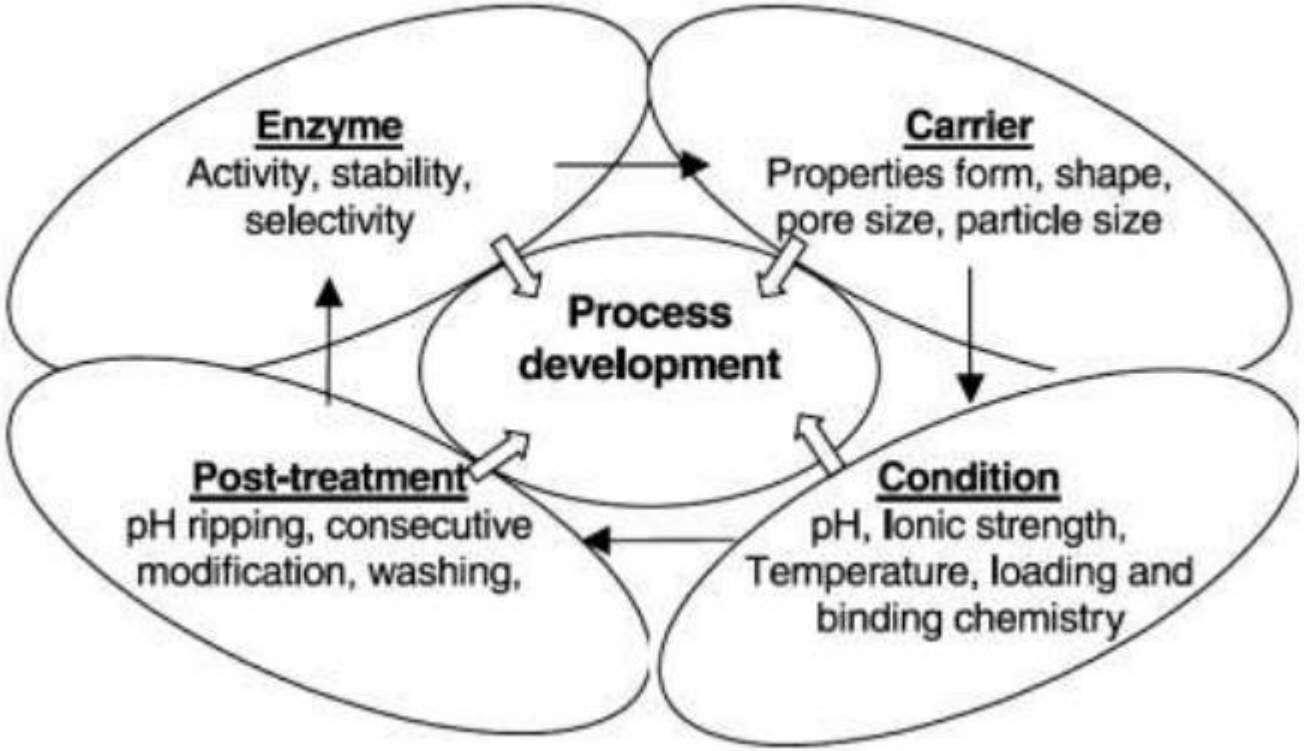
APLIKASI ENZIM IMOBILASI

Doddy Guntama, S.T.,M.ENG



APLIKASI ENZIM IMOBILISASI

INDUSTRI PANGAN

Dalam industri makanan banyak menggunaakan enzim yang telah dimurnikan oleh karena itu biaya enzim menjadi mahal. Guna mengefesienkan biaya maka digunakan enzim amobil sehingga dapat dipakai secara berulang.

Tabel 13.1. Beberapa aplikasi penting dari enzim amobil di industri

Enzyme	EC number	Substrate	Product
β-Galactosidase	3.2.1.23	Lactose	Lactose-free milk
Lipase	3.1.1.3	Triglycerides	Cocoa butter substitutes
Nitrile hydratase	4.2.1.84	Acrylonitrile	Nicotinamide
Aminoacylase	3.5.1.14	D, L-Amino acids	L-Amino acids
Raffinase	3.2.1.22	Raffinose	Galactose and sucrose
Invertase	3.2.1.26	Sucrose	Glucose and fructose mixture
Thermolysin	3.4.24.27	Peptides	Aspartam
Glucoamylase	3.2.1.3	Starch	D-Glucose
Papain	3.4.22.2	Proteins	Removal of "chill haze" in beers
Tyrosinase	4.1.99.2	Pyrocathecol	L-DOPA

ENERGI

Energi terbarukan merupakan salah satu kebutuhan utama guna menggantikan sumber energi konvensional yang berbasis minyak bumi. Salah satu sumber energi yang potensial adalah biodiesel. Biodiesel adalah ester monoalkil dari asam lemak rantai panjang. Biodiesel secara kimiawi dihasilkan dari trigliserida yang berasal dari minyak nabati maupun lemak hewani melalui proses esterifikasi dengan alkohol (metanol, etanol) menggunakan katalis. Produksi biodiesel secara kimiawi menghadapi tantangan dalam mensuplai katalis dalam jumlah yang besar, rekoveri gliserol dan adanya reaksi samping yang dapat menyebabkan polusi. Oleh karena itu produksi biodiesel secara enzimatis menggunakan enzim lipase mempunyai potensi aplikasi yang besar. Enzim lipase mengkatalisis reaksi dengan membutuhkan energi yang jauh lebih kecil dan hanya memerlukan kondisi reaksi yang ringan. Enzim lipase berharga mahal, oleh karena itu imobilisasi lipase sangat penting sehingga dapat digunakan secara berulang dan mempunyai stabilitas yang tinggi.

BIOSENSOR

Aplikasi enzim amobil untuk biosensor untuk tujuan analisa dan tes diagnostik telah berkembang dengan pesat. Biosensor dibuat dengan mengintegrasikan penginderaan sistem biologis, misalnya enzim dengan transduser. Enzim diimobilisasi pada ujung transduser baik secara langsung atau dilapisi menggunakan membran polimer. Prinsip kerja biosensor adalah dengan memanfaatkan spesifisitas dan sensitivitas enzim. Biosensor dapat disesuaikan untuk berbagai analit target yang dapat berupa substrat enzim maupun inhibitor enzim. Penggunaan biosensor dalam analisa sampel memberikan keuntungan karena cepat dan tanpa memerlukan persiapan khusus dari sampel.

BEBERAPA POTENSI ENZIM AMOBIL UNTUK APLIKASI BIOSENSOR

Enzyme	EC No.	Substrate	Application
Acetylcholinesterase	3.1.1.7	Acetylcholine	Determination of carbamate pesticides
Alcohol dehydrogenase	1.1.1.1	Ethanol	Food science, biotechnology
Alliinase	4.4.1.4	Cysteine sulfoxide	Food industry (garlic derivatives)
Cholesterol oxidase	1.1.3.6	Cholesterol	Medical applications
Choline oxidase	1.1.3.17	Choline	Used with acetylcholine esterase
Glucose oxidase	1.1.3.4	Glucose	Diabetes, food science, biotechnology
Glutamate oxidase	1.4.3.11	Glutamate	Food science, biotechnology
Horseradish peroxidase	1.11.1.7	H_2O_2	Biological and industrial applications
Lactate dehydrogenase	1.1.1.27	Lactate	Sport sciences, food sciences
Lactate oxidase	1.13.12.4	Lactate	Sport sciences, food sciences
Penicillinase	3.5.2.6	Penicillins	Pharmaceutical applications
Tyrosinase	1.14.18.1	Phenols	Determination of phenolics in food
Urease	3.5.15	Urea	Medical diagnosis, artificial kidneys

APLIKASI MEDIS

Enzim amobil mempunyai potensi yang besar untuk diaplikasikan di bidang medis diantaranya adalah untuk diagnosis dan pengobatan penyakit.

Enzyme (EC number)	Condition
Arginase (3.5.3.1)	Cancer
Asparginase (3.5.1.1)	Leukemia
Carbonic dehydratase (4.2.1.1)	Artificial lungs
Catalase (1.11.1.6)	Acatalasemia
Glucoamylase (3.2.1.3)	Glycogen storage disease
Glucose oxidase (1.1.3.4)	Artificial pancreas
Glucose-6-phosphate dehydrogenase (1.1.1.49)	Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency
Heparinase (4.2.2.7)	Extracorporeal therapy procedures
Phenylalanine ammonia lyase (4.3.1.5)	Phenylketonurea
Urease (3.5.1.5)	Artificial kidney
Urate oxidase (1.7.3.3)	Hyperuricemia
Xanthine oxidase (1.1.3.22)	Lesch–Nyhan disease

PENGOLAHAN LIMBAH

Sumber cemaran dari industry seperti limbah pewarna dari industri tekstil, kertas, kulit memberikan pencemaran bagi lingkungan dan bahkan dalam konsentrasi rendah bersifat karsinogenik. Saat ini enzim telah banyak digunakan untuk mendegradasi bahan pewarna, seperti enzim peroksidase, lakase, azo reduktase. Guna melindungi enzim dari kondisi yang tidak sesuai, suhu tinggi, pH rendah atau tinggi dan kekuatan ion tinggi yang dapat mengakibatkan kehilangan aktivitasnya, maka enzim diimobilisasi. Beberapa enzim amobil yang telah digunakan dalam pendegradasian limbah warna meliputi: enzim lakase amobil untuk mendegradasi zat warna antrasinoid, lancet biru dan ponceau merah. Enzim lipase amobil digunakan untuk mendegradasi minyak dan lemak menjadi asam lemak rantai panjang dan gliserol dalam pengolahan air limbah dari industri makanan.

JADI, BAGAIMANA KEUNTUNGAN DAN KERUGIAN PENGGUNAAN ENZIM IMOBILISASI UNTUK KATALIS REAKSI?

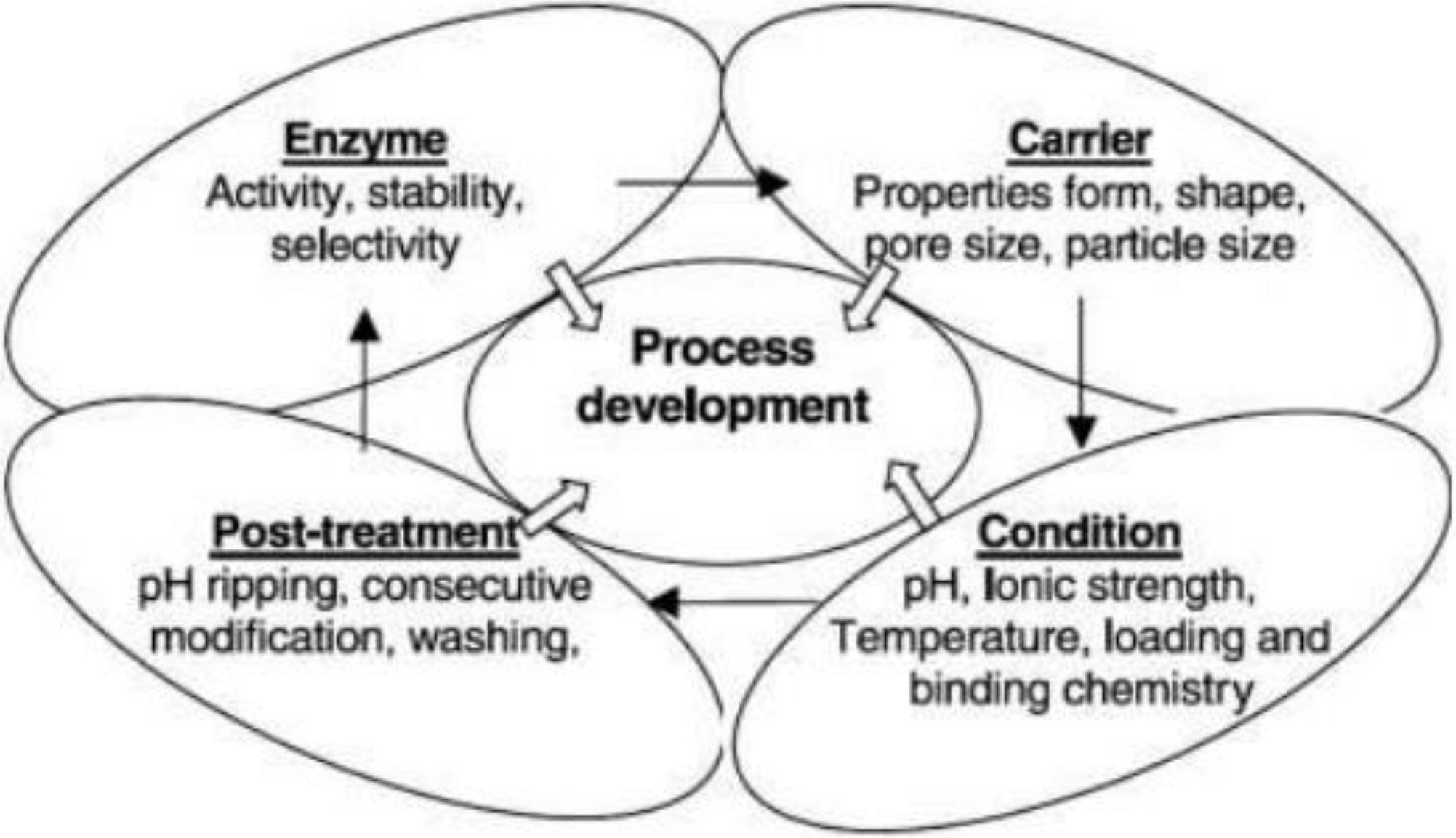
KEUNTUNGAN

Aspek umum	Aspek khusus
Keuntungan	
Retensi biokatalis dalam bioreaktor	Memungkinkan penggunaan ulang biokatalis
	Kontaminasi produk dapat dihindari
	Metode laju pengenceran yang tinggi tidak memungkinkan adanya pemusnahan biokatalis
Konsentrasi biokatalis yang tinggi	Meningkatkan volume produktivitas
	Konversi substrat yang tidak stabil secara cepat
	Meminimalisir reaksi sampingan
Kontrol lingkungan mikro dari biokatalis	Manipulasi aktivitas dan spesifisitas biokatalis
	Stabilisasi aktivitas biokatalis
	Proteksi terhadap biokatalis yang sensitive terhadap pengadukan
Fasilitasi pemisahan biokatalis dengan produk	Kontrol yang presisi terhadap waktu bioreaksi
	Meminimalisasi transformasi produk berlebih

KERUGIAN

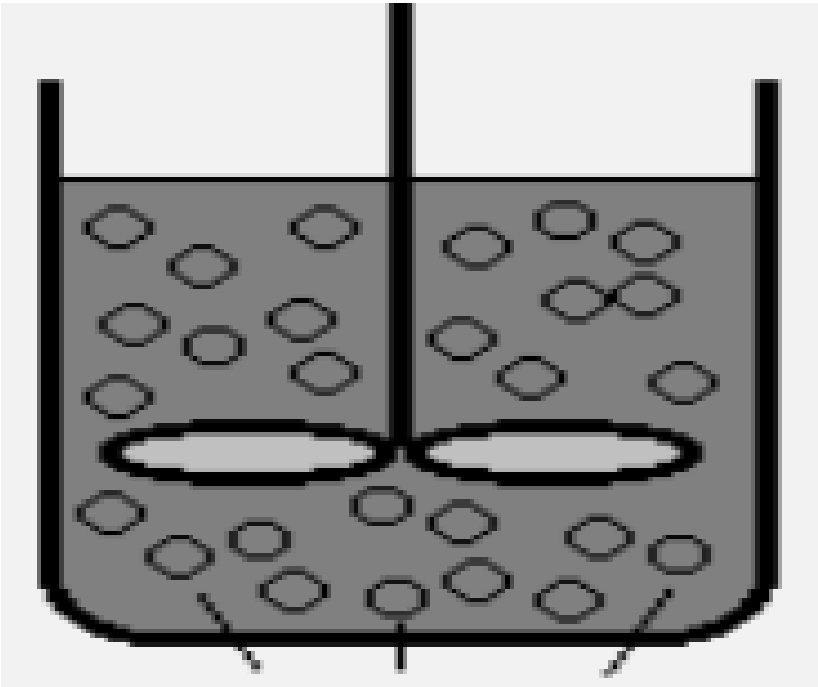
Aspek umum	Aspek khusus
Biaya produksi yang tinggi	Peningkatan kebutuhan material dan peralatan untuk merancang sebuah bioreaktor
Hilangnya aktivitas biokatalis selama imobilisasi	Terkait dengan biokatalis: pengaruh pH, suhu, reaktan yang toksik, gerakan mekanis di dalam reactor Terkait dengan lingkungan mikro: hambatan pada reaksi enzimatik di situs aktif, pH hanya local, adanya transfer masa yang terbatas
Hilangnya aktivitas biokatalis selama operasi bioreaktor	Perubahan struktur kompleks biokatalis: matriks yang mengalami erosi dan larut dalam campuran, partikel matriks yang tidak dapat menahan biokatalis karena adanya aliran fluida dalam bioreactor, serta

FAKTOR YANG HARUS DIPERHATIKAN DALAM PROSES IMOBILISASI ENZIM?


Enzyme
Activity, stability, selectivity
Carrier
Properties form, shape, pore size, particle size
Process development
Post-treatment
pH ripping, consecutive modification, washing,
Condition
pH, Ionic strength, Temperature, loading and binding chemistry

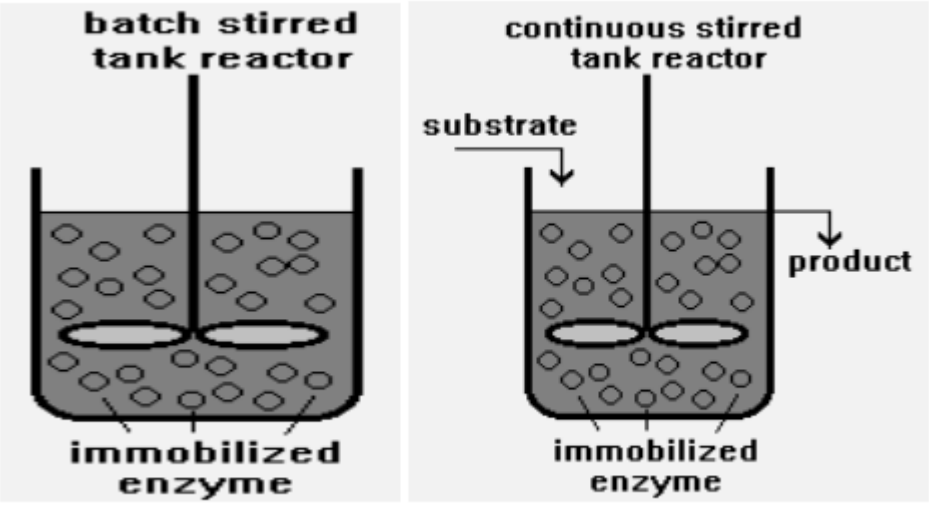
PERUBAHAN SIFAT ENZIM TERIMOBILISASI

Enzim yang diimobilisasi dapat mengalami perubahan aktivitas, pH optimum, dan stabilitas. Perubahan aktivitas enzim terimobilisasi ada dua yaitu aktivitas relatif dan aktivitas spesifik absolut. Penurunan aktivitas enzim dapat disebabkan oleh adanya matriks yang menghalangi interaksi antara enzim dengan substrat, serta kemungkinan adanya gugus reaktif pada sisi aktif enzim ikut terikat pada matriks, serta adanya kemungkinan denaturasi enzim. pH optimum enzim yang terimobilisasi dapat berubah karena adanya distribusi ion H+ , ion OH- , dan muatan substrat yang tidak merata. Stabilitas enzim (stabilitas operasi/ t1/2 (halflife) merupakan waktu dimana enzim kehilangan 50% dari aktivitas enzim semula. Stabilitas operasi enzim ditentukan oleh jenis enzim, cara imobilisasi, dan jenis bioreaktor (batch reactor atau continuous reactor)



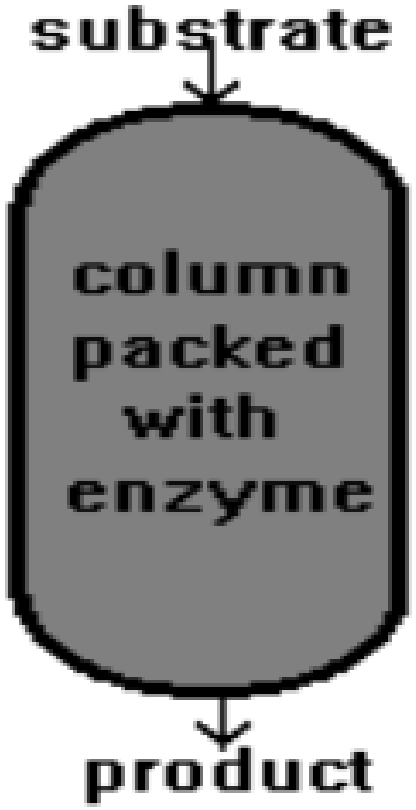
REAKTOR UNTUK ENZIM IMOBILISASI

Reaktor curah (batch) merupakan reaktor yang sederhana dan mudah digunakan, akan tetapi memiliki kelemahan ketika viskositas substrat dan enzim yang tinggi alat ini akan bekerja dengan sangat lambat karena proses pengadukan (stirring) yang berat. Viskositas yang tinggi juga akan menurunkan aktivitas enzim imobil. Reaktor ini tidak memiliki mekanisme pengontrolan yang baik, sehingga enzim, substrat, dan produk menjadi satu di dalam tanki. Reaktor continuous stirred tank reactor (CSTR) merupakan reaktor yang mirip dengan reaktor curah akan tetapi memiliki keunggulan yaitu pengontrolan kondisi reaktor yang lebih mudah, cocok untuk kasus penghambatan substrat, dan dapat menghindari kontak enzim oleh substrat dan produk yang terlalu lama. Reaktor ini dapat diatur dengan baik karena memiliki sistem pengontrolan kapan saat memasukkan substrat dan kapan memanen produk.

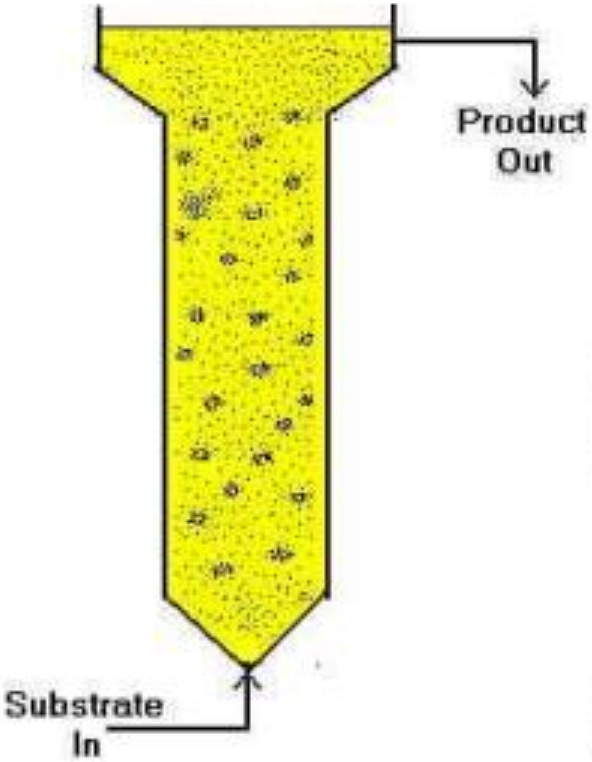


A B

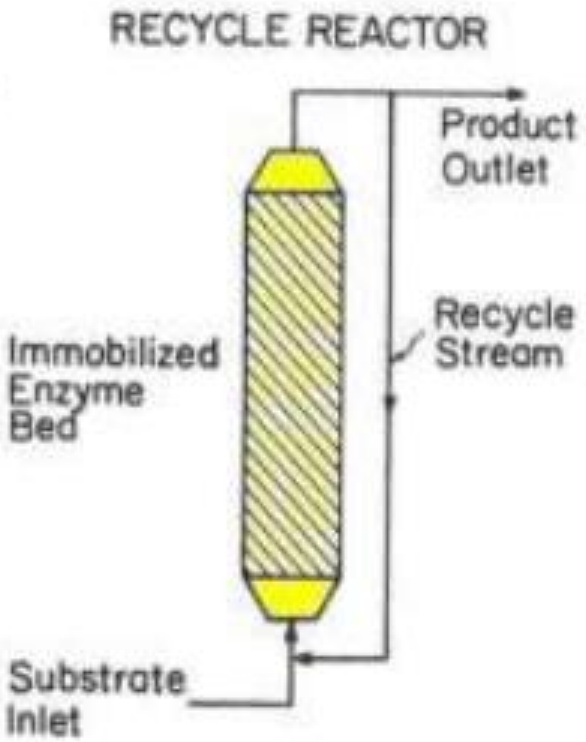
Fixed-bed-PFR (Unggun Diam/Terkemas) merupakan reaktor yang paling sering digunakan. Reaktor ini memiliki keunggulan yaitu berkesinambungan, aliran substrat dapat berasal dari atas, bawah, atau daur-ulang



Fluidized-bed reactor (Unggun Terfluidisasi) merupakan reaktor yang digunakan untuk substrat yang memiliki viskositas tinggi dan dalam reaksinya menghasilkan gas. Akan tetapi, laju fluidisasi perlu diatur supaya tidak merusak enzim imobil. Recycle packed column reactor (RPCR) merupakan bioreaktor yang dapat diopersikan dengan laju alir tinggi. Reaktor ini dapat digunakan untuk substrat yang tidak dapat dilakukan hanya dengan sekali proses



A



B

LATIHAN

1. Sebutkan keuntungan dan kerugian aplikasi enzim amobil dibandingkan dengan penggunaan enzim terlarut.
2. Sebutkan teknik-teknik untuk imobilisasi enzim dan jelaskan prinsipnya.
3. Berikan contoh aplikasi enzim amobil di industry dan jelaskan prinsip reaksi yang terjadi.
4. Sebutkan karakteristik enzim amobil yang perlu diperhatikan dalam aplikasi enzim amboil di industri.
5. Sebutkan contoh aplikasi enzim dalam bidang biosensor dan jelaskan prinsip kerjanya.

THANK YOU