

TINJAUAN BOKIMIA ENZIM INVERTASE PADA HIDROLISIS SUKROSA: Mekanisme Katalitik, Kinetika, Faktor Fisikokimia, dan Implikasi Aplikatif

Linatusifa Febrianti^{1*}, Piola Cahya Ariyanto², Maulinda Dwi Lestari³, Elya Risma
Nurdiana⁴

Universitas Negeri Semarang

*Corresponding author

Email : linatusifa14@students.unnes.ac.id

Abstrak

Invertase (beta-fructofuranosidase; EC 3.2.1.26) merupakan enzim yang mengkatalisis hidrolisis sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa dan memiliki peranan penting pada metabolisme karbohidrat, fermentasi, industri pangan, serta bioteknologi. Artikel review ini menyintesis kajian mengenai klasifikasi invertase, reaksi hidrolisis sukrosa, mekanisme katalitik, model kinetika Michaelis-Menten, penentuan parameter kinetika seperti K_m , V_{max} , k_{cat} , dan energi aktivasi, serta pengaruh faktor fisikokimia berupa pH, suhu, ion logam, inhibitor, dan bentuk enzim terhadap aktivitas dan stabilitasnya. Secara umum, invertase termasuk keluarga glycoside hydrolase 32 dan bekerja melalui mekanisme retaining double-displacement yang melibatkan residu aspartat dan glutamat pada sisi aktif. Perubahan konsentrasi substrat menyebabkan laju reaksi meningkat hingga mendekati V_{max} , namun sistem nyata dapat menyimpang karena inhibisi substrat, inhibisi produk, hambatan difusi, maupun pengaruh matriks reaksi. Kenaikan suhu meningkatkan konstanta laju reaksi sampai suhu optimum, tetapi suhu berlebih mengakibatkan denaturasi dan deviasi terhadap model Arrhenius. Mayoritas invertase menunjukkan pH optimum pada kisaran asam lemah, meskipun terdapat invertase alkali dan invertase aktif suhu rendah dengan karakter yang berbeda. Berbagai metode analitik, seperti DNS, Nelson-Somogyi, Bradford, kromatografi, SDS-PAGE, serta pendekatan spektroskopi dan kristalografi, telah digunakan untuk menilai aktivitas, kemurnian, dan sifat molekuler invertase. Secara keseluruhan, review ini menunjukkan bahwa kinerja invertase merupakan hasil interaksi antara struktur protein, kondisi reaksi, dan lingkungan kimia, sehingga pemahaman terintegrasi atas aspek tersebut menjadi landasan penting dalam optimasi aplikasi laboratorium maupun industri. (Manoochchri et al., 2020; Lammens et al., 2009; Potrich & Amaral, 2018).

Kata kunci: *invertase, sukrosa, hidrolisis, kinetika enzim, faktor fisikokimia*

Abstract

Invertase (beta-fructofuranosidase; EC 3.2.1.26) is an enzyme that catalyzes the hydrolysis of sucrose into glucose and fructose and plays a crucial role in carbohydrate metabolism, fermentation, the food industry, and biotechnology. This review article synthesizes studies on invertase classification, the sucrose hydrolysis reaction, the catalytic mechanism, the Michaelis-Menten kinetic model, the determination of kinetic parameters such as K_m , V_{max} , k_{cat} , and activation energy, as well as the influence of physicochemical factors such as pH, temperature, metal ions, inhibitors, and enzyme shape on its activity and stability. In general, invertase belongs to the glycoside hydrolase family 32 and operates through a retaining double-displacement mechanism involving aspartate and glutamate residues in the active site. Changing substrate concentration increases the reaction rate to near V_{max} , but real-world systems can deviate due to substrate inhibition, product inhibition, diffusion barriers, and the influence of the reaction matrix. Increasing temperature increases the reaction rate constant up to the optimum temperature, but excessive temperatures cause denaturation and deviation from the Arrhenius model. Most invertases exhibit an optimum pH in the weak acid range, although alkaline invertases and low-temperature active invertases with different characteristics exist. Various analytical methods, such as DNS, Nelson-Somogyi, Bradford, chromatography, SDS-PAGE, as well as spectroscopic and crystallographic approaches, have been used to assess the activity, purity, and molecular properties of invertases. Overall, this review demonstrates that invertase performance is a result of the interaction between protein structure, reaction conditions, and the chemical environment. Therefore, an integrated understanding of these aspects is essential for optimizing laboratory and industrial applications (Manoochchri et al., 2020; Lammens et al., 2009; Potrich & Amaral, 2018).

Keywords: *invertase, sucrose, hydrolysis, enzyme kinetics, physicochemical factors*

Pendahuluan

Enzim invertase (beta-fructofuranosidase) tergolong sebagai hidrolase penting yang bertugas memecah ikatan glikosidik sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa campuran yang biasa kita kenal sebagai gula invert. Enzim ini sangat mudah ditemukan di alam, mulai dari kelompok tumbuhan, jamur, khamir, hingga bakteri. Secara alami, invertase punya fungsi vital dalam metabolisme karbon, pembongkaran cadangan karbohidrat, pasokan energi, hingga membantu organisme beradaptasi saat kondisi lingkungannya berubah. Khusus pada tumbuhan, aktivitas enzim ini ikut mengatur proses pembelahan sel, pertumbuhan organ vegetatif, pembentukan buah dan biji, serta respons tanaman ketika mengalami stres lingkungan. Di sisi lain, dari kaca mata industri dan mikrobiologi, invertase sangat bernilai ekonomis karena luas dipakai untuk memproduksi gula invert yang kelarutannya tinggi, mudah difermentasi, dan ampuh mencegah pengkristalan pada produk makanan (Zhou et al., 2016; Manoochehri et al., 2020; Wijaya et al., 2022).

Dalam kajian biokimia, invertase sering dijadikan model molekuler yang pas untuk mengamati bagaimana struktur protein, mekanisme katalisis, kinetika enzim, dan faktor fisikokimia saling mempengaruhi. Walaupun tugas utamanya terkesan sederhana (hanya menghidrolisis satu jenis disakarida), sifat asli enzim ini saat diuji ternyata sangat fluktuatif. Berbagai literatur menunjukkan bahwa kinerja invertase amat bergantung pada dari mana enzim itu berasal, posisinya di dalam sel, kondisi pelarut, hingga metode pemurniannya. Akibatnya, data hasil penelitian seringkali berbeda-beda. Banyak kajian yang melaporkan ketidakseragaman angka terkait pH optimum, suhu optimum, nilai K_m , V_{max} , hingga seberapa kuat enzim ini bertahan terhadap inhibitor maupun ion logam (Rahmawati & Susanto, 2019; Hidayat et al., 2021). Sayangnya, sebagian besar literatur yang ada saat ini masih membahas invertase secara terpisah-pisah. Umumnya, artikel hanya berfokus pada aplikasi industri, cara produksi, atau sekadar fungsi fisiologisnya saja. Belum banyak kajian yang melihat invertase secara utuh sebagai satu kesatuan sistem biokimia. Perbedaan data soal kinetika dan stabilitas termal yang ditemukan oleh banyak peneliti sering kali cuma disajikan sebagai laporan empiris yang terpisah. Jarang ada analisis yang mencoba mencari akar perbedaan tersebut dengan mengaitkannya pada arsitektur sisi aktif enzim, kondisi eksperimen, atau apakah enzim tersebut dipakai

dalam bentuk bebas maupun terimobilisasi (Manoochehri et al., 2020; Polanía Melo et al., 2023; Pratama et al., 2024; Liu et al., 2025).

Berdasarkan dari literatur tersebut, artikel ini ditulis untuk menyusun kajian yang lebih terpadu tentang invertase menghubungkan antara aspek molekuler, kinetika, pengaruh lingkungan, hingga relevansi aplikasinya. Pembahasan akan difokuskan pada klasifikasi enzim, analisis mendalam mengenai mekanisme katalitik hidrolisis sukrosa, dampak faktor fisikokimia, tinjauan teknologi imobilisasi, serta bagaimana hal-hal tersebut mempengaruhi efisiensi penggunaannya di industri pangan, fermentasi, dan bioteknologi. Dengan pendekatan yang komprehensif ini, ulasan diharapkan bisa memberikan gambaran yang lebih sistematis mengenai hubungan antara karakter molekuler invertase, dinamika kinetika-nya, dan kestabilan strukturnya. Pemahaman ini nantinya dapat menjadi pijakan yang kuat untuk mengoptimalkan penggunaan invertase, baik dalam riset lanjutan maupun untuk operasional skala industri (Potrich & Amaral, 2018; Kusuma et al., 2025).

Metode

Artikel ulasan ini disusun menggunakan pendekatan *systematic literature review* (SLR) yang dikombinasikan dengan sintesis naratif terhadap serangkaian literatur terpilih. Penelusuran literatur dilakukan melalui basis data akademik utama, seperti Scopus, PubMed, dan Google Scholar, dengan membatasi rentang tahun publikasi antara 2014 hingga 2024 untuk memastikan kebaruan data. Kata kunci pencarian yang digunakan mencakup kombinasi “*invertase*” OR “*beta-fructofuranosidase*” AND “*sucrose hydrolysis*” AND “*enzyme kinetics*” OR “*physicochemical properties*”. Setiap literatur yang terjaring kemudian dievaluasi secara komparatif untuk mengidentifikasi tema utama, mengonfirmasi konsep inti, dan memetakan perbedaan fokus kajian. Proses ini dilakukan guna merumuskan sebuah ulasan yang koheren, mendalam, dan memiliki alur logika yang terstruktur.

Proses seleksi dan sintesis dilakukan melalui tiga tahapan utama. Pertama, penerapan kriteria inklusi dan eksklusi serta pemetaan topik. Literatur inklusi dibatasi pada artikel riset asli dan ulasan ilmiah yang berfokus pada aspek kimiawi sukrosa, kinetika enzim, serta energi aktivasi hidrolisis oleh invertase. Sebaliknya, artikel opini atau

kajian yang berfokus pada enzim hidrolase lain dieksklusi. Topik-topik yang lolos seleksi kemudian dipetakan ke dalam beberapa subtema krusial, meliputi klasifikasi enzim, mekanisme reaksi dan katalitik, model kinetika, faktor fisikokimia yang memengaruhi stabilitas aktivitas, metode analitik, hingga prospek aplikasinya. Kedua, penyaringan dan integrasi data; informasi yang sejalan digabungkan secara komprehensif, sementara data yang berada di luar cakupan kajian inti dieksklusi. Ketiga, standardisasi sitasi dan daftar pustaka yang disesuaikan dengan pedoman akademik guna memastikan validitas dan kemudahan penelusuran referensi (Cho & Lim, 2018; Tang et al., 2022).

Batasan kajian, rujukan yang secara spesifik membahas hidrolisis selulosa seperti kajian pemanfaatan enzim selulase pada sekam padi tidak dijadikan landasan utama karena menyimpang dari fokus hidrolisis sukrosa oleh invertase. Meski demikian, prinsip-prinsip dasar kinetika dalam studi tersebut, seperti penerapan model Michaelis-Menten dan interpretasi laju reaksi, tetap diadopsi sebagai kerangka metodologis untuk memahami perilaku sistem enzimatik secara lebih luas. Melalui batasan dan pendekatan ini, kajian diharapkan tetap berpusat pada substansi inti dengan tingkat konsistensi ilmiah, kedalaman analisis, dan keterbacaan akademik yang terjaga (Efrinalia et al., 2022).

Hasil dan Pembahasan

1. Klasifikasi, Distribusi, dan Karakter Umum Invertase

Invertase, yang juga dikenal sebagai *beta-fructofuranosidase*, tergolong ke dalam keluarga *glycoside hydrolase* 32. Berdasarkan lokasi subseluler dan profil pH-nya, invertase pada ekosistem tumbuhan umumnya dikelompokkan menjadi tiga jenis utama: invertase dinding sel, invertase vakuolar, dan invertase netral atau alkali.

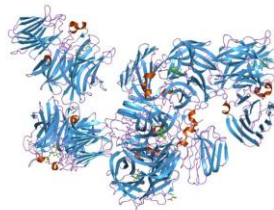
Masing-masing kelompok invertase tumbuhan tersebut memiliki lingkungan operasi yang spesifik. Invertase dinding sel dan vakuolar umumnya aktif pada kisaran pH asam, sedangkan invertase netral/alkali beroperasi pada kondisi yang lebih netral hingga basa. Pembagian ini menjadi penting karena menegaskan bahwa sifat katalitik invertase tidak semata-mata bergantung pada urutan asam amino, tetapi juga sangat dipengaruhi oleh kompartemen seluler tempat enzim tersebut bekerja dan fungsi fisiologis yang diembannya (Lammens et al., 2009; Ruan et al., 2010; Liu et al., 2025).

Di luar kelompok tumbuhan, invertase juga terdistribusi secara luas pada khamir, jamur, dan bakteri. Sumber mikroba ini sering kali mendapat perhatian lebih besar dalam kajian bioteknologi karena invertase asal mikroba umumnya lebih mudah untuk diproduksi, dimurnikan, serta dimodifikasi guna memenuhi tingginya kebutuhan skala industri.

Beberapa jenis invertase dari mikroorganismenya bahkan memiliki karakter yang sangat istimewa. Sebagai contoh, terdapat varian yang aktif pada suhu rendah, toleran terhadap konsentrasi sukrosa yang sangat tinggi, stabil pada kondisi pH alkali, atau memiliki efisiensi katalitik yang luar biasa. Keragaman sifat inilah yang secara signifikan memperluas peluang pemanfaatan invertase pada berbagai proses industri yang mensyaratkan kondisi operasi khusus (Shankar et al., 2014; Ohwofasa et al., 2020; Osiebe et al., 2023).

Secara struktural, enzim invertase dapat mengalami proses glikosilasi, membentuk oligomer, serta memiliki berbagai variasi domain non-katalitik. Variasi struktural ini secara langsung memengaruhi tingkat kestabilan, spesifisitas substrat, dan perilaku agregasi enzim. Pada beberapa kasus invertase khamir, misalnya, domain *beta-propeller* bertindak sebagai inti katalitik utama, sementara domain *beta-sandwich* hadir untuk mendukung proses oligomerisasi dan selektivitas.

Sebagai konsekuensinya, segala bentuk perbedaan pada struktur tersier dan kuarternernya akan tercermin pada variasi parameter kinetiknya, tingkat kestabilan termalnya, hingga sensitivitasnya terhadap agen inhibitor. Pemahaman komprehensif ini sangat esensial agar analisis aktivitas enzim tidak hanya berhenti pada pembacaan angka matematis seperti nilai K_m atau V_{max} semata, melainkan juga benar-benar memperhitungkan dasar molekuler yang melatarbelakangi angka-angka tersebut (Gascón et al., 1968; Sainz-Polo et al., 2013; Li et al., 2017).

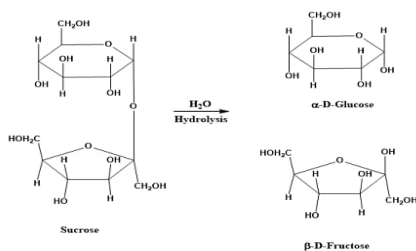


Gambar 1. Struktur domain invertase GH32

Skema mekanisme katalitik *retaining double-displacement* pada invertase keluarga GH32. (A) Tahap glikosilasi melibatkan serangan nukleofilik residu Asp dan protonasi oleh residu Glu selaku katalis asam umum; (B) Tahap deglikosilasi melibatkan aktivasi molekul air oleh residu Glu selaku katalis basa umum untuk melepaskan produk fruktosa dan meregenerasi sisi aktif enzim.

2. Reaksi Hidrolisis Sukrosa dan Mekanisme Katalitik Invertase

Reaksi utama yang dikatalisis invertase adalah hidrolisis sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa. Secara kimia, sukrosa merupakan disakarida yang tersusun dari residu glukosa dan fruktosa yang terhubung melalui ikatan glikosidik alpha-1,2. Pemutusan ikatan ini memerlukan molekul air dan menghasilkan dua monosakarida dalam jumlah ekuimolar. Campuran hasil reaksi dikenal sebagai gula invert karena perubahan sifat optik larutan setelah hidrolisis. Reaksi ini penting tidak hanya secara fisiologis, tetapi juga secara industri karena menghasilkan gula sederhana yang lebih mudah larut, lebih manis, dan lebih mudah difermentasi. (Lammens et al., 2009; Manoochehri et al., 2020).



Gambar 2. Skema mekanisme hidrolisis sukrosa

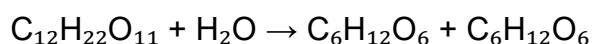
Mekanisme katalitik hidrolisis sukrosa oleh invertase berlangsung melalui dua tahap utama yang mengikuti mekanisme *retaining double-displacement*, sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 1. Tahap pertama, yaitu glikosilasi, diawali oleh serangan nukleofilik residu Aspartat (Asp) pada sisi aktif enzim terhadap atom karbon anomeric gugus fruktosil pada molekul sukrosa (Gambar 1A). Pada saat yang sama, residu Glutamat (Glu) berfungsi sebagai katalis asam umum dengan mendonorkan proton (H⁺) kepada oksigen jembatan glikosidik yang menghubungkan unit glukosa dan fruktosa. Transfer proton ini mempermudah pemutusan ikatan α -1,2-glikosidik sehingga molekul

glukosa dilepaskan sebagai produk pertama. Proses tersebut menghasilkan terbentuknya intermediat kovalen fruktosil-enzim yang relatif stabil.

Tahap kedua, yaitu deglikosilasi, melibatkan molekul air yang berfungsi untuk memutus intermediat kovalen tersebut (Gambar 1B). Pada tahap ini, residu Glu yang telah kehilangan proton bertindak sebagai katalis basa umum dengan menarik proton dari molekul air. Aktivasi air ini meningkatkan sifat nukleofiliknya sehingga mampu menyerang karbon anomerik pada intermediat fruktosil-enzim. Serangan tersebut menyebabkan terputusnya ikatan kovalen antara gugus fruktosil dan residu Asp, sehingga fruktosa dilepaskan sebagai produk akhir. Selain itu, residu Asp dan Glu kembali ke keadaan awalnya sehingga enzim siap menjalani siklus katalitik berikutnya.

Keberhasilan mekanisme ini sangat bergantung pada posisi dan orientasi tiga dimensi residu Asp dan Glu di dalam celah domain beta-propeller. Susunan yang presisi tersebut memungkinkan stabilisasi keadaan transisi berenergi tinggi selama reaksi berlangsung, sehingga proses hidrolisis sukrosa dapat terjadi secara efisien (Anthony Reddy & Maley, 1990; Reddy & Maley, 1996; Lammens et al., 2009).

Mekanisme tersebut menyoroti bahwa keberhasilan hidrolisis tidak hanya ditentukan oleh keberadaan residu aktif, tetapi juga oleh keseluruhan arsitektur sisi aktif, aksesibilitas substrat, dan fleksibilitas domain protein. Oleh sebab itu, perubahan kecil pada pH, suhu, kekuatan ionik, atau interaksi dengan logam dan senyawa lain dapat mengubah orientasi substrat dan mempengaruhi laju reaksi. Dalam konteks artikel review, pemahaman terhadap mekanisme ini sangat penting karena menjadi dasar untuk menafsirkan variasi parameter kinetika dan stabilitas enzim di bawah kondisi eksperimen yang berbeda. (Sainz-Polo et al., 2013; Alberto et al., 2004).



3. Model Kinetika Enzim Invertase

Kinetika hidrolisis sukrosa oleh invertase secara umum dievaluasi menggunakan model Michaelis-Menten melalui penentuan parameter K_m , V_{max} , k_{cat} , dan k_{cat}/K_m untuk menilai afinitas, kapasitas maksimum, dan efisiensi katalitik. Estimasi parameter-

parameter kinetika ini saat ini lebih direkomendasikan menggunakan *fitting* komputasi nonlinier langsung ke persamaan Michaelis-Menten dibandingkan pendekatan transformasi linier klasik guna menghindari bias matematis dan mendapatkan hasil yang lebih presisi. (Sainz-Polo et al., 2013; Al Salhen, 2022).

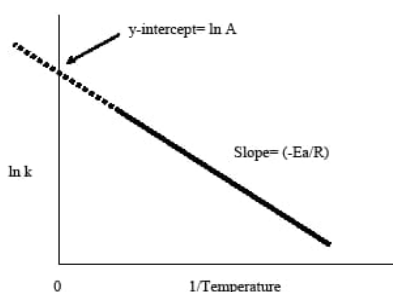
Variasi nilai parameter kinetika pada berbagai sumber biologis secara langsung mencerminkan perbedaan strategi adaptasi molekuler dan hubungan struktur-fungsi enzim. Sebagai contoh, invertase dari *Saccharomyces cerevisiae* umumnya menunjukkan nilai K_m yang rendah (afinitas tinggi) yang didukung oleh fleksibilitas domain *beta-sandwich* untuk mengarahkan substrat ke pusat katalitik secara optimal. Sebaliknya, invertase bakteri atau jamur filamentosus, seperti *Aspergillus niger* dan *Gongronella* sp. w5, seringkali menunjukkan nilai K_m yang lebih tinggi akibat hambatan sterik dari glikosilasi ekstraseluler yang ekstensif. Meskipun afinitas tampak menurun, kompensasi dari kekakuan struktur ini adalah peningkatan kapasitas katalitik (V_{max}) dan stabilitas termal yang sangat menguntungkan untuk ketahanan aplikasi industri dalam kondisi konsentrasi sukrosa yang mendekati jenuh. (J. Zhou et al., 2016; G. Zhou et al., 2020; Osiebe et al., 2023).

Walaupun pemodelan ideal memprediksi laju reaksi akan terus naik mendekati V_{max} seiring penambahan substrat, sistem operasional yang nyata sering kali memperlihatkan penyimpangan. Pada konsentrasi sukrosa yang sangat pekat, dapat terjadi fenomena inhibisi substrat, sementara glukosa dan fruktosa yang dihasilkan dari reaksi hidrolisis juga dapat berperan sebagai inhibitor kompetitif maupun nonkompetitif. Lebih jauh lagi, dalam medium industri yang kompleks seperti molase bit gula atau formulasi pangan lokal, keberadaan komponen matriks berupa garam, senyawa fenolik, dan zat warna dapat secara signifikan mengubah afinitas semu enzim serta menurunkan laju reaksi efektif. Oleh karena itu, optimasi bioproses industri berbasis invertase tidak dapat dicapai hanya dengan memaksimalkan kadar sukrosa, melainkan harus menyeimbangkan viskositas medium, meminimalkan hambatan difusi, dan mencegah potensi akumulasi produk agar efisiensi kinerja biokatalis tetap terjaga secara menyeluruh. (Osiebe et al., 2023; J. Zhou et al., 2016; G. Zhou et al., 2020; Al Salhen, 2022).

4. Pengaruh Faktor Fisikokimia terhadap Aktivitas dan Stabilitas

Aktivitas dan stabilitas invertase tidak pernah berdiri sendiri sebagai sifat yang tetap, melainkan merupakan hasil interaksi antara struktur protein dengan lingkungan reaksi. Faktor-faktor seperti pH, suhu, ion logam, keberadaan deterjen, agen pengkelat, kekuatan ionik, serta status enzim sebagai enzim bebas atau terimobilisasi dapat mengubah performa katalitiknya secara bermakna. Karena itu, kajian fisikokimia menjadi inti penting dalam memahami mengapa satu invertase sangat aktif pada kondisi tertentu tetapi kurang efektif pada kondisi lain. (Manoochehri et al., 2020; Du et al., 2013; Osiebe et al., 2023).

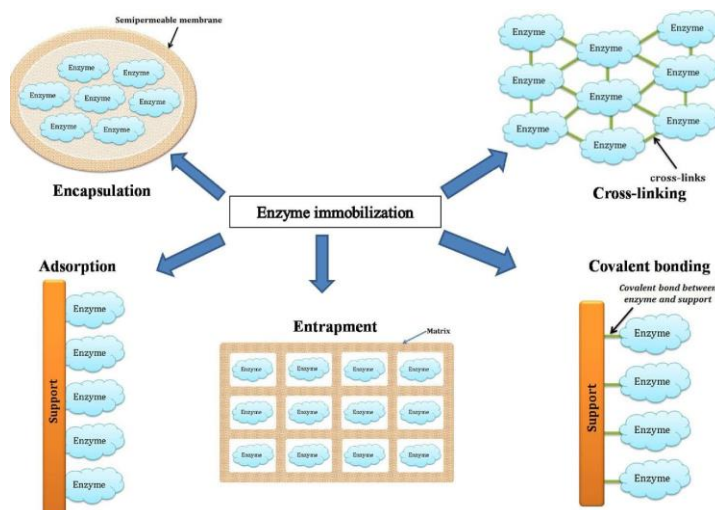
Bersamaan dengan pH, dinamika suhu secara langsung memengaruhi fleksibilitas konformasi dan energi kinetik sistem. Analisis termodinamika menunjukkan adanya pertukaran strategis (*trade-off*) antara fleksibilitas dan stabilitas: invertase psikrofilik menekan energi aktivasi (E_a) melalui pelonggaran interaksi hidrofobik agar tetap efisien memecah sukrosa pada suhu rendah (30 – 32,5°C), sementara invertase termotabil meningkatkan rigiditas molekulernya untuk mencegah *unfolding* pada suhu tinggi, yang sebagai konsekuensinya menuntut E_a yang lebih besar. Peningkatan suhu secara umum akan menaikkan laju konstanta reaksi, namun paparan termal yang melampaui ambang batas kestabilan enzim akan memicu denaturasi, sehingga menyebabkan penyimpangan dari linearitas model Arrhenius. (Potrich & Amaral, 2018; Bergamasco et al., 2000; Machado et al., 2018).



Gambar 3. Grafik Arrhenius

Di luar faktor termodinamika dasar, performa invertase juga sangat rentan terhadap modulasi dari ion logam, inhibitor, dan kompleksitas matriks reaksi. Keberadaan ion logam berat umumnya merusak konfigurasi aktif enzim, sedangkan dalam sistem industri yang nyata (seperti pengolahan molase atau formulasi pangan), akumulasi produk

hidrolisis dan keberadaan ion spesifik seperti kalsium dapat bertindak sebagai inhibitor kompetitif yang secara drastis menekan efisiensi katalitik. Untuk menanggulangi kerentanan operasional ini, teknologi imobilisasi enzim baik melalui adsorpsi, penjebakan silang, maupun ikatan kovalen pada matriks pendukung diterapkan guna meningkatkan stabilitas termal dan memfasilitasi penggunaan ulang biokatalis. Meskipun terbukti tangguh untuk operasi reaktor skala industri, sistem terimobilisasi ini memunculkan tantangan baru berupa hambatan transfer massa dan difusi substrat yang menyebabkan nilai afinitas semu (K_m) tampak menurun, sehingga desain bioproses mutlak membutuhkan titik kompromi yang optimal antara proteksi struktural dan kecepatan reaksi (Mahmood, 2010; Polania Melo et al., 2023; Robescu & Bavaro, 2025; Maurya et al., 2023)



Gambar 4. Berbagai metode imobilisasi enzim

5. Sifat Fisikokimia dan Metode Analitik

Karakterisasi invertase tidak cukup dilakukan melalui pengukuran aktivitas semata. Sifat fisikokimia seperti berat molekul, derajat glikosilasi, bentuk oligomer, dan arsitektur domain protein sangat mempengaruhi perilaku katalitiknya. Beberapa studi menunjukkan perbedaan yang jelas antara invertase intraseluler dan ekstraseluler pada khamir, baik dalam hal kandungan karbohidrat maupun sifat antigenik dan stabilitas. Selain itu, adanya domain nonkatalitik dapat mempengaruhi oligomerisasi dan preferensi substrat. (Gascón et al., 1968; Sainz-Polo et al., 2013; Li et al., 2017).

Metode analitik yang paling sering digunakan untuk menilai aktivitas invertase adalah pengukuran pembentukan gula pereduksi. Metode DNS dan Nelson-Somogyi sangat populer karena relatif sederhana dan sensitif. Kadar protein biasanya ditentukan menggunakan metode Bradford agar aktivitas dapat dinyatakan sebagai unit per miligram protein. Untuk pemurnian dan karakterisasi, peneliti kerap menggunakan pengendapan amonium sulfat, kromatografi penukar ion, filtrasi gel, serta SDS-PAGE untuk memeriksa ukuran dan kemurnian protein (Manoochehri et al., 2020; Osiebe et al., 2023).

Pada tingkat yang lebih mendalam, spektroskopi fluoresensi dan circular dichroism dipakai untuk menilai perubahan konformasi, sedangkan kristalografi sinar-X dan analisis struktur tiga dimensi memberikan gambaran rinci mengenai susunan sisi aktif dan domain enzim. Teknik NMR dan analisis progress curve juga telah digunakan untuk estimasi parameter kinetika secara lebih presisi. Dengan demikian, pendekatan analitik terhadap invertase bersifat multidimensi, menggabungkan aspek aktivitas, kemurnian, struktur, dan dinamika molekuler (Sainz-Polo et al., 2013; Li et al., 2017).

6. Perbandingan Ringkas Parameter Beberapa Invertase dari Literatur

Salah satu hal penting dalam review ini adalah menyadari bahwa invertase dari berbagai sumber tidak dapat disamakan begitu saja. Sumber enzim, kondisi pengujian, dan metode analisis sangat memengaruhi hasil parameter yang dilaporkan. Untuk itu, tabel sintesis berikut menyajikan gambaran ringkas beberapa karakter invertase yang sering disebut dalam dokumen sumber. Tabel ini bukan untuk menyeragamkan semua data, melainkan untuk menegaskan adanya keragaman biologis dan metodologis pada kajian invertase (Osiebe et al., 2023; J. Zhou et al., 2016; G. Zhou et al., 2020; Al Salhen, 2022).

7. Sintesis dan Implikasi Aplikatif

Berdasarkan keseluruhan kajian, invertase merupakan enzim yang sangat strategis karena berada pada titik temu antara biokimia dasar dan aplikasi industri. Dari sisi ilmu dasar, invertase memperlihatkan bagaimana satu enzim dapat dipahami dari mekanisme atomik sisi aktif hingga perilaku makroskopik sistem reaksi. Dari sisi aplikasi, enzim ini penting dalam produksi gula invert, formulasi makanan dan minuman, pembuatan sirup,

fermentasi, dan pengembangan sistem biokatalisis berulang menggunakan enzim terimobilisasi (Manoochehri et al., 2020; Ruan et al., 2010).

Bagi industri pangan, produk hidrolisis sukrosa berupa glukosa dan fruktosa menawarkan keuntungan berupa kelarutan yang baik, rasa manis yang tinggi, dan kecenderungan kristalisasi yang lebih rendah dibanding sukrosa murni. Dalam fermentasi, hasil hidrolisis tersebut lebih mudah digunakan oleh mikroorganisme tertentu. Pada rekayasa bioproses, invertase menjadi model yang menarik untuk studi transfer massa, kestabilan operasional, dan desain reaktor enzimatik. Oleh karena itu, pemilihan jenis invertase harus disesuaikan dengan tujuan proses, apakah membutuhkan toleransi terhadap sukrosa tinggi, pH tertentu, suhu rendah, atau kemampuan dipakai ulang. (Mahmood, 2010; Martínez et al., 2014).

Satu implikasi penting dari review ini adalah perlunya integrasi antara analisis kinetika dan analisis fisikokimia dalam setiap studi invertase. Pengukuran K_m dan V_{max} tanpa informasi kondisi pH, suhu, bentuk enzim, dan komponen medium dapat menimbulkan interpretasi yang terlalu sempit. Sebaliknya, kajian stabilitas tanpa menghubungkannya dengan efisiensi katalitik juga kurang memberi gambaran lengkap. Pendekatan yang komprehensif akan membantu peneliti dan praktisi memilih enzim, mengoptimalkan kondisi operasi, dan menilai kelayakan teknologi secara lebih realistis. (Potrich & Amaral, 2018; Polanía Melo et al., 2023).

8. Keterbatasan Kajian dan Arah Riset Lanjutan

Meskipun ulasan ini telah mengintegrasikan berbagai studi esensial, terdapat keterbatasan bawaan dari literatur sumber berupa variasi metode estimasi kinetika (seperti disparitas penggunaan *fitting* linier dan nonlinier), perbedaan satuan aktivitas, serta heterogenitas kemurnian enzim yang membatasi komparasi langsung antarstudi. Selain itu, mayoritas literatur masih terfokus pada penentuan kondisi optimum dalam larutan substrat murni, dan sering kali mengabaikan pelaporan rentang stabilitas jangka panjang maupun dampak matriks nyata. Padahal, dalam aplikasi operasional berskala besar, akumulasi produk samping, peningkatan viskositas medium, dan kompleksitas komposisi senyawa penghambat dapat mendistorsi performa enzim secara drastis

dibandingkan hasil pengujian ideal di laboratorium. (Cho & Lim, 2018; Choi et al., 2017; Essel & Osei, 2014; Osiebe et al., 2023).

Untuk menjembatani kesenjangan tersebut, arah riset biokatalisis ke depan harus bergeser pada evaluasi invertase dalam medium industri yang kompleks, pengembangan sistem imobilisasi dengan hambatan difusi minimal, serta penemuan varian dari mikroorganisme ekstremofilik. Lebih krusial lagi, eksperimen biokimia konvensional mutlak perlu diintegrasikan dengan teknologi komputasi mutakhir. Pemanfaatan *molecular docking* untuk membedah interaksi sisi aktif (terutama residu aspartat dan glutamat), rekayasa protein (*protein engineering*), serta *machine learning* akan menjadi instrumen utama untuk mengakselerasi pemetaan hubungan sekuens-fungsi, memprediksi profil mutasi, dan mendesain biokatalis masa depan yang memiliki toleransi tinggi terhadap suhu maupun konsentrasi substrat ekstrem. (Sjölin et al., 2024; Polanía Melo et al., 2023; Ndochinwa et al., 2024; Polanía Melo et al., 2023).

Tabel 1. Ringkasan komparatif beberapa karakter invertase dari berbagai sumber enzim

Sumber: Osiebe et al., 2023; J. Zhou et al., 2016; G. Zhou et al., 2020; Du et al., 2013.

Sumber/jenis enzim	Karakter kinetika yang dilaporkan	pH optimum	Suhu optimum	Catatan penting
Invertase <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	K_m dan V_{max} bervariasi menurut kondisi uji	Asam lemah	Menengah	Model klasik untuk studi kinetika dan fermentasi
Invertase <i>Gongronella</i> sp. w5	Efisiensi katalitik tinggi dan toleran sukrosa	Sekitar pH 5	-45°C	Potensial produksi gula invert pekat
Invertase aktif suhu rendah rInvHJ14	Aktivitas baik pada suhu rendah	Basa lemah-alkali	30 – 32,5°C	Cocok untuk proses hemat energi

Aspergillus niger termostabil	Stabil pada suhu tinggi	Umumnya asam	Cenderung lebih tinggi	Sesuai untuk proses industri termal
Invertase terimobilisasi	Stabilitas operasional meningkat	Bergantung matriks	Bergantung sistem	Mendukung pemakaian ulanh dan operasi kontinu

Kesimpulan

Invertase merupakan biokatalis kunci dalam reaksi hidrolisis sukrosa yang beroperasi melalui mekanisme *retaining double-displacement* untuk menghasilkan glukosa dan fruktosa. Enzim ini tersebar melintasi berbagai sumber biologis, mulai dari tumbuhan hingga mikroorganisme, yang membawa konsekuensi pada keberagaman sifat kinetika dan fisikokimianya. Meskipun secara umum perilaku kinetiknya mengikuti pemodelan *Michaelis-Menten*, parameter esensial seperti K_m , V_{max} , k_{cat} dan energi aktivasi terbukti sangat spesifik dan dipengaruhi oleh sumber enzim serta kondisi eksperimental saat pengujian.

Faktor lingkungan seperti pH, suhu, keberadaan ion logam, agen inhibitor, hingga bentuk operasional enzim (bebas atau terimobilisasi) merupakan determinan utama yang mengontrol tingkat aktivitas dan stabilitas invertase. Pendekatan analitik modern, termasuk penggunaan plot Arrhenius, telah memperluas pemahaman terkait efisiensi termal enzim, meskipun karakterisasi ideal tetap harus mencakup pengukuran kemurnian, struktur, dan dinamika konformasi enzim.

Secara keseluruhan, kajian ini menegaskan bahwa optimalisasi pemanfaatan invertase menuntut adanya pemahaman yang terintegrasi antara dasar mekanisme molekuler, perilaku kinetika, dan pengaruh lingkungan reaksi. Dengan kerangka pemahaman yang komprehensif tersebut, invertase dapat terus dieksplorasi dan dikembangkan sebagai biokatalis strategis yang efisien, baik untuk kepentingan riset akademik maupun pemenuhan kebutuhan aplikasi industri pangan, fermentasi, dan bioteknologi masa depan (Manoochehri et al., 2020; Potrich & Amaral, 2018; Osiebe et al., 2023).

Daftar Pustaka

- Adnadjevic, B. K., & Jovanovic, J. (2012). A comparative kinetics study on the isothermal heterogeneous acid-catalyzed hydrolysis of sucrose under conventional and microwave heating. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 70-77. <https://doi.org/10.1016/j.molcata.2011.12.027>
- Al Salhen, K. (2022). Biochemical study on the kinetic properties of the invertase produced by *Saccharomyces cerevisiae*. *Scientific Journal for Faculty of Science-Sirte University*, 2(2), 1-11. <https://doi.org/10.37375/sjfssu.v2i2.75>
- Al-Odat, I. (2024). Educational activity of enzyme kinetics in an undergraduate biochemistry course: Invertase enzyme as a model. *Journal of Microbiology & Biology Education*, 25(2), e00050-24. <https://doi.org/10.1128/jmbe.00050-24>
- Avila, T., et al. (2022). Extraction, purification and characterization of invertase from pineapple. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 44(2). <https://doi.org/10.1590/0100-29452022849>
- Awad, G. E. A., Amer, H., El-Gammal, E. W., Helmy, W. A., Esawy, M. A., & Elnashar, M. M. M. (2013). Production optimization of invertase by *Lactobacillus brevis* Mm-6 and its immobilization on alginate beads. *Carbohydrate Polymers*, 93(2), 740–746. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.12.039>
- Bassetti, F. J., Bergamasco, R., de Moraes, F. F., & Zanin, G. M. (2000). Thermal stability and deactivation energy of free and immobilized invertase. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 17(4-7). <https://doi.org/10.1590/S0104-66322000000400050>
- Bergamasco, R., Bassetti, F. J., de Moraes, F. F., & Zanin, G. M. (2000). Characterization of free and immobilized invertase regarding activity and energy of activation. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 17(4-7). <https://doi.org/10.1590/S0104-66322000000400051>
- Chen, Z., Zhang, D., Liu, H., et al. (2021). Identification of an invertase with high specific activity for raffinose hydrolysis and its application in soymilk treatment. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.646801>
- Cho, Y.-S., & Lim, H.-S. (2018). Comparison of various estimation methods for the parameters of Michaelis-Menten equation based on in vitro elimination kinetic

- simulation data. *Translational and Clinical Pharmacology*, 26(1), 39-47.
<https://doi.org/10.12793/tcp.2018.26.1.39>
- Choi, B., Rempala, G. A., & Kim, J. K. (2017). Beyond the Michaelis-Menten equation: Accurate and efficient estimation of enzyme kinetic parameters. *Scientific Reports*, 7(1), 17018. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17072-z>
- Cornish-Bowden, A. (2015). One hundred years of Michaelis-Menten kinetics. *Perspectives in Science*, 4, 3-9. <https://doi.org/10.1016/j.pisc.2014.12.002>
- Davidia, D., Noorb, E., Liebermeisterc, W., Bar-Evend, A., Flamholze, A., Tummlerf, K., Barenholza, U., Goldenfelda, M., Shlomig, T., & Miloa, R. (2016). Global characterization of in vivo enzyme catalytic rates and their correspondence to in vitro kcat measurements. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(12), 3401–3406. <https://doi.org/10.1073/pnas.1514240113>
- De Jesus Bassetti, F., Bergamasco, R., de Moraes, F. F., & Zanin, G. M. (2000). Thermal stability and deactivation energy of free and immobilized invertase. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 17, 867–872.
<https://api.semanticscholar.org/CorpusID:83482425>
- Du, L., Pang, H., Wang, Z., Lu, J., Wei, Y., & Huang, R. (2013). Characterization of an invertase with pH tolerance and truncation of its N-terminal to shift optimum activity toward neutral pH. *PLOS ONE*, 8(4), e62306.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062306>
- Essel, K. K., & Osei, Y. D. (2014). Investigation of some kinetic properties of commercial invertase from yeast. *Natural Product Chemistry & Research*, 2(6), 1-5.
<https://www.iomcworld.com/open-access/investigation-of-some-kinetic-properties-of-commercial-invertase-from-yeast-43252.html>
- Exnowitz, F., Meyer, B., & Hackl, T. (2012). NMR for direct determination of Km and Vmax of enzyme reactions based on the Lambert W function: Analysis of progress curves. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1824(3), 443-449.
<https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2011.10.011>
- Gabrielsson, J., & Peletier, L. A. (2018). Michaelis-Menten from an in vivo perspective: Open versus closed systems. *The AAPS Journal*, 20, 102.
<https://doi.org/10.1208/s12248-018-0256-z>

- Gascón, S., Neumann, N. P., & Lampen, J. O. (1968). Comparative study of the properties of the purified internal and external invertases of yeast. *Journal of Biological Chemistry*, 243(7), 1573-1577. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)93580-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)93580-5)
- Hargono, H., Jos, B., Abdullah, A., & Riyanto, T. (2019). Inhibition effect of Ca²⁺ ions on sucrose hydrolysis using invertase. *Bulletin of Chemical Reaction Engineering & Catalysis*, 14(3), 646-653. <https://doi.org/10.9767/bcrec.14.3.4437.646-653>
- Her, C., Singh, J., & Krishnan, V. V. (2018). Effect of sucralose on the enzyme kinetics of invertase using real-time NMR spectroscopy and progress curve analysis. *Carbohydrate Research*, 455, 5-9. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2017.10.019>
- Johnson, K. A. (2013). A century of enzyme kinetic analysis, 1913 to 2013. *FEBS Letters*, 587(17), 2753-2766. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2013.07.012>
- Lammens, W., Le Roy, K., Schroeven, L., Van Laere, A., Rabijns, A., & Van den Ende, W. (2009). Structural insights into glycoside hydrolase family 32 and 68 enzymes: Functional implications. *Journal of Experimental Botany*, 60(3), 727-740. <https://doi.org/10.1093/jxb/ern333>
- Lindsay, R. J., Holder, P. J., Hewlett, M., & Gudelj, I. (2024). Experimental evolution of yeast shows that public-goods upregulation can evolve despite challenges from exploitative non-producers. *Nature Communications*, 15(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-024-52043-9>
- Liu, J., Cheng, Y., Ruan, M., et al. (2025). Roles and regulations of acid invertases in plants: Current knowledge and future perspectives. *Plants*, 14(3), 320. <https://doi.org/10.3390/plants14030320>
- Machado, T. F. G., Gloster, T. M., & Silva, R. G. (2018). Linear Eyring plots conceal a change in the rate-limiting step in an enzyme reaction. *Biochemistry*, 57(49), 6757-6761. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.8b01099>
- Mahmood, W. A. (2010). Hydrolysis of sucrose by immobilised *Saccharomyces cerevisiae* invertase. *Mesopotamia Journal of Agriculture*. <https://doi.org/10.33899/magrj.2010.27739>
- Manoochehri, H., Hosseini, N. F., Saidijam, M., Taheri, M., Rezaee, H., & Nouri, F. (2020). A review on invertase: Its potentials and applications. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 25, 101599. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101599>

- Martinez, D., Menendez, C., Echemendia, F. M., et al. (2014). Complete sucrose hydrolysis by heat-killed recombinant *Pichia pastoris* cells entrapped in calcium alginate. *Microbial Cell Factories*, 13, 87. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-13-87>
- Morell, M., & Copeland, L. (1984). Enzymes of sucrose breakdown in soybean nodules: Alkaline invertase. *Plant Physiology*, 74(4), 1030-1035. <https://academic.oup.com/plphys/article/74/4/1030/6079433>
- Nägele, T. (2022). Metabolic regulation of subcellular sucrose cleavage inferred from quantitative analysis of metabolic functions. *Quantitative Plant Biology*, 3, e10. <https://doi.org/10.1017/qpb.2022.5>
- Ndochinwa, O. G., Wang, Q.-Y., Amadi, O. C., Nwagu, T. N., Nnamchi, C. I., Okeke, E. S., & Moneke, A. N. (2024). Current status and emerging frontiers in enzyme engineering: An industrial perspective. *Heliyon*, 10, e32673. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e32673>
- Osiebe, O., Adewale, I. O., & Omafuvbe, B. O. (2023). Production and characterization of intracellular invertase from *Saccharomyces cerevisiae* (OL629078.1), using cassava-soybean as a cost-effective substrate. *Scientific Reports*, 13, 16295. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-43502-2>
- Oyediji, O., Bakare, M. K., Adewale, I. O., Olutiola, P. O., & Omoboye, O. O. (2017). Optimized production and characterization of thermostable invertase from *Aspergillus niger* IBK1, using pineapple peel as alternate substrate. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 9, 218-223. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.01.001>
- Parker, K. J., Landwehr, G. M., Bogart, J. W., Magalhaes, C., Hammarlund, E. G., & Karim, A. S. (2025). Accelerated enzyme engineering by machine-learning guided cell-free expression. *Nature Communications*. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-55399-0>
- Polania Melo, D., Hernandez Bravo, A., Cruz, J. C., & Reyes, L. H. (2023). Invertase immobilization on magnetite nanoparticles for efficient fructooligosaccharide generation: A comprehensive kinetic analysis and reactor design strategy. *ChemEngineering*, 7(3), 55. <https://doi.org/10.3390/chemengineering7030055>
- Potrich, E., & Amaral, L. S. (2018). Activation energy, half-life and yield of the hydrolysis reaction of sucrose catalyzed by invertase. *International Journal of Current*

- Microbiology and Applied Sciences*, 7(2), 806-816.
<https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.702.102>
- Pressey, R., & Shaw, R. (1966). Effect of temperature on invertase, invertase inhibitor and sugars in potato tubers. *Plant Physiology*, 41(10), 1657-1661.
<https://doi.org/10.1104/pp.41.10.1657>
- Reddy, A., & Maley, F. (1996). Studies on identifying the catalytic role of Glu-204 in the active site of yeast invertase. *Journal of Biological Chemistry*, 271(24), 13953-13958.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)38518-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)38518-7)
- Reddy, V. A., & Maley, F. (1990). Identification of an active-site residue in yeast invertase by affinity labeling and site-directed mutagenesis. *Journal of Biological Chemistry*, 265(19), 10817-10820. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.24.13953>
- Ruan, Y.-L., Ye, J., Yang, Y.-J., Li, G.-J., & Boyer, J. S. (2010). Sugar input, metabolism, and signaling mediated by invertase: Roles in development, yield potential, and response to drought and heat. *Molecular Plant*, 3(6), 942-955.
<https://doi.org/10.1093/mp/ssq044>
- Rustiguel, C. B., Oliveira, A. H. C., Terenzi, H. F., Jorge, J. A., & Guimaraes, L. H. S. (2011). Biochemical properties of an extracellular beta-D-fructofuranosidase II produced by *Aspergillus phoenicis* under solid-state fermentation using soy bran as substrate. *Electronic Journal of Biotechnology*, 14(2). <https://doi.org/10.2225/vol14-issue2-fulltext1>
- Sainz-Polo, M. A., Ramirez-Escudero, M., Lafraya, A., Gonzalez, B., Marin-Navarro, J., Polaina, J., & Sanz-Aparicio, J. (2013). Three-dimensional structure of *Saccharomyces* invertase: Role of a non-catalytic domain in oligomerization and substrate specificity. *Journal of Biological Chemistry*, 288(14), 9755-9766.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M112.446435>
- Shankar, T., Thangamathi, P., Rama, R., & Sivakumar, T. (2014). Characterization of invertase from *Saccharomyces cerevisiae* MTCC 170. *African Journal of Microbiology Research*, 8(13), 1385-1393. <https://doi.org/10.5897/AJMR2014.6612>
- Sizer, I. W. (1939). Temperature activation of the urease-urea system. *Nature*, 143(3631), 942-943. <https://doi.org/10.1038/143942c0>

- Sjolin, M., Djarf, M., Ismail, M., et al. (2024). Investigating the inhibitory factors of sucrose hydrolysis in sugar beet molasses with yeast and invertase. *Catalysts*, 14(5), 330. <https://doi.org/10.3390/catal14050330>
- Tang, P., et al. (2022). High-resolution determination of kinetic parameters of sucrose hydrolysis based on weak measurement. *IEEE Photonics Journal*, 14(1), 1-6. <https://doi.org/10.1109/JPHOT.2022.3142072>
- Tschopp, J. F., Sverlow, G., Kosson, R., Craig, W., & Grinna, L. (1987). High-level secretion of glycosylated invertase in the methylotrophic yeast, *Pichia pastoris*. *Bio/Technology*, 5(12), 1305–1308. <https://doi.org/10.1038/nbt1287-1305>
- Xie, J., Cai, K., Hu, H. X., Jiang, Y. L., Yang, F., Hu, P. F., Cao, D. D., Li, W. F., Chen, Y., & Zhou, C. Z. (2016). Structural analysis of the catalytic mechanism and substrate specificity of *Anabaena* alkaline invertase InvA reveals a novel glucosidase. *Journal of Biological Chemistry*, 291(49), 25667–25677. <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.759290>
- Yuivar, Y., Barahona, S., Alcano, J., et al. (2017). Biochemical and thermodynamical characterization of glucose oxidase, invertase, and alkaline phosphatase secreted by Antarctic yeasts. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 4, 86. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2017.00086>
- Zhou, G., Peng, C., Liu, X., et al. (2020). Identification and immobilization of an invertase with high specific activity and sucrose tolerance ability of *Gongronella* sp. w5 for high fructose syrup preparation. *Frontiers in Microbiology*, 11, 633. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00633>
- Zhou, J., & Huang, M. (2024). Navigating the landscape of enzyme design: From molecular simulations to machine learning. *Chemical Society Reviews*, 53(16), 8202–8239. <https://doi.org/10.1039/D4CS00196F>
- Zhou, J., He, L., Gao, Y., et al. (2016). Characterization of a novel low-temperature-active, alkaline and sucrose-tolerant invertase. *Scientific Reports*, 6, 32081. <https://doi.org/10.1038/srep32081>