

## Literatur Review: D-Allulose 3-Epimerase from Microbial Sources and its Potential Uses

Fauziah Az-Zahra<sup>1\*</sup>, Dwi Hilda Putri<sup>1</sup>, Irdawati<sup>1</sup>, Dezi Handayani<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang, Sumatera Barat, Indonesia;

### Article History

Received :

Revised :

Accepted :

Published :

\*Corresponding Author:

**Fauziah Az-Zahra**, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang, Sumatera Barat, Indonesia.  
Email:[fauziahazrh5@gmail.com](mailto:fauziahazrh5@gmail.com)

**Abstracts:** D-allulose, or psicose, is a rare, low-calorie sugar with various health benefits, such as managing blood sugar levels and lowering the risk of obesity, making it an ideal alternative to sucrose. In the food and pharmaceutical sectors, this study aims to review the characteristics and potential of D-allulose 3-epimerase (DAEase) enzymes from different microbial sources, along with the challenges and prospects associated with industrial-scale applications. The methodology involved a literature review to analyse the properties of DAEase enzymes, including specific activity, thermal stability, and optimal temperature and pH conditions from different microbial producers. The results showed that the enzyme from Agrobacterium sp. exhibited the highest specific activity, while the enzyme from Labedella endophytica offered the best thermal stability. In conclusion, DAEase enzymes show significant potential in the production of D-allulose, especially in supporting the global trend towards healthier and more environmentally friendly low-calorie food products. Further research is recommended to focus on improving production efficiency and technology development for large-scale commercial applications.

**Keywords:** D-allulose, D-allulose 3-epimerase enzyme, low-calorie sweetener, enzyme production.

### Pendahuluan

Allulose, atau psicose, merupakan gula langka rendah kalori yang semakin menarik perhatian global karena manfaat kesehatannya, seperti membantu mengelola diabetes dan obesitas. Kesadaran konsumen terhadap pola makan sehat telah meningkatkan permintaan terhadap produk-produk rendah kalori, termasuk D-allulose, terutama di industri makanan dan farmasi (Higaki *et al.*, 2022). Sebagai salah satu epimer dari D-fruktosa, D-allulose memiliki kandungan kalori yang sangat rendah (hanya sekitar 0,2–0,4 kcal/g) dan indeks glikemik hampir nol. Karakteristik ini membuatnya ideal untuk menggantikan sukrosa dalam produk makanan dan minuman. Selain itu, manfaat kesehatan lainnya, seperti pengaturan kadar glukosa darah dan pengurangan risiko obesitas, menjadikan D-allulose sebagai alternatif gula

yang potensial (Hossain *et al.*, 2015; Cofrades *et al.*, 2020). Permintaan global terhadap D-allulose terus meningkat, didorong oleh kebutuhan konsumen untuk produk rendah kalori yang mendukung kesehatan metabolismik dan gaya hidup sehat (Xie *et al.*, 2024).

Produksi D-allulose secara efisien menghadapi tantangan besar dalam pengembangan bioteknologi. Salah satu pendekatan utama untuk mengatasi hal ini adalah dengan memanfaatkan enzim D-allulose 3-epimerase (DAEase). Enzim ini mampu mengkatalisis reaksi epimerisasi D-fruktosa menjadi D-allulose, menjadikannya solusi utama dalam produksi gula langka ini. DAEase berasal dari keluarga ketosa 3-epimerase (KEase) yang telah ditemukan di berbagai mikroorganisme, masing-masing dengan karakteristik spesifik, seperti stabilitas termal, kemampuan bekerja pada rentang suhu dan pH tertentu, serta

spesifisitas substrat yang tinggi (Mao *et al.*, 2020).

Studi terkait mikroorganisme sebagai sumber alami DAEase menunjukkan potensi besar untuk pengembangan lebih lanjut. Keanekaragaman sifat enzimatik, termasuk aktivitas spesifik dan stabilitas termal, memungkinkan enzim ini digunakan dalam berbagai proses industri. Selain itu, inovasi dalam rekayasa genetika dan biokatalisis terus berkembang untuk meningkatkan efisiensi enzim, terutama dalam kondisi ekstrem yang sering dihadapi dalam skala produksi besar (Beerens *et al.*, 2012).

Studi ini bertujuan untuk mengevaluasi, karakteristik enzim D-allulose 3-epimerase yang dihasilkan dari berbagai mikroorganisme, serta mengevaluasi potensinya dalam aplikasi industri. Kajian ini diharapkan dapat menentukan kondisi optimal untuk produksi enzim dan merumuskan strategi implementasi yang efektif pada skala besar. Dengan demikian, penelitian ini berkontribusi pada peningkatan efisiensi produksi D-allulose dan mendukung pemenuhan kebutuhan global akan produk rendah kalori yang sehat. Studi ini dilakukan untuk meneliti dan menilai berbagai aspek-aspek yang ramah lingkungan. Karakteristik enzim D-allulose 3-epimerase yang dihasilkan dari berbagai mikroorganisme, serta mengevaluasi potensinya dalam aplikasi industri. Kajian ini diharapkan dapat menentukan kondisi optimal untuk produksi enzim dan merumuskan strategi implementasi yang efektif pada skala besar. Dengan demikian, penelitian ini berkontribusi pada peningkatan efisiensi produksi D-allulose dan mendukung pemenuhan kebutuhan global akan produk rendah kalori yang sehat dan ramah lingkungan.

## Hasil dan Pembahasan

### Karakterisasi D-Allulose 3-epimerase

#### D-allulose 3-epimerase (DAEase)

Produksi alulosa melibatkan penggunaan teknologi, khususnya melalui proses konversi enzimatik dan pendekatan biologi sintetis (Wen *et al.*, 2022). Konversi enzimatik, yang memanfaatkan enzim tertentu untuk mengubah fruktosa menjadi alulosa, lebih sering dipilih karena keunggulan dalam efisiensi dan hasil

produksinya. Proses ini menggunakan enzim D-allulose 3-epimerase, yang berfungsi mengubah posisi gugus hidroksil pada karbon ketiga fruktosa, sehingga menghasilkan alulosa (Xie, Li, *et al.*, 2024). Dapat dilihat pada gambar berikut:

Enzim D-allulose 3-epimerase (DAEase) merupakan salah satu enzim yang memiliki potensi besar dalam produksi D-allulose, sebuah pemanis alami dengan kalori rendah yang semakin populer dalam industri pangan. Artikel ini bertujuan untuk memberikan tinjauan komprehensif mengenai karakterisasi, produksi, dan aplikasi D-allulose 3-epimerase dari berbagai sumber mikroba, dengan fokus pada kemampuan enzim dalam konversi D-fruktosa menjadi D-allulose. Selain itu, membahas aspek-aspek penting seperti suhu dan pH optimal, aktivitas spesifik, stabilitas termal, serta tantangan dan prospek penerapannya dalam skala industri. Dengan memahami berbagai karakteristik enzim ini, diharapkan dapat ditemukan solusi yang lebih efisien dan ramah lingkungan dalam proses produksi D-allulose.

Permintaan global akan pemanis rendah kalori terus meningkat sejalan dengan meningkatnya kesadaran masyarakat akan dampak negatif konsumsi gula berlebih, seperti obesitas dan diabetes (Franchi *et al.*, 2021; Han *et al.*, 2018). Salah satu pemanis yang menarik perhatian adalah D-allulose, sebuah gula langka dengan kalori rendah (0,4 kcal/g) dan tingkat kemanisan sekitar 70% dari sukrosa. Selain itu, D-allulose memiliki sifat fisiologis yang menguntungkan, termasuk pengaturan kadar glukosa darah pasca makan, menjadikannya kandidat ideal sebagai pemanis alternatif dalam industri pangan dan farmasi (Xie, Li, *et al.*, 2024).

Berbagai mikroorganisme telah dilaporkan sebagai sumber potensial enzim D-allulose 3-epimerase, yang masing-masing memiliki karakteristik aktivitas enzimatik, suhu, dan pH optimal yang berbeda. Stabilitas termal dan aktivitas spesifik enzim dari masing-masing mikroorganisme ini juga bervariasi, tergantung pada kondisi lingkungan dan spesiesnya. Tabel berikut menyajikan perbandingan karakteristik enzim dari beberapa mikroorganisme yang telah dikaji dalam penelitian sebelumnya.

## Mikroorganisme penghasil enzim D-Allulose 3-Epimerase

Karakterisasi enzim D-allulose 3-epimerase (DAEase) dari berbagai sumber mikroba menunjukkan perbedaan yang signifikan dalam parameter suhu optimal, pH optimal, aktivitas spesifik, dan stabilitas termal. *Arthrobacter psychrolactophilus* memiliki suhu kerja optimal tertinggi, yaitu 70°C, dengan rentang pH yang luas (4.0–11.0) serta aktivitas spesifik sebesar 205.37 U/mg (Laksmi et al., 2022). Karakter ini menunjukkan fleksibilitas enzim untuk digunakan dalam berbagai kondisi lingkungan, menjadikannya salah satu kandidat

unggul untuk aplikasi bioteknologi di industri pangan dan farmasi. Aktivitas spesifik tertinggi ditemukan pada *Agrobacterium* sp. mencapai 253.0 U/mg, yang menunjukkan efisiensi katalitik tinggi dibandingkan sumber mikroba lain (Zhang et al., 2020). Aktivitas spesifik yang tinggi ini memberikan keuntungan pada skala industri, terutama dalam proses biokonversi yang membutuhkan konversi efisien dalam waktu singkat. Sebaliknya, *Staphylococcus aureus* memiliki aktivitas spesifik terendah (38.4 U/mg), yang menunjukkan keterbatasan penggunaannya dalam aplikasi industri, terutama pada skala besar (Zhu et al., 2019).

**Tabel 1.** Karakteristik Enzim D-Allulose 3-Epimerase dari Berbagai Sumber Mikroba.

Sumber Mikroba	Suhu Optimal (°C)	pH Optimal	Aktivitas Spesifik (u/mg)	Stabilitas Termal	Sumber
<i>Arthrobacter psychrolactophilus</i>	70	4.0-11.0	205.37	Stabil hingga 55 °C	(Laksmi et al., 2022)
<i>Agrobacterium</i> sp.	55-60	7.5-8.0	253.0	Stabil hingga (55 °C)	(Zhang et al., 2020)
<i>Bacillus</i> sp.	40	7.5	185.7	Stabil hingga (50 °C)	(Guo et al., 2024)
<i>Bacillus</i> sp. strain KCTC 13219	55	8.0	127.2	Stabil hingga (50-55 °C)	(Seo et al., 2021)
<i>Labedella endophytica</i>	80	6.0	110.7	Stabil hingga (60-70 °C)	(Chen et al., 2021)
<i>Novibacillus thermophilus</i>	70	7.0	146.0	Stabil hingga (40-60 °C)	(Jia et al., 2021)
<i>Staphylococcus aureus</i>	70	8.0	38.4	Stabil hingga 70 °C	(Zhu et al., 2019)

Suhu optimal enzim dari *Labedella endophytica* mencapai 80°C, menunjukkan adaptasi yang baik terhadap lingkungan dengan suhu tinggi. Namun, aktivitas spesifiknya relatif lebih rendah dibandingkan *Agrobacterium* sp. Stabilitas termal juga menjadi parameter penting dalam aplikasi enzim. Enzim dari *Labedella endophytica* menunjukkan stabilitas terbaik dengan kisaran suhu hingga 60–70°C, yang cocok untuk proses biokonversi yang memerlukan ketahanan suhu tinggi. Di sisi lain, enzim dari *Bacillus* sp. dan *Bacillus* sp. KCTC 13219 menunjukkan stabilitas termal hingga 50–55°C, sehingga lebih sesuai untuk aplikasi suhu rendah hingga sedang.

Perspektif aplikasi industri, stabilitas termal dan efisiensi katalitik menjadi dua parameter utama. *Agrobacterium* sp. menawarkan efisiensi tinggi, tetapi stabilitas

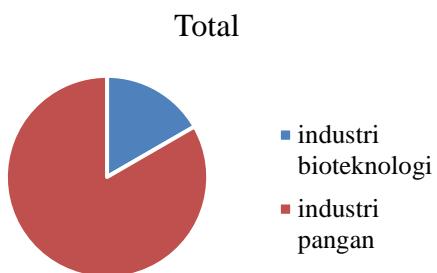
termalnya terbatas hingga 55°C. Sebaliknya, *Labedella endophytica* memberikan stabilitas tinggi pada suhu tinggi, tetapi aktivitas spesifiknya lebih rendah. Oleh karena itu, pemilihan enzim harus didasarkan pada kebutuhan proses spesifik. Sebagai contoh, aplikasi pada lingkungan suhu tinggi lebih cocok menggunakan enzim dari *Labedella endophytica*, sementara produksi pada suhu seimbang dapat memanfaatkan enzim dari *Agrobacterium* sp. atau *Bacillus* sp.

## Pengembangan Aplikasi D-Allulose 3-Epimerase

Data pada diagram diatas menunjukkan bahwa Industri pangan semakin tertarik menggunakan enzim D-allulose 3-epimerase (DAEase) dalam produksi D-allulose karena D-allulose merupakan pemanis rendah kalori yang

memiliki sifat mirip dengan gula, tetapi dengan dampak yang lebih rendah terhadap kadar gula darah. D-allulose telah terbukti sebagai pemanis yang aman bagi penderita diabetes karena tidak memengaruhi kadar glukosa atau insulin dalam darah secara signifikan, menjadikannya alternatif yang menarik untuk menggantikan gula dalam produk pangan (Dana & Sonia, 2024).

Hasil review ini yang diterapkan dalam industri pangan dan bioteknologi. Industri pangan lebih mendominasi penggunaannya, terutama dalam pengembangan pemanis alternatif, sementara industri bioteknologi berkontribusi pada inovasi enzim dan bioproses. Diagram pie berikut menunjukkan perbandingan kontribusi kedua sektor tersebut.



Gambar 2. Diagram pie ini memberikan gambaran proporsi sektor industri.

D-allulose, yang secara alami ditemukan dalam sejumlah kecil makanan seperti gandum dan buah-buahan, memiliki potensi besar dalam menggantikan gula biasa dalam produk pangan. Penggunaan DAEase memungkinkan konversi fruktosa menjadi D-allulose melalui reaksi epimerisasi, yang merupakan proses yang relatif sederhana dan efektif secara bioteknologi. Teknik ini telah memungkinkan pengembangan proses produksi D-allulose yang lebih efisien, dengan optimasi fermentasi dan penggunaan mikroorganisme rekombinan untuk meningkatkan hasil (Liu et al., 2024). Fermentasi skala besar dengan enzim DAEase juga lebih ramah lingkungan, mengurangi kebutuhan akan bahan kimia berbahaya dalam proses produksi, serta mendukung keberlanjutan industri pangan (Patel et al., 2021).

DAEase menawarkan banyak keuntungan bagi penggunanya di berbagai bidang. Salah satunya adalah biaya produksi enzim yang cukup tinggi, terutama karena proses pemurnian enzim

tersebut yang memerlukan teknologi canggih dan biaya yang signifikan. Produksi enzim rekombinan dalam jumlah besar juga membutuhkan investasi yang tidak sedikit dalam infrastruktur dan penelitian (Wang et al., 2024). Selain itu, DAEase sering kali menghasilkan efisiensi konversi yang terbatas dalam produksi D-allulose. Pengendalian kondisi fermentasi untuk mencapai konsentrasi D-allulose yang optimal memerlukan perhatian khusus, karena banyak faktor yang dapat memengaruhi hasil akhir, seperti pH, suhu, konsentrasi inokulan, dan waktu fermentasi (Hu et al., 2022).

Potensi pasar D-allulose yang besar dan meningkatnya permintaan untuk produk bebas gula serta kesadaran akan kesehatan memberikan prospek cerah bagi penggunaan DAEase dalam industri pangan meskipun tantangan ini ada. D-allulose memiliki aplikasi yang luas dalam produk makanan dan minuman, serta produk kesehatan seperti permen, yogurt, dan minuman energi rendah kalori (Mu et al., 2012). Selain itu, perkembangan teknologi fermentasi yang lebih efisien dan pengurangan biaya produksi enzim di masa depan dapat membantu meningkatkan daya saing D-allulose sebagai pemanis alternatif yang lebih ramah lingkungan dan sehat.

Secara keseluruhan, pemanfaatan enzim D-allulose 3-epimerase dalam produksi D-allulose dapat mendukung tren global dalam pengembangan gula rendah kalori yang lebih sehat, sesuai dengan kebutuhan industri makanan dan minuman. Enzim-enzim ini tidak hanya menawarkan solusi ramah lingkungan melalui biokonversi tetapi juga memberikan manfaat ekonomi dengan mengurangi kebutuhan akan bahan kimia dan energi pada proses produksi (Ibrahim, 2024).

## Kesimpulan

Enzim D-allulose 3-epimerase (DAEase) berperan penting dalam produksi D-allulose, pemanis rendah kalori yang aman dan ramah lingkungan. Dengan karakteristik bervariasi, seperti suhu optimal dan aktivitas spesifik, enzim ini cocok untuk berbagai aplikasi industri. Meskipun tantangan seperti biaya produksi tinggi ada, potensi pasarnya yang besar dan teknologi fermentasi yang berkembang menjadikannya solusi menjanjikan bagi industri pangan.

## Ucapan Terima Kasih

Penulis sampaikan terima kasih kepada Dapartemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang yang telah membantu dalam menyelesaikan penulisan artikel ini.

## Referensi

- Beerens, K. , Desmet, T. , and Soetaert, W. (2012) explored the use of enzymes in the biocatalytic production of rare sugars. Their findings were published in the *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 39(6), 823–834. For further reading, visit <https://doi.org/10.1007/s10295-012-1089-x>.
- Dana, H. , and Sonia, A. (2024) investigated the substitution of sugar in pastry and bakery products with functional ingredients in their article, which appeared in *Applied Sciences (Switzerland)*, 14(18). You can find it at <https://doi.org/10.3390/app14188563>.
- Franchi, F. , Yaranov, D. M. , Rollini, F. , Rivas, A. , Rivas Rios, J. , Been, L. , Tani, Y. , Tokuda, M. , Iida, T. , Hayashi, N. , Angiolillo, D. J. , and Mooradian, A. D. (2021) conducted a prospective, randomized, crossover study on the effects of D-allulose on glucose tolerance and insulin response following a standard oral sucrose load. The results were published in *BMJ Open Diabetes Research and Care*, 9(1), accessible at <https://doi.org/10.1136/bmjdrc-2020-001939>.
- Guo, D. , Wang, Z. , Wei, W. , Song, W. , Wu, J. , Wen, J. , Hu, G. , Li, X. , Gao, C. , Chen, X. , and Liu, L. (2024) presented their work on the rational design of a new D-tagatose 3-epimerase from *Kroppenstedtia eburneana*, which enhances both thermostability and activity for the production of D-allulose. This study was published in *Enzyme and Microbial Technology*, 178. Read more at <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2024.110448>.
- Han, Y. , Kwon, E. Y. , Yu, M. K. , Lee, S. J. , Kim, H. J. , Kim, S. B. , Kim, Y. H. , and Choi, M. S. (2018) conducted a preliminary study to evaluate the dose-dependent effects of D-allulose on fat mass reduction in adults through a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Their findings can be found in *Nutrients*, 10(2), available at <https://doi.org/10.3390/nu10020160>.
- Higaki, S. , Inai, R. , Mochizuki, S. , Yoshihara, A. , and Matsuo, T. (2022) reported that dietary dried sweetspire (*Itea*) powder significantly reduces body fat accumulation in rats fed a high-fat diet. This research was published in the *Journal of Oleo Science*, 71(8), 1195–1198, and is available at <https://doi.org/10.5650/jos.ess22111>.
- Hossain, A. , Yamaguchi, F. , Matsuo, T. , Tsukamoto, I. , Toyoda, Y. , Ogawa, M. , Nagata, Y. , and Tokuda, M. (2015) reviewed the potential role and therapeutic monitoring of the rare sugar D-allulose in managing obesity and type 2 diabetes mellitus. Their insights can be found in *Pharmacology and Therapeutics*, 155, 49–59, accessible at <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2015.08.004>.
- Hu, M. , Wei, Y. , Zhang, R. , Shao, M. , Yang, T. , Xu, M. , Zhang, X. , and Rao, Z. (2022) reported on the efficient synthesis of D-allulose under acidic conditions by auto-inducing the expression of tandem D-allulose 3-epimerase genes in *Bacillus subtilis*. This study was published in *Microbial Cell Factories*, 21(1). You can read it at <https://doi.org/10.1186/s12934-022-01789-2>.
- Ibrahim, O. O. (2024) provided a comprehensive review on the manufacturing and properties of the D-fructose epimer D-allulose (D-psicose), published in *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 15(09), 522–542. For more details, visit <https://doi.org/10.4236/abb.2024.159033>.
- Jia, D. X. , Sun, C. Y. , Jin, Y. T. , Liu, Z. Q. , Zheng, Y. G. , Li, M. , Wang, H. Y. , and Chen, D. S. (2021) highlighted the properties of D-allulose 3-epimerase sourced from *Novibacillus thermophilus* and discussed its application in the synthesis of D-allulose. Their work appeared in *Enzyme and Microbial Technology*, 148. The article can be

- accessed at <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2021.109816>.
- Laksmi, F. A. , Nirwantono, R. , Nuryana, I. , and Agustriana, E. (2022) characterized and expressed a thermostable D-allulose 3-epimerase derived from *Arthrobacter psychrolactophilus*, demonstrating its potential for the bioconversion of D-allulose from D-fructose. This research was published in the *International Journal of Biological Macromolecules*, 214, 426–438, and can be found at <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.06.117>.
- Liu, H. , Xu, K. , Sun, S. , Wan, Y. , Zhang, B. , Song, Y. , Guo, C. , Sui, S. , Wang, R. , Li, P. , Wang, J. , Xu, Z. , and Wang, T. (2024) conducted a study on optimizing fermentation conditions for the whole-cell catalytic synthesis of D-allulose by engineering *Escherichia coli*. Their findings were published in *Scientific Reports*, 14(1), 30771. [<https://doi.org/10.1038/s41598-024-80561-5>](<https://doi.org/10.1038/s41598-024-80561-5>).
- Mao, S. , Cheng, X. , Zhu, Z. , Chen, Y. , Li, C. , Zhu, M. , Liu, X. , Lu, F. , and Qin, H. M. (2020) focused on engineering a thermostable variant of D-allulose 3-epimerase derived from *Rhodopirellula baltica*. This was achieved through site-directed mutagenesis based on B-factor analysis, and their work appeared in *Enzyme and Microbial Technology*, 132. [<https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2019.109441>](<https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2019.109441>).
- Mu, W. , Zhang, W. , Feng, Y. , Jiang, B. , and Zhou, L. (2012) examined the applications and biotechnological production of D-psicose. Their insights were published in *Applied Microbiology and Biotechnology*, 94(6), 1461–1467, by Springer Verlag. [<https://doi.org/10.1007/s00253-012-4093-1>](<https://doi.org/10.1007/s00253-012-4093-1>).
- Patel, S. N. , Kaushal, G. , and Singh, S. P. (2021) reported on a D-allulose 3-epimerase from *Bacillus* sp. that exhibits impressive heat stability and significant potential for D-fructose epimerization. Their findings were featured in *Microbial Cell Factories*, 20(1). [<https://doi.org/10.1186/s12934-021-01550-1>](<https://doi.org/10.1186/s12934-021-01550-1>).
- Seo, M. J. , Kwon, E. R. , Kim, S. J. , Choi, M. S. , Kim, Y. S. , and Park, C. S. (2021) explored the production of D-allulose from D-fructose using a putative dolichol phosphate mannose synthase from *Bacillus* sp. , which shows potential D-allulose 3-epimerase activity. Their research was published in *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 26(6), 976–984. [<https://doi.org/10.1007/s12257-021-0007-3>](<https://doi.org/10.1007/s12257-021-0007-3>).
- Lastly, Xie, X. , Li, C. , Ban, X. , Yang, H. , and Li, Z. (2024) provided a critical review on D-allulose 3-epimerase, highlighting its role in low-calorie D-allulose synthesis, along with insights into microbial production, characterization, and applications. This review was published in *Critical Reviews in Biotechnology* by Taylor and Francis Ltd. [<https://doi.org/10.1080/07388551.2024.2368517>](<https://doi.org/10.1080/07388551.2024.2368517>).