

Penicillin G Acylase Sebagai Biokatalis Dalam Sintesis Enzimatis Antibiotik Beta-Laktam

Wiwin Try Ayu Rombe¹, Iin Hardiyati², Susi Kusumaningrum³, Ahmad Wibisana⁴
Errol Rakhmad Noordam⁵ Salma Hilmy Rusydi Hashim⁶

1-2-5-6 Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Medika
Suherman

3-4 Pusat Riset Teknologi Proses, Organisasi Riset Energi dan Manufaktur, Badan Riset
dan Inovasi Nasional (BRIN)

* Corresponding Author: rombewiwin99@gmail.com amaimy9@gmail.com

ARTICLE INFO

Article history:

Received 22-08-2026

Revised 23-08-2026

Accepted 28-08-2026

Available online

Kata Kunci:

*Penicillin G acylase, antibiotik
beta-laktam, biokatalis, sintesis
enzimatis, imobilisasi enzim*

Keywords:

*Penicillin G acylase, β -lactam
antibiotics, biocatalyst, enzymatic
synthesis, enzyme immobilization..*

ABSTRAK

Antibiotik β -laktam banyak digunakan dalam terapi infeksi bakteri, namun produksi kimiawinya menghasilkan limbah tinggi dan menggunakan bahan berbahaya. *Penicillin G acylase* (PGA) menjadi biokatalis kunci untuk hidrolisis penisilin G menjadi asam 6-aminopenisilamat (6-APA) serta sintesis antibiotik semisintetik seperti ampicilin dan amoksisilin. Kajian literatur ilmiah 2015–2025 ini bertujuan menganalisis karakteristik, mekanisme katalitik, dan strategi peningkatan kinerja PGA dalam sintesis enzimatis antibiotik β -laktam. Hasil studi menunjukkan kinerja PGA dapat ditingkatkan melalui rekayasa protein, evolusi terarah, imobilisasi enzim, rekayasa media reaksi dengan kosolven organik, serta integrasi kristalisasi reaktif secara *in situ*. Selain PGA, α -amino ester hydrolase (AEH) berpotensi sebagai biokatalis alternatif, khususnya pada sintesis sefaleksin. Pengembangan PGA yang efisien dan stabil mendukung produksi antibiotik β -laktam yang berkelanjutan, ramah lingkungan, serta mengurangi ketergantungan bahan baku obat impor.

ABSTRACT

β -lactam antibiotics are among the most widely used antibiotics for treating bacterial infections. Conventional chemical production has limitations, including the use of hazardous solvents, extreme reaction conditions, and substantial waste generation. *Penicillin G acylase* (PGA) is an important biocatalyst that catalyzes the hydrolysis of penicillin G to 6-aminopenicillanic acid (6-APA) and the kinetically controlled synthesis of semisynthetic antibiotics such as ampicillin and amoxicillin. This review aims to analyze the characteristics, catalytic mechanisms, and strategies for improving PGA performance in the enzymatic synthesis of β -lactam

antibiotics based on scientific literature published from 2015–2025. The review indicates that PGA performance can be improved through protein engineering and directed evolution, enzyme immobilization, reaction medium engineering using organic cosolvents, and in situ product separation through reactive crystallization. In addition to PGA, α -amino ester hydrolase (AEH) shows potential as an alternative biocatalyst, particularly for cephalexin synthesis. The development of more efficient and stable PGA biocatalysts may support sustainable and environmentally friendly β -lactam antibiotic production while reducing dependence on imported pharmaceutical raw materials.

This is an open access article under the [CC BY-NC](#) license.

Copyright © 2021 by Author. Published by Universitas Bina Bangsa Getsempera



PENDAHULUAN

Antibiotik β -laktam merupakan kelompok antibiotik yang mencakup golongan penisilin, sefalosporin, dan turunan semisintetiknya, serta menjadi kelas antibiotik yang paling luas digunakan di dunia baik dari sisi volume produksi maupun nilai penjualan tahunan. Kelompok antibiotik ini bekerja dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri melalui pengikatan pada penicillin-binding proteins (PBPs), sehingga bersifat bakterisidal terhadap berbagai bakteri gram-positif maupun gram-negatif. Tingginya kebutuhan klinis terhadap antibiotik β -laktam, ditambah dengan meningkatnya kekhawatiran global terhadap resistensi antimikroba (antimicrobial resistance/AMR), mendorong kebutuhan akan proses produksi bahan baku obat yang lebih efisien, konsisten, dan berkelanjutan.

Secara historis, nukleus antibiotik β -laktam seperti asam 6-aminopenisilamat (6-APA) dan asam 7-aminodeasetoksisefalosporinat (7-ADCA) diproduksi melalui hidrolisis kimiawi penisilin G maupun sefalosporin menggunakan pereaksi berbahaya seperti pentaklorida fosfor dan pelarut organik terklorinasi pada suhu sangat rendah. Proses kimiawi ini memerlukan tahapan proteksi dan deproteksi gugus fungsi yang kompleks, menghasilkan limbah kimia dalam jumlah besar, serta menuntut kondisi operasi ekstrem yang berisiko tinggi bagi lingkungan maupun pekerja industri. Sebagai alternatif yang lebih hijau, hidrolisis dan sintesis enzimatis menggunakan biokatalis penisilin G acylase (PGA, EC 3.5.1.11) telah menggantikan sebagian besar proses kimiawi tersebut sejak pertengahan dekade 1990-an, dan saat ini PGA tercatat sebagai salah satu enzim yang paling banyak dimanfaatkan secara komersial di industri farmasi dunia (Pan et al., 2022).

PGA pertama kali dilaporkan sebagai “penicillin-amidase” oleh Sakaguchi dan Murao pada tahun 1950, dan sejak saat itu terus dikembangkan sebagai biokatalis industri untuk hidrolisis penisilin G menjadi 6-APA maupun deasilasi sefalosporin G menjadi 7-ADCA, keduanya merupakan blok pembangun (building block) utama bagi seluruh keluarga antibiotik β -laktam semisintetik, termasuk ampisilin, amoksisilin, sefaleksin, dan sefadroksil. Selain aktivitas hidrolitiknya, PGA juga dapat dimanfaatkan secara terbalik (reverse reaction) untuk mengkatalisis reaksi sintesis kondensasi antara nukleus β -laktam dengan donor asil aktif melalui mekanisme kontrol kinetik, sehingga satu jenis enzim yang

sama dapat digunakan baik untuk memproduksi prekursor maupun untuk merakit antibiotik semisintetik akhir (Sambyal & Singh, 2021).

Meskipun potensinya besar, aplikasi PGA sebagai biokatalis sintesis pada skala industri masih menghadapi berbagai kendala, di antaranya rendahnya rasio sintesis terhadap hidrolisis (synthesis to hydrolysis ratio, S/H) pada enzim alami, keterbatasan konsentrasi substrat yang dapat digunakan, penurunan aktivitas katalitik akibat penyumbatan (clogging) pada enzim terimobilisasi, serta terbatasnya ketersediaan biokatalis unggul secara komersial (Pan et al., 2022; Yan et al., 2023). Berbagai strategi pengembangan telah diusulkan untuk mengatasi tantangan tersebut, mulai dari rekayasa protein dan evolusi terarah, pengembangan metode imobilisasi enzim yang lebih stabil, rekayasa media reaksi, hingga integrasi proses sintesis dengan pemisahan produk secara in situ melalui kristalisasi reaktif.

Artikel review ini disusun untuk memberikan gambaran komprehensif mengenai karakteristik struktural dan mekanisme katalitik PGA, berbagai strategi peningkatan kinerjanya sebagai biokatalis, serta aplikasinya dalam sintesis enzimatis berbagai antibiotik β -laktam, dengan fokus pada perkembangan penelitian dalam sepuluh tahun terakhir. Pembahasan ini diharapkan dapat menjadi rujukan bagi pengembangan lebih lanjut riset bioteknologi farmasi berbasis enzim, khususnya dalam konteks penguatan kemandirian produksi bahan baku obat antibiotik di Indonesia.

METODE PENELITIAN

Artikel ini disusun melalui metode studi kepustakaan (literature review) dengan menelusuri artikel penelitian asli (original research article) dan artikel ulasan (review article) yang dipublikasikan pada jurnal ilmiah bereputasi melalui basis data elektronik, meliputi Google Scholar, PubMed/NCBI, ScienceDirect, Frontiers, ACS Publications, Wiley Online Library, serta repositori institusi. Penelusuran dilakukan menggunakan kata kunci antara lain: “penicillin G acylase”, “beta-lactam antibiotic biosynthesis”, “enzyme immobilization penicillin acylase”, “kinetically controlled synthesis amoxicillin”, “reactive crystallization beta-lactam”, dan “alpha-amino ester hydrolase”, baik dalam bahasa Inggris maupun padanannya dalam bahasa Indonesia.

Kriteria inklusi artikel yang digunakan meliputi: (1) artikel dipublikasikan dalam rentang tahun 2016–2026 untuk menjaga kemutakhiran data, dengan pengecualian pada beberapa rujukan klasik yang menjadi dasar penemuan atau tata nama enzim; (2) artikel membahas karakteristik, mekanisme, imobilisasi, rekayasa, atau aplikasi Penicillin G Acylase maupun enzim asilase/hidrolase sejenis dalam sintesis antibiotik β -laktam; (3) artikel merupakan hasil penelitian primer atau ulasan yang diterbitkan pada jurnal terindeks dan dapat diakses teks lengkapnya. Artikel yang tidak relevan secara substansi maupun tidak dapat diverifikasi keasliannya dikeluarkan dari pembahasan. Data yang diperoleh dari masing-masing artikel selanjutnya diorganisasikan dan disintesis secara naratif ke dalam beberapa subtema besar, yaitu karakteristik struktural PGA, mekanisme katalitik, strategi peningkatan kinerja biokatalis, serta aplikasinya dalam sintesis berbagai antibiotik β -laktam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Karakteristik dan Struktur Molekul Penicillin G Acylase

1. Sumber Mikroba dan Klasifikasi Enzim

Penicillin G acylase merupakan enzim golongan hidrolase (EC 3.5.1.11) yang dihasilkan oleh berbagai jenis mikroorganisme, terutama bakteri gram-negatif. *Escherichia coli* merupakan sumber PGA yang paling banyak dimanfaatkan secara industri karena kemudahan produksinya secara rekombinan, namun berbagai mikroorganisme lain seperti *Achromobacter* sp., *Alcaligenes faecalis*, *Kluyvera citrophila*, *Bacillus megaterium*, dan *Bacillus thuringiensis* juga telah dilaporkan sebagai penghasil PGA dengan karakteristik kinetik yang berbeda-beda (Sambyal & Singh, 2021; Dewi et al., 2025). Sebagai contoh, PGA dari *Achromobacter* sp. (NPGA) dilaporkan memiliki efisiensi sintesis ampicilin dan amoksisilin yang lebih tinggi dibandingkan PGA dari *E. coli* pada rentang konsentrasi substrat yang luas, dengan derajat konversi 6-APA menjadi amoksisilin dan ampicilin masing-masing mencapai 96,9% dan 91,1% pada kondisi reaksi skala besar, serta menunjukkan termostabilitas tinggi dengan aktivitas maksimum pada suhu 60–65°C.

2. Struktur Molekul dan Mekanisme Aktivasi Otokatalitik

PGA merupakan protein heterodimer yang tersusun atas subunit α dan subunit β yang dihasilkan dari satu polipeptida prekursor tunggal melalui proses pematangan (maturation) pascatranslasi. Prekursor PGA terdiri atas peptida sinyal, subunit α , peptida penyambung (spacer), dan subunit β yang mengalami pemotongan otokatalitik (autoproteolysis) intramolekuler sehingga menghasilkan residu serin bebas pada ujung N-terminal subunit β (β -Ser1) yang berperan sebagai nukleofil katalitik utama. Penemuan ini menjadikan PGA sebagai anggota pertama yang teridentifikasi dari superfamili N-terminal nucleophile hydrolase (Ntn-hydrolase), yang selanjutnya mencakup pula cephalosporin acylase dan berbagai amidase bakteri lain dalam famili S45 peptidase (Benítez-Rojas et al., 2024). Berbeda dengan serin protease konvensional yang memiliki triad katalitik Ser-His-Asp, situs aktif PGA hanya memerlukan satu residu asam amino katalitik tunggal, yaitu serin pada ujung N-terminal subunit β , tanpa pasangan histidin di dekatnya.

Analisis bioinformatika struktural terhadap puluhan struktur kristal PGA dan enzim sejenis dalam famili Ntn-hydrolase S45 mengidentifikasi sejumlah wilayah terkonservasi secara struktural (structurally conserved regions/SCR) yang berperan penting dalam interaksi dengan substrat, sehingga memberikan landasan penting bagi rekayasa protein untuk memodifikasi spesifisitas maupun selektivitas katalitik enzim (Benítez-Rojas et al., 2024). Lipatan tiga dimensi PGA mengikuti pola $\alpha\beta\beta\alpha$ sandwich yang khas bagi seluruh anggota famili Ntn-hydrolase, dengan kantong pengikatan substrat (binding pocket) yang menentukan afinitas enzim terhadap gugus asil fenilasetil pada penisilin G maupun terhadap berbagai donor asil sintetik lainnya.

3. Produksi PGA secara Rekombinan

Ketersediaan PGA komersial dalam jumlah besar sangat bergantung pada efisiensi produksinya secara rekombinan, dan *E. coli* tetap menjadi inang ekspresi pilihan utama karena kemudahan manipulasi genetik, kecepatan pertumbuhan, dan biaya produksi yang relatif rendah (Sambyal & Singh, 2021). Namun demikian, produksi PGA rekombinan dalam bentuk aktif dan larut masih menghadapi sejumlah kendala teknis, di antaranya akumulasi protein dalam bentuk inclusion bodies yang tidak larut, keterbatasan kapasitas mesin pelipatan protein (chaperone) inang dalam menangani ekspresi berlebih, serta kompleksitas proses pematangan otokatalitik yang harus berlangsung sempurna agar enzim aktif. Berbagai strategi rekayasa telah dikembangkan untuk mengatasi hambatan tersebut, meliputi modifikasi peptida sinyal untuk mengarahkan sekresi protein ke ruang periplasma, optimasi promoter dan vektor ekspresi, ko-ekspresi protein chaperone, hingga optimasi kondisi fermentasi seperti suhu induksi dan komposisi media.

B. Mekanisme Katalitik: Kontrol Kinetik pada Reaksi Hidrolisis dan Sintesis

1. Reaksi Utama dan Reaksi Samping

Dalam reaksi sintesis antibiotik β -laktam, PGA mengkatalisis pembentukan ikatan amida antara nukleus β -laktam (misalnya 6-APA) sebagai nukleofil dengan donor asil teraktivasi, umumnya berupa metil ester atau amida dari asam amino aromatik seperti fenilglisin atau p-hidroksifenilglisin. Reaksi ini berlangsung melalui mekanisme kontrol kinetik (kinetically controlled synthesis), di mana donor asil membentuk kompleks asil-enzim antara (acyl-enzyme intermediate) yang selanjutnya bereaksi dengan nukleus β -laktam untuk menghasilkan produk antibiotik, alih-alih bereaksi dengan air seperti pada reaksi hidrolisis biasa. Pendekatan kontrol kinetik memberikan hasil dan produktivitas yang jauh lebih tinggi dibandingkan pendekatan kontrol termodinamik karena reaksi tidak dibatasi oleh konversi kesetimbangan (Pan et al., 2022).

Terlepas dari keunggulan tersebut, reaksi sintesis yang diinginkan selalu bersaing dengan dua jalur reaksi samping yang juga dikatalisis oleh PGA, yaitu hidrolisis primer terhadap donor asil teraktivasi dan hidrolisis sekunder terhadap produk antibiotik yang telah terbentuk. Kedua reaksi samping ini menurunkan hasil akhir sintesis secara signifikan, sehingga rasio kecepatan sintesis terhadap hidrolisis (S/H ratio) menjadi parameter kunci yang menentukan kelayakan suatu preparat PGA untuk digunakan sebagai biokatalis sintesis skala industri (Pan et al., 2022; Yan et al., 2023). Sebagai gambaran, mutan PGA hasil rekayasa evolusi terarah dari *Achromobacter* sp. dengan mutasi ganda β F24G/ β W154G dilaporkan mampu meningkatkan aktivitas spesifik hingga sekitar 130 kali lipat dan rasio S/H hingga sekitar 53 kali lipat dibandingkan tipe liarnya, dengan cara memperluas kantong pengikatan substrat pada situs aktif enzim (Yan et al., 2023).

2. Faktor-Faktor yang Memengaruhi Reaksi Sintesis

Kinerja PGA dalam mengkatalisis sintesis antibiotik β -laktam sangat dipengaruhi oleh sejumlah parameter operasional. pH medium memengaruhi keadaan ionisasi gugus katalitik enzim sekaligus distribusi spesies ionik substrat dan produk, sehingga rasio S/H umumnya mencapai nilai optimum pada kisaran pH mendekati netral, dan cenderung

meningkat seiring penurunan pH pada konsentrasi substrat tertentu. Suhu memengaruhi laju reaksi sekaligus stabilitas konformasi enzim, sehingga kondisi operasi biasanya merupakan kompromi antara kecepatan reaksi dan umur pakai biokatalis. Konsentrasi dan rasio molar antara donor asil dan nukleofil β -laktam turut menentukan hasil sintesis, karena konsentrasi donor asil yang berlebih dapat meningkatkan pembentukan kompleks asil-enzim sekaligus berperan sebagai inhibitor kompetitif terhadap hidrolisis produk, namun pada konsentrasi yang terlalu tinggi dapat pula menimbulkan inhibisi substrat.

Penambahan kosolven organik seperti etilen glikol, gliserol, atau propilen glikol ke dalam medium reaksi berair juga telah terbukti mampu meningkatkan selektivitas sintesis dengan cara menurunkan aktivitas air (water activity) sehingga menekan laju hidrolisis relatif terhadap sintesis. Pendekatan solvent engineering ini telah diterapkan pada sintesis ampicilin dengan penicillin acylase terimobilisasi, dan pada sintesis sefaleksin menggunakan enzim alternatif α -amino ester hydrolase, di mana penambahan etilen glikol pada konsentrasi tertentu mampu meningkatkan hasil sintesis secara signifikan.

C. Strategi Peningkatan Kinerja PGA sebagai Biokatalis Industri

1. Rekayasa Protein dan Evolusi Terarah

Pendekatan rekayasa protein, baik melalui mutagenesis terarah (site-directed mutagenesis) maupun evolusi terarah kombinatorial (combinatorial directed evolution), telah banyak digunakan untuk memperbaiki kelemahan intrinsik PGA alami, yaitu aktivitas sintesis yang rendah dan rasio S/H yang kecil. Modifikasi residu asam amino pada subsitus pengikat asil, misalnya penggantian residu fenilalanin pada posisi β 24 menjadi alanin atau glisin, terbukti mampu memperluas kantong pengikatan substrat sehingga meningkatkan afinitas enzim terhadap donor asil sintetik yang lebih besar dibandingkan fenilasetat alami, sekaligus meningkatkan rasio S/H dan diastereoselektivitas pada sintesis ampicilin maupun sefadroksil (Yan et al., 2023). Selain memodifikasi selektivitas sintesis, strategi rekayasa protein juga diarahkan untuk memperbaiki termostabilitas dan stabilitas enzim terhadap pelarut organik, sehingga PGA dapat dioperasikan pada kondisi reaksi yang lebih ekstrem tanpa kehilangan aktivitas katalitiknya secara signifikan (Pan et al., 2022).

2. Imobilisasi Enzim

Imobilisasi enzim merupakan strategi yang paling banyak diterapkan pada skala industri karena memungkinkan biokatalis dipisahkan dan digunakan berulang kali dari campuran reaksi, sekaligus meningkatkan stabilitas operasional enzim terhadap fluktuasi pH, suhu, maupun paparan pelarut organik (Li et al., 2020; Rodrigues et al., 2021). Berbagai jenis penyangga (support) telah dikembangkan untuk imobilisasi PGA, mulai dari matriks alami seperti agarosa, alginat, dan selulosa, hingga penyangga sintetik berbasis polimer akrilik maupun silika dengan gugus fungsi reaktif seperti epoksi (oksiran), glutaraldehid, glioksil, dan vinil sulfon. Penyangga berbasis gugus oksiran mampu membentuk ikatan kovalen multipoint yang sangat stabil dengan residu lisina pada permukaan protein enzim melalui reaksi pada kondisi ringan (pH 8–9, suhu ruang), sehingga meminimalkan risiko denaturasi sekaligus mempertahankan konformasi aktif situs katalitik enzim (Li et al., 2020).

Perkembangan terbaru dalam bidang imobilisasi PGA turut mengeksplorasi penyangga berbasis nanomaterial magnetik, seperti nanolemparan heterostruktur oksida besi, yang memungkinkan pemisahan biokatalis dari campuran reaksi secara cepat menggunakan medan magnet eksternal tanpa memerlukan tahap sentrifugasi atau filtrasi konvensional. Di tingkat lokal, imobilisasi PGA dari *Bacillus thuringiensis* BD1 menggunakan teknik penjebakan (entrapment) dalam matriks natrium alginat juga telah dilaporkan mampu meningkatkan stabilitas operasional enzim serta memudahkan pemisahannya untuk keperluan produksi amoksisilin dibandingkan penggunaan enzim bebas (Dewi et al., 2025), menunjukkan bahwa pengembangan biokatalis lokal berbasis bahan penyangga sederhana dan terjangkau tetap merupakan arah penelitian yang relevan untuk konteks industri farmasi di negara berkembang, termasuk Indonesia.

3. Integrasi Pemisahan Produk In Situ melalui Kristalisasi Reaktif

Secara termodinamika, sintesis enzimatik antibiotik β -laktam merupakan reaksi dengan konstanta kesetimbangan yang relatif kecil apabila dilakukan dalam medium berair pada kondisi ekuilibrium biasa. Salah satu strategi paling efektif untuk mengatasi keterbatasan ini adalah dengan mengintegrasikan reaksi sintesis dengan pemisahan produk secara in situ (in situ product removal) melalui kristalisasi reaktif, sehingga produk antibiotik yang terbentuk segera keluar dari fase larutan begitu melewati batas kelarutannya dan mendorong pergeseran kesetimbangan reaksi ke arah pembentukan produk lebih lanjut sesuai prinsip Le Chatelier.

McDonald dan rekan-rekannya mengembangkan model matematis komprehensif untuk kristalisasi reaktif kontinu antibiotik β -laktam yang dikatalisis PGA, mencakup persamaan kinetika enzimatik yang digabungkan dengan neraca populasi partikel kristal, dan menunjukkan bahwa konversi 6-APA menjadi amoksisilin dapat mencapai hingga 98% pada kondisi optimal dengan kelebihan donor asil, dibandingkan hanya sekitar 72% pada reaktor sintesis biasa tanpa integrasi kristalisasi (McDonald et al., 2019a). Studi lanjutan pada kasus sintesis ampicilin menegaskan bahwa penggabungan reaksi dan kristalisasi mampu meningkatkan konversi sekaligus produktivitas proses, sambil menjaga kemurnian fase padat produk antibiotik dari kontaminasi silang (McDonald et al., 2019b). Pendekatan reaction–diffusion–crystallization lebih lanjut dikembangkan untuk merepresentasikan interaksi antara laju reaksi enzimatik, difusi substrat pada enzim terimobilisasi, serta nukleasi dan pertumbuhan kristal produk secara simultan (Salami et al., 2020), sementara ulasan komprehensif mengenai rekayasa nukleasi dan kristalisasi untuk intensifikasi reaksi enzimatik menegaskan bahwa integrasi reaksi-kristalisasi merupakan salah satu arah utama intensifikasi proses (process intensification) pada produksi farmasi berbasis biokatalis (Su et al., 2022).

D. Aplikasi PGA dalam Sintesis Berbagai Antibiotik Beta-Laktam

1. Produksi Nukleus Antibiotik: 6-APA dan 7-ADCA

Aplikasi paling mendasar dari PGA adalah hidrolisis penisilin G menjadi 6-APA, yang merupakan nukleus inti bagi seluruh keluarga antibiotik golongan penisilin

semisintetik. Selain itu, PGA juga dapat mengkatalisis deasilasi sefalosporin G menjadi 7-ADCA, yang menjadi nukleus dasar bagi sefalosporin semisintetik generasi pertama seperti sefaleksin dan sefadroksil (Pan et al., 2022). Produksi kedua nukleus ini secara enzimatik telah menggantikan hampir seluruh proses hidrolisis kimiawi konvensional pada skala industri sejak pertengahan dekade 1990-an, dengan PGA terimobilisasi digunakan secara berulang dalam reaktor kolom isian maupun reaktor tangki berpengaduk (Sambyal & Singh, 2021).

2. Sintesis Ampisilin dan Amoksisilin

Ampisilin disintesis melalui kondensasi 6-APA dengan ester metil D-fenilglisin, sementara amoksisilin disintesis melalui kondensasi 6-APA dengan ester metil D-p-hidroksifenilglisin (HPGME); keduanya dikatalisis oleh PGA melalui mekanisme kontrol kinetik yang serupa. Berbagai model kinetik telah dikembangkan untuk menggambarkan dinamika reaksi sintesis amoksisilin, mulai dari model berbasis kinetika Michaelis–Menten sederhana hingga model mekanistik berbasis konstanta reaksi dan kesetimbangan yang mempertimbangkan pembentukan kompleks asil-enzim antara secara eksplisit. Studi terbaru yang membandingkan kedua pendekatan model tersebut menggunakan metode statistik Bayesian Markov chain Monte Carlo (MCMC) beserta analisis sensitivitas global Sobol menunjukkan bahwa model berbasis konstanta kesetimbangan memberikan kapasitas prediksi yang lebih unggul dibandingkan model Michaelis–Menten sederhana, dengan galat kuadrat rata-rata relatif (rRMSE) di bawah 20% pada rentang konsentrasi substrat yang luas (Martins Neto et al., 2025). Pemodelan matematis semacam ini memberikan landasan penting bagi optimasi proses sintesis amoksisilin di berbagai konfigurasi reaktor, termasuk reaktor batch, semi-batch, dan reaktor kolom isian, sebelum diterapkan pada skala produksi yang lebih besar.

3. Sintesis Sefalosporin Semisintetik dan Enzim Alternatif AEH

Meskipun PGA merupakan biokatalis yang dominan digunakan untuk sintesis antibiotik β -laktam karena termostabilitas, efisiensi, dan selektivitasnya, kelas enzim lain yang disebut α -amino ester hydrolase (AEH, EC 3.1.1.43) turut dikembangkan sebagai alternatif, terutama untuk sintesis sefaleksin, sefadroksil, serta antibiotik lain yang mengandung gugus α -amino pada rantai sampingnya. AEH dilaporkan mampu mensintesis sefaleksin dengan laju yang jauh lebih cepat dibandingkan PGA dan pada pH optimum yang lebih rendah sehingga menguntungkan dari sisi stabilitas antibiotik β -laktam, meskipun AEH memiliki kelemahan berupa termostabilitas rendah dan inhibisi substrat yang kuat (Lagerman et al., 2021).

Pengembangan model kinetik komprehensif untuk reaksi yang dikatalisis AEH turut mengungkap bahwa enzim ini memiliki spesifisitas substrat tertinggi terhadap sefalosporin, khususnya sefaleksin, dengan pH optimum aktivitas berkisar 6,5–6,75 untuk sintesis amoksisilin, sefaleksin, dan sefadroksil, sementara selektivitas sintesisnya meningkat konsisten seiring penurunan pH (Lagerman et al., 2021). Studi lanjutan mengenai desain dan optimasi reaktor untuk sintesis sefaleksin berbasis AEH menunjukkan bahwa pemilihan konfigurasi reaktor yang tepat, seperti reaktor tangki berpengaduk kontinu (continuous

stirred-tank reactor) tunggal dengan substrat inhibisi yang terkendali, mampu memaksimalkan konversi substrat, hasil fraksional, sekaligus produktivitas volumetrik proses (Lagerman et al., 2022). Kajian mengenai kinetika kristalisasi sefaleksin monohidrat pada keberadaan prekursor sefaleksin turut mendukung pengembangan proses kontinu terintegrasi antara sintesis enzimatis dan kristalisasi untuk kelompok antibiotik sefalosporin ini (McDonald et al., 2019c).

E. Tantangan dan Prospek Pengembangan Biokatalis PGA

Terlepas dari kemajuan pesat yang telah dicapai, pengembangan PGA sebagai biokatalis industri masih menghadapi sejumlah tantangan nyata. Ketersediaan biokatalis komersial unggul masih terbatas dan sebagian besar produk komersial berbasis PGA dari *E. coli*, sehingga eksplorasi sumber PGA alternatif dari mikroorganisme lain menjadi penting untuk diversifikasi biokatalis dan menghindari ketergantungan pada satu galur produksi tunggal (Sambyal & Singh, 2021). Fenomena penyumbatan (clogging) pada permukaan enzim terimobilisasi akibat kristalisasi substrat maupun produk selama reaksi berlangsung turut menjadi kendala operasional yang harus dikendalikan secara cermat melalui optimasi kondisi reaksi, pemilihan penyangga imobilisasi yang tepat, serta strategi pembersihan biokatalis yang efektif.

Dari perspektif nasional, industri farmasi Indonesia masih sangat bergantung pada impor bahan baku obat antibiotik β -laktam, sehingga pengembangan riset dan teknologi produksi antibiotik berbasis biokatalis PGA menjadi relevan sebagai landasan penguatan kemandirian farmasi dalam negeri. Skrining dan karakterisasi bakteri penghasil PGA dari sumber daya hayati lokal, sebagaimana telah dirintis pada kajian PGA dari *Alcaligenes faecalis* maupun imobilisasi PGA dari *Bacillus thuringiensis* BD1 (Dewi et al., 2025), membuka peluang pengembangan biokatalis lokal yang tidak sepenuhnya bergantung pada galur produksi maupun preparat enzim komersial dari luar negeri.

Ke depan, arah pengembangan biokatalis PGA diproyeksikan akan semakin mengarah pada integrasi antara rekayasa protein berbasis komputasi (*in silico* protein engineering), pemodelan kinetik dan statistik lanjutan seperti pendekatan Bayesian untuk estimasi parameter proses, serta transisi bertahap dari sistem reaktor batch konvensional menuju sistem reaktor kontinu yang mengintegrasikan reaksi enzimatis dengan kristalisasi reaktif secara simultan. Kombinasi strategi-strategi tersebut berpotensi menghasilkan proses produksi antibiotik β -laktam yang lebih efisien, hemat sumber daya, konsisten kualitasnya, serta selaras dengan prinsip kimia hijau dalam industri farmasi modern.

SIMPULAN DAN SARAN

Penicillin G acylase (PGA) merupakan biokatalis kunci dalam produksi nukleus maupun sintesis akhir berbagai antibiotik β -laktam semisintetik, berkat kemampuannya mengkatalisis reaksi hidrolisis maupun sintesis kondensasi terkontrol kinetik dengan

selektivitas tinggi pada kondisi reaksi yang relatif ringan. Sebagai anggota superfamili N-terminal nucleophile hydrolase, PGA mengandalkan residu serin tunggal pada ujung subunit β yang terbentuk melalui proses pematangan otokatalitik untuk menjalankan fungsi katalitiknya. Kajian literatur sepuluh tahun terakhir menunjukkan bahwa kinerja PGA sebagai biokatalis sintesis terus ditingkatkan melalui empat pendekatan utama, yaitu rekayasa protein dan evolusi terarah untuk memperbaiki rasio sintesis terhadap hidrolisis, pengembangan metode imobilisasi enzim yang lebih stabil dan mudah didaur ulang, rekayasa media reaksi menggunakan kosolven organik, serta integrasi sintesis enzimatis dengan pemisahan produk in situ melalui kristalisasi reaktif. Di samping PGA, α -amino ester hydrolase mulai berkembang sebagai biokatalis pelengkap, khususnya untuk sintesis sefalosporin semisintetik seperti sefaleksin. Pengembangan biokatalis PGA yang lebih efisien, stabil, dan bersumber dari galur mikroorganisme lokal berpotensi besar mendukung produksi antibiotik β -laktam yang lebih berkelanjutan, ramah lingkungan, serta memperkuat kemandirian bahan baku obat, termasuk di Indonesia.

DAFTAR PUSTAKA

- Benítez-Rojas, A. C., et al. (2024). Exploring the Structurally Conserved Regions and Functional Significance in Bacterial N-Terminal Nucleophile (Ntn) Amide-Hydrolases. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(13), 6850.
- Choi, J.-M., Han, S.-S., & Kim, H.-S. (2015). Industrial applications of enzyme biocatalysis: Current status and future aspects. *Biotechnology Advances*, 33(7), 1443–1454.
- Dewi, R. A. P., Widyasti, E., Waltam, D. R., Wahjono, E., Dianursanti, Hasanah, N. F., Setyahadi, S., Aji, N. A., Nandyawati, D., Santoso, E., Achnafani, D., Mufti, A., Pradiv, M. I., & Abidin, K. Y. (2025). Immobilization of Penicillin-G Acylase from *Bacillus thuringiensis* BD1 with Na-Alginate Entrapment Technique for Amoxicillin Production. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 12(3), 272–279.
- Lagerman, C. E., Grover, M. A., Rousseau, R. W., & Bommarius, A. S. (2021). Kinetic model development for α -amino ester hydrolase (AEH)-catalyzed synthesis of β -lactam antibiotics. *Chemical Engineering Journal*, 426, 131816.
- Lagerman, C. E., Grover, M. A., Rousseau, R. W., & Bommarius, A. S. (2022). Reactor Design and Optimization of α -Amino Ester Hydrolase-Catalyzed Synthesis of Cephalexin. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10, 826357.
- Li, K., Mohammed, M. A. A., Zhou, Y., Tu, H., Zhang, J., Liu, C., Chen, Z., Burns, R., Hu, D., Ruso, J. M., Tang, Z., & Liu, Z. (2020). Recent progress in the development of immobilized penicillin G acylase for chemical and industrial applications: A mini-review. *Polymers for Advanced Technologies*, 31(3), 368–388.
- Martins Neto, A. P., Tavares, A. L. S., Formigosa, L. F., Gomes, B. D., Gonçalves, L. R. B., & Viegas, B. M. (2025). Enzymatic Synthesis of Amoxicillin in a Batch Reactor:

- Mathematical Modeling, Sensitivity Analysis, and Experimental Validation. ACS Omega, 10(29), 31896–31907.
- McDonald, M. A., Bommarius, A. S., Grover, M. A., & Rousseau, R. W. (2019b). Continuous reactive crystallization of β -lactam antibiotics catalyzed by penicillin G acylase. Part II: Case study on ampicillin and product purity. Computers & Chemical Engineering, 126, 332–341.
- McDonald, M. A., Bommarius, A. S., Rousseau, R. W., & Grover, M. A. (2019a). Continuous reactive crystallization of β -lactam antibiotics catalyzed by penicillin G acylase. Part I: Model development. Computers & Chemical Engineering, 123, 331–343.
- McDonald, M. A., Marshall, G. D., Bommarius, A. S., Grover, M. A., & Rousseau, R. W. (2019c). Crystallization Kinetics of Cephalexin Monohydrate in the Presence of Cephalexin Precursors. Crystal Growth & Design, 19(9), 5065–5074.
- Pan, X., Xu, L., Li, Y., Wu, S., Wu, Y., & Wei, W. (2022). Strategies to Improve the Biosynthesis of β -Lactam Antibiotics by Penicillin G Acylase: Progress and Prospects. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 10, 936487.
- Rodrigues, R. C., Berenguer-Murcia, Á., Carballares, D., Morellon-Sterling, R., & Fernandez-Lafuente, R. (2021). Stabilization of enzymes via immobilization: Multipoint covalent attachment and other stabilization strategies. Biotechnology Advances, 52, 107821.
- Sakaguchi, K., & Murao, S. (1950). Preliminary Report on a New Enzyme, “Penicillinamidase”. Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan, 23, 411.
- Salami, H., Lagerman, C. E., Harris, P. R., McDonald, M. A., Bommarius, A. S., Rousseau, R. W., & Grover, M. A. (2020). Model development for enzymatic reactive crystallization of β -lactam antibiotics: a reaction–diffusion–crystallization approach. Reaction Chemistry & Engineering, 5(11), 2064–2080.
- Sambyal, K., & Singh, R. V. (2021). Exploitation of E. coli for the production of penicillin G amidase: a tool for the synthesis of semisynthetic β -lactam antibiotics. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, 19(1), 156.
- Sklyarenko, A. V., El'darov, M. A., Kurochkina, V. B., & Yarotsky, S. V. (2015). Enzymatic synthesis of β -lactam acids (review). Applied Biochemistry and Microbiology, 51(6), 627–640.
- Su, W., Jiang, Y., Zuo, X., Li, C., & Wang, H. (2022). Engineering nucleation/crystallization to intensify the enzymatic reactions and fermentation: A review. Chemical Engineering Journal, 431, 134186.
- Yan, Z., Huang, B., Yang, K., Anaman, R., Amanze, C., Jin, J., Zhou, H., & Zeng, W. (2023). Enlarging the substrate binding pocket of penicillin G acylase from Achromobacter sp.

for highly efficient biosynthesis of β -lactam antibiotics. *Bioorganic Chemistry*, 136, 106533.