Afsah-Hejri *et al.*, 2020). Penggunaan ozon juga menghilangkan kebutuhan untuk menyimpan bahan kimia berbahaya, karena ozon dapat dihasilkan secara instan. Selain itu, energi yang dibutuhkan untuk penggunaan ozon juga relatif kecil dibandingkan dengan perlakuan panas, yang merupakan hal penting untuk memperpanjang masa simpan produk (Pandiselvam *et al.*, 2019).

Selama beberapa tahun terakhir, ozon telah terdaftar oleh Food and Drug Administration (FDA) sebagai zat yang diakui secara umum sebagai aman (GRAS). Hal ini telah

menyebabkan peningkatan permintaan dan penggunaan ozon dalam pengolahan dan pengawetan makanan untuk memastikan keamanan dan standar produk. Dibandingkan dengan klorin, degradasi ozon dapat diabaikan, sehingga residu ozon pada makanan atau minuman padat dapat dihindari. Penggunaan teknologi ozon dalam kombinasi dengan ultrasound (USG) juga telah terbukti efektif dalam meningkatkan keamanan makanan tanpa merusak kualitas produk, seperti pada contoh penggunaannya pada kubis (Mamadou *et al.*, 2019). Ozon juga telah terbukti efektif sebagai agen disinfektan pada tingkat konsumen, seperti dalam mendisinfeksi kotak plastik untuk penyimpanan (Dennis *et al.*, 2020).

12. Teknologi *Pulse Electric Field* : Teknologi *pulse electric field* adalah metode pra-pengeringan yang canggih dalam pengolahan makanan, yang mengurangi waktu perlakuan untuk pengeringan. Metode ini sangat diakui karena operasinya yang terus menerus dan membutuhkan medan listrik yang rendah (1-5 kV/cm³). Pengeringan menggunakan medan listrik pulsa dianggap sebagai alternatif untuk pengeringan termal dan dapat meningkatkan kualitas makanan karena menggunakan suhu yang sangat rendah, sekitar 40°C untuk berfungsi (Barba *et al.*, 2015; Wiktor *et al.*, 2016). Diagram pada Gambar 9.4 menunjukkan proses representatif dari pengolahan makanan cair dan pasta menggunakan medan listrik pulsa.

Metode *pulse electric field* melibatkan penempatan makanan (seperti buah, sayuran, susu, atau jus) di antara dua elektroda setelah pulsa listrik dengan tegangan tinggi (sekitar 50 kV/cm) diterapkan untuk interval waktu singkat. Prinsipnya melibatkan kombinasi elektroporasi dan elektropërmeabilisasi (Barba *et al.*, 2015). *Pulse*

electric field merusak membran sel makanan, sehingga meningkatkan kualitas gizi, keamanan, dan umur simpan makanan. Faktor-faktor yang mempengaruhi efisiensi medan listrik pulsa termasuk kekuatan medan, lebar pulsa, frekuensi, waktu perlakuan, polaritas, dan suhu yang digunakan (Odrizola-Serrano *et al.*, 2013; Wiktor *et al.*, 2016).

Selama beberapa tahun terakhir, permintaan akan teknologi medan listrik pulsa telah meningkat secara drastis di berbagai sektor industri makanan. Metode ini dapat digunakan untuk menghancurkan bakteri seperti *E. coli* dalam susu, sehingga meningkatkan kualitas susu dan memperpanjang umur simpannya. Penelitian baru-baru ini juga dilakukan pada jus semangka dan jeruk yang menunjukkan perubahan dalam sifat fisikokimia dan efek antimikroba (Aghajanzadeh dan Ziaifar, 2018; Bhattacharjee *et al.*, 2019).

13. *Nanotechnology* : Nanoteknologi telah menjadi terobosan besar dengan potensi yang besar untuk mendukung keberlanjutan. Ini merupakan gabungan dari berbagai cabang ilmu terapan, seperti fisika, biologi, teknologi pangan, teknik lingkungan, kedokteran, dan pengolahan bahan. Secara sederhana, nanoteknologi melibatkan penggunaan bahan atau nanopartikel yang memiliki satu atau lebih dimensi dengan ukuran sekitar 100 nanometer atau lebih kecil (Auffan *et al.*, 2009; He *et al.*, 2019). Teknologi ini memiliki nilai lebih karena memiliki sifat yang berbeda, seperti pelepasan zat secara perlahan, penargetan spesifik pada tempat yang diinginkan, aksi yang tepat pada situs aktif, dan luas permukaan yang tinggi (Joshi *et al.*, 2019).

Keberhasilan nanoteknologi dapat diatributkan pada hasil yang menjanjikan, kemampuan untuk mengurangi pelepasan polutan, hemat energi, dan penggunaan ruang yang lebih efisien. Selain itu, nanoteknologi juga menawarkan aplikasi yang beragam dalam bidang keamanan, penilaian toksisitas, dan risiko dalam konteks pertanian, pangan, dan lingkungan (Kaphle *et al.*, 2018). Melalui penelitian dan pengembangan nanoteknologi, telah terbuka berbagai peluang untuk menghadapi tantangan keberlanjutan dan menyediakan solusi inovatif dalam berbagai industri. Dengan menggunakan nanoteknologi, kita dapat menciptakan produk dan proses yang lebih ramah lingkungan, efisien, dan aman bagi manusia serta lingkungan.

Nanoteknologi telah diakui sebagai alat yang menjanjikan untuk mendorong pertumbuhan ekonomi dalam waktu dekat dan meningkatkan pertumbuhan tanaman serta kualitas gizi dalam komoditas pangan. Pemanfaatan pupuk nano dan pertanian presisi telah memberikan beberapa manfaat, termasuk dalam pengendalian gulma dan pengurangan penggunaan pestisida kimia, yang pada gilirannya meningkatkan umur simpan produk. Penggunaan nanoteknologi dalam industri agro-pangan menjadi solusi potensial untuk mengatasi tantangan dalam ketahanan pangan dan pertanian (Yata *et al.*, 2018; Ghouri *et al.*, 2020). Tiga bidang utama di mana nanoteknologi berperan adalah pengolahan makanan, pertanian, dan kemasan. Konsep nanoteknologi telah membuka peluang dalam pengolahan dan formulasi pewarna, sensor, rasa, aditif, pengawet, dan suplemen makanan (seperti nanoenkapsulasi dan nanoemulsi) pada produk dari sumber hewani dan nabati (He *et al.*, 2019).

Keberagaman nanoteknologi dalam berbagai bidang telah mendorong pengenalan nanosensor dalam industri pengolahan makanan. Nanomaterial menunjukkan sifat elektrokimia dan optik yang khas, yang dapat dimanfaatkan dalam berbagai saus, minuman, minyak, dan jus. Dalam industri makanan, bahan nano telah digunakan sebagai sensor untuk memantau dan meningkatkan kualitas produk. Sebagai contoh, oksida magnesium dan silikon dioksida berfungsi sebagai penguat rasa, pewarna, dan agen pembuat kue. Penggunaan titanium dioksida juga telah diotorisasi sebagai aditif dalam permen karet, saus, dan kue (Weir *et al.*, 2012). Nanoteknologi telah membuktikan diri sebagai bahan yang aman dan berpotensi meningkatkan kualitas makanan dan suplemen. Oksida tembaga, oksida besi, dan oksida seng telah dikategorikan sebagai bahan GRAS oleh European Food Safety Authority (EFSA) untuk produk hewan dan tumbuhan (He *et al.*, 2019). Dengan terus berkembangnya teknologi ini, nanoteknologi diharapkan akan memberikan dampak positif dalam memajukan industri makanan dan pertanian.

DAFTAR PUSTAKA

- Afsah-Hejri L, Hajeb P, Ehsani RJ. 2020. Application of ozone for degradation of mycotoxins in food: a review. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 19:1777–1808. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12594>
- Aghajanzadeh S, Ziaifar AM. 2018. A review of pectin methylesterase inactivation in citrus juice during pasteurization. *Trends Food Sci Technol* 71:1–12. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.10.013>
- Auffan M, Rose J, Bottero JY et al. 2009. Towards a definition of inorganic nanoparticles from an environmental, health and safety perspective. *Nat Nanotechnol* 4:634–641. <https://doi.org/10.1038/nnano.2009.242>
- Azam SMR, Ma H, Xu B et al. 2020. Efficacy of ultrasound treatment in the removal of pesticide residues from fresh vegetables: a review. *Trends Food Sci Technol* 97:417–432. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.028>
- Barba FJ, Parniakov O, Pereira SA et al. 2015. Current applications and new opportunities for the use of pulsed electric fields in food science and industry. *Food Res Int* 77:773–798. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.09.015>
- Barbosa de Lima WCP, Nascimento LPC, Lima Dantas R et al. 2020. Heat transfer in the cooling, freezing and post-freezing of liquid food: modeling and simulation. *Diffus Found* 25:37–53. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/df.25.37>
- Bhattacharjee C, Saxena VK, Dutta S. 2019. Novel thermal and nonthermal processing of watermelon juice. *Trends Food Sci Technol* 93:234–243. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.09.015>

- Bermu'dez-Aguirre D, Corradini MG, Mawson R, Barbosa-Ca'novas GV. 2009. Modeling the inactivation of *Listeria innocua* in raw whole milk treated under thermo-sonication. *Innov Food Sci Emerg Technol* 10:172–178. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2008.11.005>
- Bhattacharyya SK. 2020. Pal S (2020) Measurement of parboiled and non-parboiled rice grain dimension during hydro thermal treatment using image processing. *Natl Conf Emerg Trends Sustain Technol Eng Appl NCETSTE* 2020:8–12. <https://doi.org/10.1109/NCETSTE48365.2020.9119920>
- Białkowska A, Majewska E, Olczak A, Twarda-clapa A. 2020. Ice binding proteins: diverse biological roles and applications in different types of industry. *Biomolecules* 10:274. <https://doi.org/10.3390/biom10020274>
- Branda'no VAA, Arau'jo de Queiroz R, Lima Dantas R et al. 2020. Cooling and freezing of cashew apple using computational fluid dynamics. *Diffus Found* 25:114–132. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/df.25.114>
- Charles-Rodri'guez AV, Neva'rez-Moorillo'n GV, Zhang QH, OrtegaRivas E. 2007. Comparison of thermal processing and pulsed electric fields treatment in pasteurization of apple juice. *Food Bioprod Process* 85:93–97. <https://doi.org/10.1205/fbp06045>
- Christiansen MV, Pedersen TB, Brønd JN et al. 2020. Physical properties and storage stability of reverse osmosis skim milk concentrates: effects of skim milk pasteurisation, solid content and thermal treatment. *J Food Eng* 278:109922. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.109922>
- Codina-Torrella I, Guamis B, Ferragut V, Trujillo AJ. 2017. Potential application of ultra-high pressure homogenization in the physico-chemical stabilization of tiger nuts' milk beverage. *Innov Food Sci Emerg Technol* 40:42–51. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.06.023>

- Dai J, Mumper RJ. 2010. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules* 15:7313–7352.
<https://doi.org/10.3390/molecules15107313>
- de Souza VR, Popovic V, Bissonnette S et al. 2020. Quality changes in cold pressed juices after processing by high hydrostatic pressure, ultraviolet-c light and thermal treatment at commercial regimes. *Innov Food Sci Emerg Technol* 64:102398. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102398>
- Dennis R, Cashion A, Emanuel S, Hubbard D. 2020. Ozone gas: scientific justification and practical guidelines for improvised disinfection using consumer-grade ozone generators and plastic storage boxes. *J Sci Med* 2:1–28. <https://doi.org/10.37714/josam.v2i1.35>
- Deshpande VK, Walsh MK. 2020. Effect of thermosonication in a continuous system on indigenous microflora, milk quality, and consumer acceptance *J Food Process Preserv* pp. 1–11
<https://doi.org/10.1111/jfpp.14666>
- Fisher CW, Lee D, Dodge BA et al. 2000. Influence of catalase and superoxide dismutase on ozone inactivation of *Listeria monocytogenes*. *Appl Environ Microbiol* 66:1405–1409. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.4.1405-1409.2000>
- Gammoh S, Alu'datt MH, Tranchant CC, et al. 2020. Modification of the functional and bioactive properties of camel milk casein and whey proteins by ultrasonication and fermentation with *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*. *LWT* 129:109501. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109501>
- Gharibi V, Khanjani N, Heidari H et al. 2020. The effect of heat stress on hematological parameters and oxidative stress among bakery workers. *Toxicol Ind Health* 36:1–10. <https://doi.org/10.1177/0748233719899824>

- Ghouri MZ, Khan Z, Khan SH et al. 2020. Nanotechnology: transformation of agriculture and food security. *AJBB* 3:1–17. <https://doi.org/10.28933/AJBB>
- Gracin L, Jambrak AR, Juretic' H et al. 2016. Influence of high power ultrasound on *Brettanomyces* and lactic acid bacteria in wine in continuous flow treatment. *Appl Acoust* 103:143–147. <https://doi.org/10.1016/j.apacoust.2015.05.005>
- He X, Deng H, Hwang H, min, 2019. The current application of nanotechnology in food and agriculture. *J Food Drug Anal* 27:1–21. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.12.002>
- Huang D, Men K, Li D et al. 2020. Application of ultrasound technology in the drying of food products. *Ultrason Sonochem* 63:104950. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104950>
- Izquierdo-Canñas PM, Ríos-Carrasco M, García-Romero E et al. 2020. Co-existence of inoculated yeast and lactic acid bacteria and their impact on the aroma profile and sensory traits of tempranillo red wine. *Fermentation* 6:1–13. <https://doi.org/10.3390/fermentation6010017>
- Jayasena DD, Kim HJ, Yong HI et al. 2015. Flexible thin-layer dielectric barrier discharge plasma treatment of pork butt and beef loin: Effects on pathogen inactivation and meat-quality attributes. *Food Microbiol* 46:51–57. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.07.009>
- Joshi H, Choudhary P, Mundra SL. 2019. Future prospects of nanotechnology in agriculture. *Int J Chem Stud* 7:957–963
- Kaphle A, Navya PN, Umapathi A, Daima HK. 2018. Nanomaterials for agriculture, food and environment: applications, toxicity and Environmental Chemistry Letters (2021) 19:1715–1735 1731 123 regulation. *Environ Chem Lett* 16:43–58. <https://doi.org/10.>

- Luo H, Schmid F, Grbin PR, Jiranek V. 2012. Viability of common wine spoilage organisms after exposure to high power ultrasonics. *Ultrason Sonochem* 19:415–420. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2011.06.009>
- Mamadou T, Sun A, Gan Z et al. 2019. Antimicrobial capacity of ultrasound and ozone for enhancing bacterial safety on inoculated shredded green cabbage (*Brassica oleracea* var capitata). *Can J Microbiol* 66:125–137. <https://doi.org/10.1139/cjm-2019-0313>
- Nakamura H, Oya M, Hanamoto T, Nagashio D. 2017. Reviewing the 20 years of operation of ozonation facilities in Hanshin water supply authority with respect to water quality improvements. *Ozone Sci Eng* 39:397–406. <https://doi.org/10.1080/01919512.2017.1352413>
- Nayik GA, Nanda V. 2016. Effect of thermal treatment and pH on antioxidant activity of saffron honey using response surface methodology. *J Food Meas Charact* 10:64–70. <https://doi.org/10.1007/s11694-015-9277-9>
- Odriozola-Serrano I, Aguilo´-Aguayo I, Soliva-Fortuny R, Marti´nBelloso O. 2013. Pulsed electric fields processing effects on quality and health-related constituents of plant-based foods. *Trends Food Sci Technol* 29:98–107. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.10.003>
- Pandiselvam R, Subhashini S, Banuu Priya EP et al. 2019. Ozone based food preservation: a promising green technology for enhanced food safety. *Ozone Sci Eng* 41:17–34. <https://doi.org/10.1080/01919512.2018.1490636>
- Pereira RN, Teixeira JA, Vicente AA et al. 2018. Ohmic heating for the dairy industry: a potential technology to develop probiotic dairy foods in association with modifications of whey protein structure. *Curr Opin Food Sci* 22:95–101. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.01.014>

- Prieto-Santiago V, Cavia MM, Alonso-Torre SR, Carrillo C. 2020. Relationship between color and betalain content in different thermally treated beetroot products. *J Food Sci Technol* 57:3305–3313. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04363-z>
- Rosello'-Soto E, Poojary MM, Barba FJ et al. 2018. Thermal and nonthermal preservation techniques of tiger nuts' beverage "horchata de chufa". implications for food safety, nutritional and quality properties. *Food Res Int* 105:945–951. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.12.014>
- Said MI. 2020. Role and function of gelatin in the development of the food and non-food industry: a review. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci* 492:012086. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/492/1/012086>
- Saravanan A, Kumar PS, Hemavathy RV et al. 2020. Methods of detection of food-borne pathogens: a review. *Environ Chem Lett*. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01072-z>
- Stebel M, Smolka J, Palacz M et al. 2020. Numerical investigation of the fluid flow distribution for the hydrofluidisation food freezing method. *Int J Therm Sci* 151:106284. <https://doi.org/10.1016/j.ijthermalsci.2020.106284>
- Xiong ZQ, Cao LR, Wang GQ et al. 2020. Isolation of biogenic amine-negative lactic acid bacteria for Chinese rice wine fermentation based on molecular marker reverse screening. *J Sci Food Agric* 100:3257–3261. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10290>
- Xu H, Zhang Y, He C. 2007. Ultrasonically assisted extraction of isoflavones from stem of *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi and its mathematical model. *Chinese J Chem Eng* 15:861–867. [https://doi.org/10.1016/s1004-9541\(08\)60015-4](https://doi.org/10.1016/s1004-9541(08)60015-4)

- Yang J, Yang M, Qin J et al. 2020. Effect of ultrasound on the structural characteristics of fresh skim milk. *Food Sci Technol Int* 26:222–230. <https://doi.org/10.1177/1082013219879257>
- Yildiz G, Izli G, Aadil RM. 2020. Comparison of chemical, physical, and ultrasound treatments on the shelf life of fresh-cut quince fruit (*Cydonia oblonga* Mill.). *J Food Process Preserv* 44:1–12. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14366>
- Zarei M, Fazlara A, Tulabifard N. 2019. Effect of thermal treatment on physicochemical and antioxidant properties of honey. *Heliyon* 5:01894. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01894>
- Zhu Z, Li Y, Sun DW, Wang HW. 2019. Developments of mathematical models for simulating vacuum cooling processes for food products—a review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 59:715–727. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1490696>
- Zhu Z, Zhang Y, Zhang Y et al. 2019. Preparation of PAN@TiO₂ Nanofibers for fruit packaging materials with efficient photocatalytic degradation of ethylene. *Materials (Basel)* 16:896. <https://doi.org/10.3390/ma12060896>
- Zou J, Xu M, Tang W et al. 2020. Modification of structural, physicochemical and digestive properties of normal maize starch by thermal treatment. *Food Chem* 309:125733. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125733>

BIODATA PENULIS



Khartini Kaluku, S.Gz., M.Kes.

Dosen Program Studi Gizi
Politeknik Kesehatan Kemenkes Maluku

Penulis lahir dari pasangan Bapak Djamad Kaluku dan Ibu Wa Ning Emy sebagai anak kedua dari 4 bersaudara di Ambon pada tanggal 21 April 1983. Ketertarikan penulis terhadap ilmu gizi dimulai pada tahun 2001 silam. Sejak menempuh Pendidikan Diploma III Gizi Poltekkes Kemenkes Maluku di Ambon dan berhasil lulus pada tahun 2004. Penulis kemudian melanjutkan studi ke Perguruan Tinggi dan berhasil menyelesaikan S1 Ilmu Gizi Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Hasanuddin pada tahun 2012. Setelah itu, penulis menyelesaikan studi S2 peminatan Gizi Masyarakat di Universitas Hasanuddin tahun 2018. Riwayat pekerjaan menjadi salah satu pengajar di Poltekkes Kemenkes Maluku sejak tahun 2006 dan aktif sebagai pengurus DPD Persagi Maluku hingga sekarang.

Penulis memiliki kepakaran dibidang Kesehatan dan Gizi. Untuk mewujudkan karir sebagai dosen profesional, penulis aktif sebagai peneliti. Penelitian yang telah dilakukan didanai oleh Kemenkes RI. Selain peneliti, penulis juga aktif menulis buku dan mengembangkan media edukasi guna memberikan kontribusi

positif bagi bangsa tercinta. Buku dan media edukasi yang pernah diterbitkan penulis adalah Komik Gizi Seimbang, Booklet Urban Gardening Dengan Sistem Hidroponik, Booklet Higiene Untuk Penjamah Makanan Di Institusi Penyelenggaraan Makanan Pada Masa Pandemi Covid-19 dan Kartu Gizi Seimbang. Email Penulis: khartinikaluku@poltekkes-maluku.ac.id

BIODATA PENULIS



Made Gendis Putri Pertiwi, S.Si., M.Sc.

Dosen Program Studi S1 Ilmu dan Teknologi Pangan
Universitas Mataram

Penulis lahir di Jember pada 23 April 1994. Pendidikan Sarjana ditempuh di Program Studi S1 Kimia Universitas Gadjah Mada (lulus tahun 2016). Selanjutnya melanjutkan pendidikan magister pada Program Studi S2 Ilmu dan Teknologi Pangan di universitas yang sama (lulus tahun 2019). Pernah bekerja sebagai analis di Puslitkoka dan salah satu industri makanan di Pasuruan Jawa Timur. Saat ini, bekerja sebagai dosen tetap di Program Studi S1 Ilmu dan Teknologi Pangan Universitas Mataram dan masuk dalam kelompok penelitian bidang ilmu Kimia dan Biokimia Kesehatan dan Gizi. Fokus penelitian yang dilakukan terkait dengan bidang kimia pangan, enzim pangan dan pangan fungsional.

Email : md_gendisputri@unram.ac.id

BIODATA PENULIS



Ilham Ahmad

dosen pada Program Studi Agroindustri Politeknik Pertanian
Negeri Pangkajene Kepulauan

Penulis lahir di Rappang tanggal 07 Npember 1975. Penulis adalah dosen pada Program Studi Agroindustri Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene Kepulauan. Penulis menyelesaikan pendidikan S1 pada Jurusan Teknik Mesin Universitas Hasanuddin Makassar dan menyelesaikan pendidikan S2 pada program studi Teknik dan Manajemen Industri Institut Teknologi Bandung. Selain sebagai dosen, penulis juga adalah kepala laboratotium Perancangan Agroindustri di Program studi Agroindustri Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene Kepulauan. Penulis menekuni bidang Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat yang terkait dengan keteknikan, teknologi proses dan sistem-sistem pertanian serta manajemen agroindustri.

BIODATA PENULIS



Marta Tika Handayani, S.TP., M.Sc

Dosen Program Studi D3 Teknologi Pangan
Politeknik Negeri Sriwijaya

Penulis lahir di Muara Enim tanggal 21 Maret 1994. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi D3 Teknologi Pangan Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Sriwijaya. Menyelesaikan pendidikan S1 pada Jurusan Teknologi Pertanian Unsri pada tahun 2016 dan melanjutkan S2 pada Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan UGM pada tahun 2019. Penulis menyelesaikan Tesis yang berfokus pada bidang Peptida Bioaktif ACE-inhibitor dari Tempe koro kratok. Penulis menekuni bidang Menulis.

Email : marta.tika.handayani@polsri.ac.id

BIODATA PENULIS



Aldilla Sari Utami

Dosen Program Studi D3 Teknologi Pangan
Politeknik Negeri Sriwijaya

Aldilla Sari Utami, lahir di Palembang pada 26 Juni 1987, mengabdikan sebagai dosen muda di Politeknik Negeri Sriwijaya. Menyelesaikan pendidikan terakhirnya di Mie University, Jepang, dengan konsentrasi keilmuan di bidang teknologi pangan. Minatnya yang tinggi akan perkembangan industri pangan serta pengalaman kunjungan studi dan riset di negeri Sakura dengan kemajuan teknologinya menumbuhkan harapan dan impian Penulis untuk dapat diaplikasikan di tanah air tercinta.

Beberapa karya yang sudah dimuat di surat kabar, jurnal nasional maupun internasional merupakan hasil riset Penulis yang disusun dengan fokus pada pengembangan potensi industri lokal, khususnya Sumatera Selatan.

email : aldilla.sari.utami@polsri.ac.id

BIODATA PENULIS



Revita Permata Hati, STP, MSi

Dosen Program Studi S1 Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Dan Bisnis, Universitas BTH

Penulis bernama Revita Permata Hati, STP, MSi yang dilahirkan pada September 25, 1992 di Bogor, Jawa Barat. Penulis adalah Dosen Sarjana Teknologi Pangan (STP), Gugus Kendali Mutu (GKM) Fakultas Teknologi dan Bisnis (FTB), Universitas Bakti Tunas Husada (BTH) Tasikmalaya. Penulis diberi kepercayaan Pada tahun akademik 2014/2015–2017/2018 menjadi Asisten Dosen di Program Diploma Tiga (D3) Supervisor Jaminan Mutu Pangan (SJMP), Institut Pertanian Bogor (IPB), Bogor-16151 dan Pada tahun 2013/2014 penulis diberi kepercayaan menjadi *Staff Research and Development* - Asisten Manager (R&D) di PT Sentral Multimitra Gemilang (SMG Food), Bogor-16310. Penulis memperoleh Gelar Sarjana Teknologi Pangan dari Fakultas Teknologi Industri Pertanian, Universitas Sahid Jakarta (USAHID) dan Magister Ilmu Pangan dari Fakultas Teknologi Pertanian, IPB University. Penulis melakukan penelitian dan fokus studi di bidang mikrobiologi dan keamanan pangan. Penulis aktif berperan dan berpartisipasi dalam berbagai aktivitas pelatihan, seminar nasional dan internasional. Penulis aktif menulis dan beberapa tulisannya

telah diterbitkan. Penulis telah mempublikasikan hasil penelitiannya dalam *Journal International Food Research*. Pembaca dapat mengirimkan pesan digital dengan penulis melalui alamat email (revita.p.h@gmail.com).

BIODATA PENULIS



Fathimah, S.Gz., M.K.M.

Dosen Program Studi Ilmu Gizi
Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Darussalam Gontor

Penulis lahir di Jakarta dengan latar belakang pendidikan menyelesaikan pendidikan Akademi Gizi Kemenkes RI Jakarta, lalu melanjutkan S1 pada Jurusan Ilmu Gizi UHAMKA Jakarta dan melanjutkan S2 pada Jurusan Gizi Masyarakat FKM Universitas Indonesia. Saat ini penulis sedang studi lanjut S3 Ilmu Gizi di IPB University. Penulis menekuni bidang Menulis baik non-fiksi maupun fiksi. Buku yang telah diterbitkan penulis adalah buku ajar Survei Konsumsi Pangan, 2019. Penerbit: UNIDA Press.

Sebagai penulis pemula, penulis masih perlu banyak belajar bagaimana menjadi penulis yang baik, sehingga karyanya dapat bermanfaat bagi masyarakat.

BIODATA PENULIS



Nur Susan Iriyanti Ibrahim, S.Gz., M.Si

Dosen Program Studi S1 Gizi
STIKes Persada Nabire Papua Tengah

Penulis lahir di Nabire tanggal 13 Juli 1992. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi S1 Gizi STIKes Persada Nabire sejak tahun 2019. Penulis menyelesaikan pendidikan S1 pada Departemen Gizi Masyarakat di IPB University pada tahun 2014 dan melanjutkan S2 pada Jurusan Ilmu Gizi peminatan Gizi Manusia lulus tahun 2017 di IPB University.

Penulis menjadi pengampu pada mata kuliah : Dasar Ilmu Gizi, Kimia, Metabolisme Energi dan Zat Gizi Makro, Kulinari Gizi, Metabolisme Zat Gizi Mikro, *Nutritional Care Process* (NCP), Penilaian Konsumsi Pangan, Manajemen Gizi Buruk. Dan Manajemen Sistem Penyelenggaraan Makanan.

BIODATA PENULIS



Dini Wulan Dari, S.Gz., M.Si

Dosen Program Studi Ilmu Gizi

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Baiturrahim

Penulis dilahirkan di Jambi, 23 September 1989. Saat ini penulis berdomisili di Kota Jambi. Pendidikan yang ditempuhnya mulai dari jenjang Sarjana Gizi di Program Studi Ilmu Gizi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Baiturrahim Jambi lulus tahun 2011, kemudian melanjutkan Pendidikan S2 Ilmu Pangan di Fakultas Teknologi Pertanian IPB lulus tahun 2018. Saat ini sedang melanjutkan Pendidikan S3 Ilmu Gizi di Fakultas Ekologi Manusia IPB University. Penulis bekerja sebagai Dosen Tetap di Program Studi Ilmu Gizi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Baiturrahim Jambi sejak Maret 2012 hingga sekarang dan memiliki jabatan fungsional Lektor. Penulis pernah menduduki jabatan sebagai Sekretaris Program Studi Ilmu Gizi dan Ketua Program Studi Ilmu Gizi. Penulis aktif melakukan penelitian dan pengabdian kepada masyarakat di bidang Gizi dan Pangan. Penulis juga aktif di Organisasi PATPI (Persatuan Ahli Teknologi Pangan Indonesia) Pusat dan Cabang Divisi Pengabdian Masyarakat.