

## ENZIM MANANASE DAN APLIKASI DI BIDANG INDUSTRI : KAJIAN PUSTAKA

### *Mannanase and the Application in Industry : A Review*

Divan Probo Sigres<sup>1\*</sup>, Aji Sutrisno<sup>1</sup>

1) Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP Universitas Brawijaya Malang  
Jl. Veteran, Malang 65145

\*Penulis Korespondensi, Email : dprobosigres@yahoo.com

#### ABSTRAK

Manan merupakan polisakarida yang banyak ditemukan di alam serta sumber yang murah untuk produksi manosa dan manooligosakarida. Hidrolisis manan dapat dilakukan secara enzimatik. Pemanfaatan enzim pada industri lebih disukai karena dapat mengurangi penggunaan bahan kimia dan ramah lingkungan. Enzim yang dapat dimanfaatkan pada industri pakan maupun pangan salah satunya adalah enzim mananase. Enzim mananase dapat diproduksi dari tanaman ataupun mikroorganisme. Mikroorganisme lebih dipilih karena biaya yang lebih murah, proses produksi cepat dan mudah dimodifikasi. Enzim mananase memiliki karakteristik yang berbeda bergantung pada lingkungan mikroorganisme berasal. Berat molekul enzim mananase yang dihasilkan oleh *Bacillus subtilis* WY 34 yaitu 39.6 kDa dan dari *Klebsiella oxycota* KUB-CW2-3 yaitu 165 kDa. Sebagian besar enzim mananase cenderung spesifik pada substrat *locust bean* gum. Aktivitas optimal enzim mananase berada pada kisaran suhu 40-65°C dan pH 4-6. Kestabilan enzim mananase berada pada kisaran suhu 30-65°C dan pH 3-10. Enzim mananase dapat diaplikasikan sebagai *biobleaching agent* pada industri *pulp* dan kertas serta untuk meningkatkan konversi pakan ternak. Hasil hidrolisis mananase dapat digunakan sebagai anti tumor, *cytothensis*, imunoregulasi, dan prebiotik.

Kata kunci : Bakteri Mananolitik, Enzim Mananase, Karakteristik Enzim Mananase

#### ABSTRACT

*Mannan is abundant polysaccharides that found in nature and cheap source to produce mannosa and manooligosaccharides. Mannan can be hydrolyzed by enzymes. Enzymes utilization at industry is more desirable because can reduce of chemicals and more environmental friendly. Mannanase is an enzyme that can be utilized in food and feed industry. Mannanase can be produced by plants or microorganisms. Microbial sources are preferred due to the low cost, ease modification and fast in production process. Characterization of mannanase depend on microorganism environment source. The molecular weight of mannanase from *Bacillus subtilis* WY 34 is 39.6 kDa and from *Klebsiella oxycota* KUB-CW2-3 is 165 kDa. The most of mannanases are inclined to locust bean gum. The optimum activity of mannanase in the range of temperature 40-65°C and pH 4-6. The stability of mannanase in the range of temperature 30-60°C and pH 3-10. Mannanase can be applied as biobleaching agent on pulp and paper industry furthermore to increase feed conversion. Mannanase hydrolysis product can be used as anti-tumor, cytothensis, immunoregulation, and prebiotic.*

Keyword: Mannanaolytic bacteria, Mannanase, Characterization of mannanase

## PENDAHULUAN

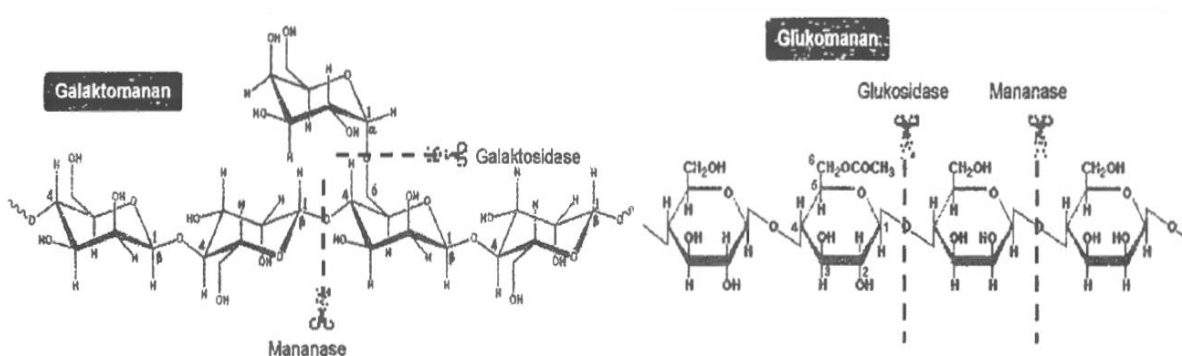
Manan merupakan salah satu bentuk polisakarida yang banyak ditemukan di alam dalam bentuk glukomanan dan galaktomanan [1]. Manan dengan komponen utama D-manosa merupakan bahan penting dalam industri pangan dan pakan [2]. Manan dapat dihidrolisis oleh enzim mananase menjadi produk akhir yang berguna yaitu mono dan oligosakarida. Monosakarida berupa manosa dapat diolah menjadi gula alkohol (manitol) dan oligosakarida berupa manooligosakarida yang berpotensi sebagai prebiotik. Enzim mananase dapat diproduksi dari jamur, moluska, tanaman, dan bakteri. Bakteri lebih dipilih karena biaya yang lebih murah, proses produksi cepat dan mudah dimodifikasi.

Enzim mananase merupakan enzim yang mampu menghidrolisis substrat manan menjadi manooligosakarida dan sedikit manosa, glukosa dan galaktosa [3,4]. Enzim mananase dapat diaplikasikan pada sektor pangan, pakan, industri *pulp* dan kertas, farmasi, serta sebagai perlakuan awal dari lignoselulosa untuk produksi *biofuel* [5]. Penggunaan enzim untuk proses hidrolisis pada industri telah meningkat karena penerapannya yang efisien [6]. Hasil hidrolisis enzim mananase berupa manooligosakarida dapat berfungsi sebagai nutrisi untuk tumbuhnya probiotik, seperti *Bifidobacterium* sp. dan *Lactobacillus* sp [7]. Sumber enzim mananase yang potensial yaitu berasal dari mikroorganisme.

Beberapa mikroorganisme penghasil enzim mananase yang berhasil diisolasi antara lain *Paenibacillus illinoisensis* ZY-08 [8], *Bacillus pumilus* DYP2 [9], *Aspergillus niger* [10], *Paenibacillus* sp. DZ3 [11], *Bacillus circulans* NT 6.7 [12], *Klebsiella oxycota* KUB-CW2-3 [13] dan *Bacillus subtilis* WY34 [14]. Keberadaan bakteri mananolitik di alam dapat dimanfaatkan untuk memproduksi enzim mananase dengan cara isolasi mikroorganisme. Isolat yang memiliki aktivitas mananolitik potensial digunakan untuk produksi enzim. Enzim mananase kemudian diisolasi, dipurifikasi, dan diuji aktivitasnya. Aktivitas mananolitik dan produk hasil hidrolisisnya mempunyai potensi pada industri pakan, pangan dan non-pangan.

## Manan

Manan merupakan komponen utama penyusun hemiselulosa yang dapat diklasifikasikan menjadi 4 subfamili: manan, glukomanan, galaktomanan, galaktoglukomanan [15]. Masing-masing polisakarida tersebut tersusun atas ikatan  $\beta$ -1-4 yang terdiri dari manosa atau kombinasi glukosa, galaktosa dan manan [16]. Manan dapat dihidrolisis menjadi manosa maupun manooligosakarida. Senyawa manan merupakan komponen utama dari endosperma kelapa sawit, kelapa, *locust bean gum* (*Ceratonia siliqua*) biji kopi, akar *konjak* (*Amorphophallus konjak*) [17]. Hidrolisis senyawa manan oleh enzim mananase ditampilkan pada Gambar 1.

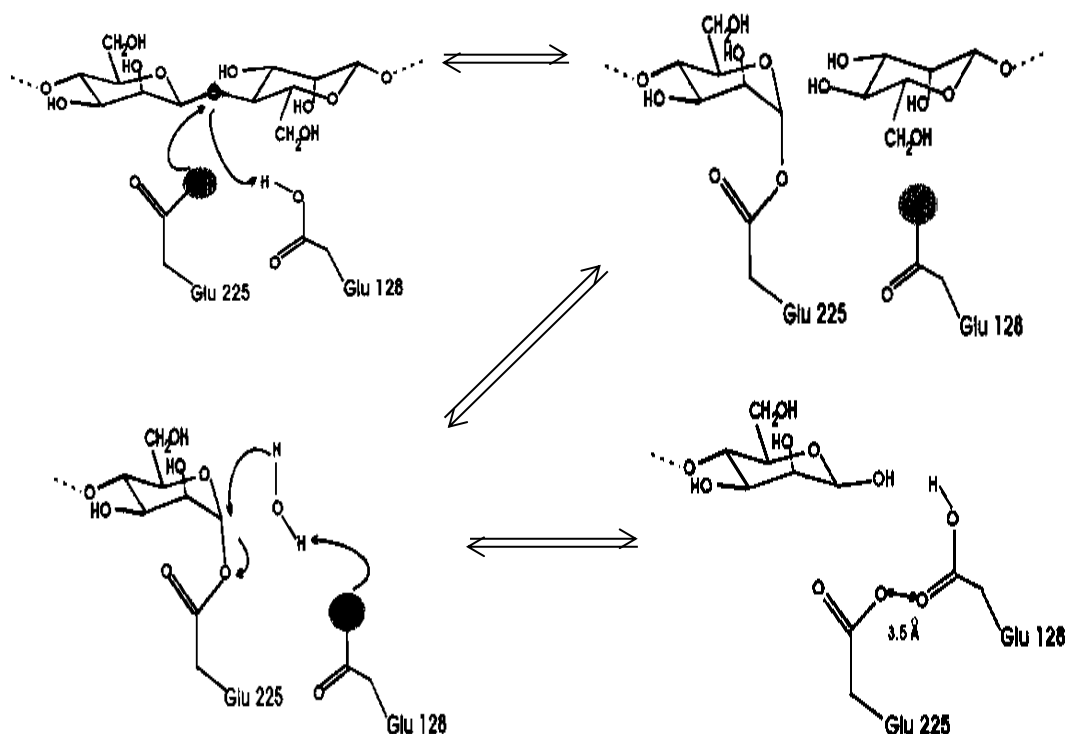


Gambar 1. Hidrolisis senyawa manan oleh enzim mananase [18]

Glukomanan yang terkandung dalam porang mempunyai sifat yaitu dapat memperkuat gel, memperbaiki tekstur, mengentalkan, dan lain sebagainya [19]. Glukomanan porang tersusun atas glukosa dan manosa dengan rasio 1:1.6 dengan ikatan  $\beta$ -1.4 glikosida. Glukomanan merupakan serat pangan yang memiliki beberapa sifat fungsional yaitu meningkatkan fungsi pencernaan dan sistem imun, membantu menurunkan berat badan, serta menurunkan kadar kolesterol dan gula dalam darah [20].

### Enzim Mananase

Mananase adalah enzim yang mampu memecah substrat manan. Mananase termasuk kelompok enzim hidrolase yang berperan dalam mengkatalisis hidrolisis polimer [21]. Mananase menghidrolisis ikatan  $\beta$ -1.4 (molekul polisakarida) antara manosa dan manosa. Pemecahan mengubah heteromanan yang melimpah menjadi manooligosakarida [4] dan sedikit manosa, glukosa dan galaktosa [3]. Enzim mananase menghidrolisis  $\beta$ -1.4-D-manopirosil dalam rangka utama polimer manan sehingga dihasilkan rantai yang lebih pendek berupa manooligosakarida. Senyawa tersebut kemudian dihidrolisis oleh enzim  $\beta$ -manosidase dan  $\alpha$ -galaktosidase menghasilkan manosa dan galaktosa [22].



Gambar 2. Mekanisme hidrolisis  $\beta$ -mananase dari *Thermomonospora fusca* [23]

Endo- $\beta$ -1.4-D-mananase menghidrolisis secara acak ikatan  $\beta$ -1.4-manosidik dalam rantai utama polimer manan sehingga menghasilkan manooligosakarida linier dan bercabang dengan panjang yang bermacam-macam [1]. Mekanisme reaksi yang dikatalisis oleh  $\beta$ -mananase dari *Thermomonospora fusca* berhasil dilaporkan oleh [23]  $\beta$ -mananase memiliki situs aktif asam glutamat nomor 128 (glu 128) dan 225 (glu 225) (Gambar 2). Pada enzim  $\beta$ -mananase, asam amino glutamat nomor 128 bertindak sebagai donor proton  $H^+$  pada oksigen glikosidik. Pada asam amino glutamat nomor 225, gugus  $COO^-$  bekerja sama dengan  $-COOH$  pada glu 128 menyerang atom karbon anomerik dengan membelah ikatan manosil sehingga glu

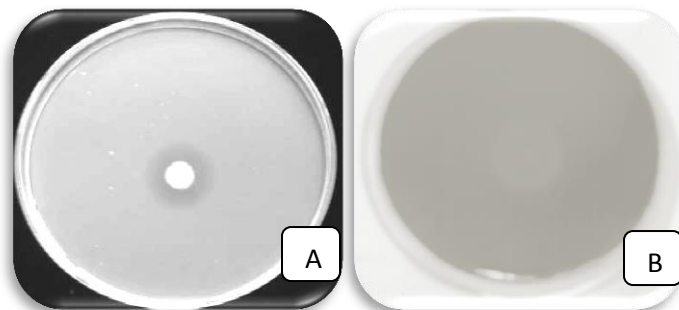
128 kehilangan H<sup>+</sup> sehingga bermuatan negatif. Kemudian atom C-1 diserang oleh glu 225 sehingga terjadi ikatan antara substrat dengan enzim. Ikatan tersebut kemudian diserang oleh molekul air. Setelah terpotong senyawa manooligosakarida lepas [1].

Enzim mananase dapat dihasilkan oleh sejumlah tanaman, bakteri, jamur dan moluska [24]. Mikroorganisme tersebut dapat ditemui di tanah (tanah merupakan media penyimpanan terbaik sekaligus sumber yang tidak terbatas bagi mikroorganisme baik jamur maupun mikroba), pupuk kompos, dan perut hewan [25]. Telah banyak pelaporan tentang enzim  $\beta$ -mananase yang dihasilkan oleh bakteri maupun fungi memiliki kisaran aktivitas enzim pada suhu 30<sup>o</sup> - 90<sup>o</sup> C dengan pH antara 4 sampai 7.1. Aktivitas mananase bervariasi antara 0.04 U/mg sampai 252.3 U/mg, dan berat molekul  $\beta$ -mananase antara 39 kDa sampai 116 kDa [26].

### Isolasi Mikroorganisme Mananolitik

Isolasi mikroorganisme dilakukan untuk mendapatkan isolat tunggal mananolitik. Isolat mananolitik diperoleh dari sumber isolasi dengan menumbuhkan sampel dalam media selektif yang mengandung substrat manan. Sampel dengan media selektif kemudian diinkubasikan selama 2-3 hari pada suhu tertentu. Isolat tunggal mananolitik diperoleh dengan menggunakan metode *spread* dan *streak plate*. Isolat mananolitik ditentukan dengan pengamatan zona bening. Adanya zona bening disekitar koloni mikroba menandakan bahwa terjadi proses hidrolisis substrat manan oleh enzim mananase yang dihasilkan koloni tersebut.

Zona bening diukur berdasarkan indeks mananolitik (IM) yang merupakan perbandingan antara diameter zona bening dengan diameter koloni. Zona bening yang dihasilkan berbanding lurus dengan aktivitas enzim yang dihasilkan oleh isolat [27]. Zona bening semakin terlihat jelas dengan penambahan *congo red* [28]. *Congo red* akan berikatan dengan polisakarida manan yang memiliki ikatan  $\beta$ -1.4-D-manopiranosil dalam media agar sehingga media akan berwarna merah. Sebaliknya hasil hidrolisis enzim mananase berupa monosakarida (tidak memiliki ikatan  $\beta$ -1.4-D-Manopiranosil) dan oligosakarida (memiliki sedikit ikatan  $\beta$ -1.4-D-Manopiranosil) yang ada disekitar koloni akan berwarna bening setelah pembilasan dengan NaCl 1% [29].



Gambar 3. Zona bening pada media selektif A [12]. Setelah penetesannya *congo red* B [9]

Pada penelitian menggunakan sampel tanah dari Henan, China didapatkan isolat yang kemudian diidentifikasi dan diketahui sebagai *Bacillus subtilis* WY34. Media selektif dengan komposisi berupa NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>, *yeast extract*, akuades, *beef peptone*, dan tepung *konjac* [14]. Pada penelitian lain dengan sampel tanah dari Nakhon Pathom Thailand, mikroorganisme diisolasi, diidentifikasi dan diketahui sebagai *Bacillus circulans* NT6.7 [12]. Pada penelitian [27] menggunakan sampel limbah padat cangkang sawit pada suhu tinggi 65<sup>o</sup>C dari pabrik minyak kelapa sawit di Natar Lampung. Mikroorganisme yang telah diisolasi kemudian diidentifikasi dan diketahui sebagai *Geobacillus stearothermophilus* L-07.

### **Produksi dan Isolasi Enzim Mananase**

Produksi enzim mananase dari mikroorganisme membutuhkan waktu yang relatif lebih singkat dibandingkan dengan produksi dari kapang. Panen enzim dilakukan pada saat fase log akhir. Pada fase ini jumlah sel mikroba dan enzim yang dihasilkan berada pada titik optimalnya. Kurva pertumbuhan mikroba dilakukan untuk mengetahui fase log akhir. Produksi enzim mananase dilakukan dengan menumbuhkan isolat pada media selektif yang mengandung manan kemudian diinkubasi pada pH, suhu dan waktu tertentu. Isolasi enzim dilakukan dengan cara sentrifugasi pada suhu 4°C untuk menghindari denaturasi enzim. Supernatan yang didapatkan merupakan enzim mananase kasar. Faktor waktu, pH, suhu perlu dikontrol untuk memaksimalkan produksi enzim mananase. Perlakuan lain seperti agitasi, aerasi, dan jenis substrat juga mempengaruhi dalam produksi enzim mananase [30,13,31].

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, waktu panen enzim yang dihasilkan oleh isolat kapang *Streptomyces* sp. PG-08-03 ialah pada jam ke-72. Aktivitas enzim yang dihasilkan pada jam tersebut yaitu 15 U/mg [32]. Pada penelitian lain menggunakan kapang *Fusarium oxysporum*, waktu panen enzim ialah pada hari ke-5 dengan aktivitas tertinggi yaitu 3.4 U/mL [29]. Penelitian lain dengan menggunakan *Aspergillus niger* gr, waktu panen ialah pada hari ke-5 dengan aktivitas optimal enzim sebesar 8.32 U/mg [33]. Waktu panen enzim mananase menggunakan isolat mikroba *Klebsiella oxycota* KUB-CW2-3 yaitu pada jam ke-24. Aktivitas enzim tertinggi yang dihasilkan pada jam tersebut ialah 0.52 U/mL (13). Waktu panen enzim mananase menggunakan isolat mikroba *Bacillus licheniformis* ialah pada jam ke-36 dengan aktivitas optimal sebesar 212 U/mL [31].

### **Purifikasi Enzim Mananase**

Pemurnian atau purifikasi enzim bertujuan untuk memisahkan enzim yang diinginkan dari senyawa lain yang tidak dikehendaki. Keberhasilan purifikasi dapat dilihat dari perbandingan tingkat kemurnian, aktivitas spesifik, rendemen, dan kadar protein antara enzim kasar dan enzim hasil purifikasi. Aktivitas spesifik enzim berbanding lurus dengan tingkat kemurniannya. Adanya penurunan kadar protein disetiap tahap pemurnian menunjukkan bahwa protein lain yang terdapat pada supernatan enzim dapat dipisahkan dari protein enzim mananase [23]. Tahapan purifikasi dilakukan secara bertahap pada suhu rendah (4°C) untuk menghindari denaturasi protein. Setelah dilakukan tahap awal dengan pengendapan enzim kemudian dilanjutkan dengan proses dialisis dan filtrasi gel.

Langkah awal untuk melakukan purifikasi enzim yaitu dengan pemekatan enzim. Pemekatan enzim misalnya dengan pengendapan garam, pengendapan senyawa organik, liofilisasi, dialisis dan ultrafiltrasi [34]. Pengendapan enzim mananase dengan menggunakan garam amonium sulfat merupakan metode yang biasa dilakukan [27]. Penggunaan garam amonium sulfat memiliki kelebihan diantaranya relatif tidak mahal, kestabilan protein dalam larutan amonium sulfat (2-3 M) tahan bertahun-tahun, dan daya larut tinggi di dalam air [35]. Prinsip pengendapan enzim menggunakan garam amonium sulfat yaitu berdasarkan pada kelarutan protein yang berinteraksi polar dengan molekul air, interaksi ionik protein dengan garam, dan daya tolak menolak protein yang bermuatan sama.

Dialisis digunakan untuk menghilangkan garam yang berlebih dalam larutan enzim setelah proses pengendapan. Pada proses ini, protein ditempatkan dalam membran semipermeabel yang direndam dalam larutan bufer. Molekul dengan ukuran yang kecil akan keluar melalui membran dialisis. Ukuran pori dari membran semipermeabel berdiameter antara 1-20 nm yang menunjukkan berat molekul terkecil yang dapat ditahan dalam membran [26]. Tahap pemurnian selanjutnya yaitu kromatografi kolom yang memisahkan protein berdasarkan perbedaan ukuran molekul serta untuk menghilangkan kontaminasi seperti garam, peptida, dan asam amino [36].

Isolat *Paenibacillus* sp. DZ3 memiliki aktivitas spesifik pada enzim kasar sebesar 5 U/mg. Setelah proses pengendapan amonium sulfat 80%, DEAE, *Phenyl Sepharose*, dan *Hi-*

Trap Phenyl Sepharose aktivitas enzim meningkat menjadi 169 U/mg [11]. Isolat *Bacillus subtilis* WY 34 memiliki aktivitas spesifik pada enzim kasar sebesar 1.543 U/mg. setelah proses pengendapan ammonium sulfat 40-80%, Superdex<sup>TM</sup> 75, dan Q-Sepharose fast flow aktivitas enzim meningkat menjadi 8.302 U/mg [14]. Isolat *Klebsiella oxycota* KUB-CW2-3 memiliki aktivitas spesifik pada enzim kasar sebesar 0.26 U/mg. setelah proses pengendapan ammonium sulfat 70%, Q Sepharose I dan II serta Ultrafiltration aktivitas enzim meningkat menjadi 33.33 U/mg [13]. Pada penelitian lain menggunakan isolat *Trichoderma harzanium* strain T4 memiliki aktivitas spesifik pada enzim kasar sebesar 1.33 U/mg. Setelah proses Ultrafiltration, Sephacryl S-100, Sephadex G-50, dan DEAE-Sepharose aktivitas enzim meningkat menjadi 43.38 U/mg [37].

### Karakterisasi Enzim Mananase

Karakterisasi enzim mananase dari mikroorganisme telah banyak dilakukan. Karakterisasi yang umum dilakukan meliputi penentuan berat molekul (SDS-PAGE dan zimografi), spesifitas substrat, suhu dan pH optimal, kestabilan pH dan suhu, serta pengaruh ion logam. Setiap enzim mananase memiliki karakterisasi yang berbeda-beda sehingga perlu dilakukan pengujian mengenai aktivitas optimalnya pada kondisi pengujian.

Kemampuan enzim mananase dalam menghidrolisis substrat spesifik berbeda-beda. Umumnya enzim mananase dari isolat mananolitik memiliki aktivitas optimal pada lingkungan tempat isolat berasal. Enzim mananase dari isolat *Klebsiella oxycota* KUB-CW2-3 [13], *Bacillus subtilis* WY34 [14], *Scopulariopsis candida* [25], dan *Aspergillus niger gr* [26] menunjukkan aktivitas optimal pada substrat spesifik galaktomanan dari *locust ben gum*. Pada enzim mananase dari *Paenibacillus* sp. DZ3 [11] dan *Paenibacillus illinoisensis* ZY-08 [8] menunjukkan aktivitas optimal pada substrat spesifik glukomanan.

Deteksi berat molekul dari enzim mananase umumnya dilakukan dengan teknik SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate – Polyacrilamide Gel Electrophoresis*) kemudian dikonfirmasi dengan teknik zimografi. Teknik SDS-PAGE memungkinkan untuk melihat berapa macam protein yang terkandung dalam suatu campuran. Pengembangan teknik ini yaitu zimografi. Teknik zimografi adalah teknik untuk mengkonfirmasi keberadaan enzim mananase dalam suatu matriks gel yang mengandung substrat (manan). Berat molekul enzim mananase dari *Bacillus subtilis* WY34 [14] sebesar 39.6 kDa; *Aspergillus niger gr* [naganagouda 2009] sebesar 66 kDa; *Paenibacillus* sp. DZ3 [11] sebesar 39 kDa; dan *Klebsiella oxycota* KUB-CW2-3 [13] sebesar 165 kDa.

Suhu merupakan faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim. Setiap enzim memiliki aktivitas optimal dan kestabilan pada suhu tertentu. Pada umumnya mikroba yang bersifat mesofil akan menghasilkan enzim yang bersifat mesofil juga [38]. Aktivitas enzim meningkat selaras dengan kenaikan suhu sampai tercapai suhu optimalnya. Beberapa hal yang mempengaruhi kestabilan suatu enzim yaitu ikatan hidrofobik, ikatan hidrogen, ikatan logam, jembatan disulfida, dan interaksi ion [39]. Enzim mananase dari isolat *Bacillus subtilis* WY34 memiliki suhu optimal 65°C dan stabil pada suhu 30-65°C [14]. Enzim mananase dari isolat *Paenibacillus illinoisensis* ZY-08 memiliki suhu optimal 60°C dan stabil pada suhu 30-60°C [8].

Pada pH optimal aktivitas enzim akan mencapai puncaknya. Hal ini dikarenakan adanya perubahan ionisasi gugus ionik enzim pada sisi aktif yang menyebabkan konformasi sisi aktif menjadi lebih efektif dalam berikatan dengan substrat dan mengubahnya menjadi produk. Enzim mananase dari isolat *Geobacillus stesrothermophilus* memiliki aktivitas optimal pada pH 7 dan stabil pada pH 4-8 [26]. Enzim mananase dari isolat *Bacillus subtilis* WY34 memiliki aktivitas optimal pada pH 6 dan stabil pada pH 5.5-10 [14]. Enzim mananase dari isolat *Klebsiella oxycota* KUB-CW2-3 memiliki aktivitas optimal pada pH 4 dan stabil pada pH 3-6 [13].

Setiap enzim memerlukan ion logam untuk aktivitasnya. Ion logam yang diperlukan oleh setiap enzim berbeda-beda. Ion logam dapat menjadi kofaktor ataupun inhibitor dari enzim.

Aktivitas enzim mananase dari isolat *Bacillus stearothermophilus* meningkat dengan penambahan  $\text{CoCl}_2$  serta dihambat dengan penambahan  $\text{MgCl}_2$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{MnCl}_2$ ,  $\text{ZnCl}_2$ ,  $\text{FeSO}_4$ , dan  $\text{CuSO}_4$  [26]. Aktivitas enzim mananase dari isolat *Aspergillus niger* BL5 meningkat dengan penambahan EDTA,  $\text{MgCl}_2$ , dan  $\text{CaCl}_2$  serta dihambat dengan penambahan  $\text{CuCl}_2$  dan SDS [35]. Aktivitas enzim mananase dari isolat *Bacillus subtilis* WY34 meningkat dengan penambahan Fe dan Co serta dihambat dengan penambahan Mg, Ag, Zn, Na [14].

### **Aplikasi Enzim Mananase**

Enzim mananase dapat diaplikasikan pada industri pakan, pangan maupun non-pangan. Enzim mananase dengan aktivitas optimal pada suhu mesofil dapat diaplikasikan pada industri pakan dan pangan. Enzim mananase yang mempunyai kestabilan pada suhu tinggi (termofil) dapat diaplikasikan pada industri non-pangan. Hidrolisis substrat manan dengan enzim mananase dapat menghasilkan produk yang bermanfaat. Monosakarida berupa manosa dapat digunakan untuk produksi gula manitol. Oligosakarida berupa manooligosakarida yang berpotensi sebagai prebiotik.

Enzim mananase juga dapat diaplikasikan pada sektor farmasi. Penelitian terbaru menemukan bahwa hidrolisis produk glukomanan dengan enzim mananase yang memiliki berat molekul berbeda mempunyai fungsi biologis lain. Fungsinya seperti anti tumor [41], immunoregulasi [42], dan *cytothensis* [43]. Adanya penemuan ini memberikan informasi penting dan mendapat perhatian lebih terhadap hidrolisis produk glukomanan [44].

Pada industri pangan, enzim mananase dapat digunakan untuk produksi prebiotik. Prebiotik adalah bahan makanan yang tidak dapat dicerna (oligosakarida) dan mempunyai dampak menguntungkan bagi tumbuh dan aktifnya mikroba probiotik dalam usus [45]. Polisakarida yang terhidrolisis menjadi oligosakarida dapat menstimulasi tumbuhnya *Bifidobacterium* dan *L. acidophilus* lebih baik daripada glukomanan yang belum terhidrolisis [46]. Glukomanooligosakarida (glukomanan yang telah terhidrolisis) menunjukkan fungsi probiotik yang lebih baik daripada glukomanan [47]. Produk fermentasi glukomanan dan serat menyebabkan turunnya jumlah dari *C. pefringens* dan *E. coli* dalam usus [48]. Hasil hidrolisis substrat manan oleh enzim mananase dari isolat *Bacillus circulans* NT. 6.7 mampu menghambat patogen *Salmonella* serovar Enteritidis S003 dan *Escherichia coli* E010 serta menstimulus pertumbuhan dari *Lactobacillus reuteri* AC5 dan *Lactobacillus casei* [13,12,49].

Enzim mananase dapat dimanfaatkan sebagai campuran dalam pakan ternak (unggas dan sapi) sehingga meningkatkan nilai gizi dan konversi bahan pakan kaya manan seperti bungkil kelapa [28]. Enzim mananase alkali dan termofilik dari *Bacillus* sp strain JAMB-750 dan *Bacillus subtilis* WY34 dapat diaplikasikan pada industri deterjen dan sebagai *biobleaching agent* pada industri *pulp* dan kertas [11,50].

### **SIMPULAN**

Sumber enzim mananase yang potensial yaitu berasal dari bakteri. Enzim mananase memiliki karakteristik yang berbeda bergantung pada lingkungan mikroorganisme berasal. Berat molekul enzim mananase yang dihasilkan oleh mikroorganisme yaitu berkisar antara 39.6 kDa sampai 165 kDa. Sebagian besar enzim mananase cenderung spesifik pada substrat *locust bean* gum. Aktivitas optimal enzim mananase berada pada kisaran suhu 40-65°C dan pH 4-6. Kestabilan enzim mananase berada pada kisaran suhu 30-65°C dan pH 3-10. Enzim mananase dapat diaplikasikan sebagai *biobleaching agent* pada industri *pulp* dan kertas serta untuk meningkatkan konversi pakan ternak. Hasil hidrolisis mananase dapat digunakan sebagai anti tumor, *cytothensis*, immunoregulasi, dan prebiotik.

#### DAFTAR PUSTAKA

- 1) de Vries R.P. 2003. Regulation of *Aspergillus* genes encoding plant cell wall polysaccharide-degrading enzymes; relevance for industrial production. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 61: 10-20
- 2) Chantorn, S.T., B. Katesarin., P. Apinya., S. Tasanee., P. Dangpram., J. Kla, and N. Sunee. 2012. Optimization of Extracellular Mannanase Production from *Penicillium oxalicum* KUB-SN2-1 and Application for Hydrolysis Property. *Songklanakar J. Sci. Technol.* 35 (1), 17-22
- 3) Dhawan, S and Kaur. 2007. J. Microbial Mananases: An Overview Of Production And Applications. *Crit.Rev in Biotechnol*;27(4):197–216
- 4) Songsiriritthigul C, B. Buranabanyat., D. Haltrich., M. Yamabhai. Efficient recombinant expression and secretion of a thermostable GH26 mananendo-1,4- $\beta$ -manosidase from *Bacillus licheniformis* in *Escherichia coli*. *Microb. Cell Fact.* 2010;9:20
- 5) Wyman C.E, S.R. Decker., M.E. Himmel., J.W. Brady., C.E. Skopec., L. Viikari. 2005. Polysaccharides: Structural Diversity and Functional Versatility. CRC Press Boca Raton, FL. 2005;953-1033
- 6) Viikari, L., A. Kantalinen, J. Sundquist, M. Linko. 1994. Xylanase in bleaching: from an idea to the industry. *FEMS Microbiol.Rev.* 13: 335-350
- 7) Schrezenmeir J, M. de Vrese. 2001. Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics Approaching a Definition. *American Journal of Critical Nutrition*, Vol. 73, No. 2, 361S-364s
- 8) Lee, Y.s., Y. Zhou, Park, I.H., Chandra, M.R.G.S., Ahn, S.C, dan Choi Y.L. 2010. Isolation and Purification of Thermostable  $\beta$ -Mannanase from *Paenibacillus illinoisensis* ZY-08. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 53(1), 1-7
- 9) Aurora, D.D. 2003. Isolasi dan Karakterisasi Enzim Mananase *Bacillus pumilus* DYP 2. Skripsi. IPB. Bogor
- 10) Asfamawi, K.K., S. Noran., I. Darah. 2013. Isolation, Screening and Identification of Mannanase Producer Microorganisms. *J. Trop Agric. And Fd.Sc.* 41(1): 169-177
- 11) Chandra, M.R.S., Y.S. Lee., I.H. Park., Y. Zhou., K.K. Kim, and Y.L. Choi. 2011. Isolation, Purification and Characterization of a Thermostable  $\beta$ -Mannanase from *Paenibacillus* sp. DZ3. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 54(3), 325-331
- 12) Phothichitto, K. 2006. Isolation and Characterization of Mannanase Producing Microorganism. Graduate School, Kasetsart University. Thesis. Thailand
- 13) Chantorn, T.S., P. Nawapan., K. Suttipan., I. Arunee., H. Dietmar., N. Sunee. 2013. Characterization of Mannanase S1 from *Klebsiella oxycota* KUB-CW2-3 and Its Application in Copra Mannan Hydrolysis. *Science Asia* 39 (2013): 236-245
- 14) Jiang, Z., Yun, W., L. Daoyi., L. Lite., C. Pingping., K. Isao. 2006. High-level Production, Purification and Characterization of a Thermostable  $\beta$ -Mannanase from the Newly Isolated *Bacillus subtilis* WY34. *Journal of Elsevier Carbohydrate Polymers* 66 (2006) 88-96
- 15) Petkowiez C.L.O. 2001. Linier Mananas in the Endosperm of *Schizolobium amazonicum*. *Carbohyd Polym* 44, 107-112
- 16) Liepman, AH. 2007. Functional Genomic Analysis Supports Conservation of Function Among Cellulose Synthase-Like a Gene Family Members an Suggest Diverse Roles of Mannans in Plants. *Plant Physiol* 143. 1881-1893
- 17) Ooi T, D. Kikuchi. 1995. Purification and Some Properties of  $\beta$ -Mananase from *Bacillus* sp. *World J Microbiol Biotechnol*, 11; 310-314
- 18) McCleary B.V. 1988.  $\beta$ -Mannanase. *Methods Enzymol* 160:596-610
- 19) Sande, M.A., D. Teijeiro., C. Remunan., M.J. Alonso. 2008. *Glucomanan, a Promising Polysaccharides for Biopharmaceutical Purposes.* *Eur. J. Pharm. Biophar*
- 20) Zhang, Y.Q., B.J. Xie, and K. Gan. 2005. Advance In The Application Of Konjac Glucomanan And Its Derivatives. *Carbohydrate polymer* 60: 27-31



- 21) Hames D, N. Hooper. 2005. Biochemistry. Third edition. Taylor and Francis Group
- 22) Duffaud, G.D., C.M. Mc Chutchen., P. Leduc., K.N. Parker., R.M. Kelly. 1997. Purification and Characterization of Extremely Thermostable  $\beta$ -Mananase,  $\beta$ -Manosidase, and  $\alpha$ -Galactosidase from the Hyperthermophilic Eubacterium *Thermatoga neopalitana* 5068. *Appl Environ Microbiol* 63:169-177
- 23) Hilge M, S.M. Gloor., and W. Rypniewski. 1998. High Resolution Native and Complex Structures of Thermostable Mananase from *Thermomonospora fusca*-Substrat Spesificity in Glycosil Hydrolase Family 5. Research Article, Netherlands
- 24) Xu, B. 2002. Endoglucanase and Mananase from Blue Mussel, *Mytilus edulis* Purification, Characterization, Gene and Tree Dimentional Structure. Upsala Universitet: Doctoral Thesis
- 25) Zakaria, M.M., M. Ashiuchi, S. Yamamoto, and T. Yagi. 1998 Purification and Characterization of an Endo-1,4- $\beta$ -Mananase from *Bacillus subtilis* KU-1. *FEMS Microbiol Lett* 158, 25-31
- 26) Sumardi. 2005. Isolasi, Karakterisasi, dan Produksi  $\beta$ -Mananase Ekstraseluler dari *Geobacillus stearothermophilus* L-07. Disertasi. IPB. Bogor
- 27) Seftiono, Hermawan. 2008. Pemurnian dan Karakterisasi Mananase dari *Streptacidiphilus luteoalbus*. Skripsi. Bogor. IPB
- 28) Downie, B., H.W.M. Hilhorst., and J.D. Bewley. 1994. A New Assay for Quantifying Endo- $\beta$ -D-Mannanase Activiying Using Congo Red Dye. *Phytochemistry* 36:829-835
- 29) Sumardi. 2007. Isolasi dan Karakterisasi Mananase Ekstraseluler dari *Fusarium oxysporum*. *J. Sains MIPA*, Vol.13, No.1, Hal: 43-48
- 30) Akinyele, J.B., O.O. Olaniyi., and C.O. Adetunji. 2013. Screening and Optimization of Nutritional Conditions for Mannanase Production by *Penicillium italicum* LAD-A5 in Solid State Cultivation. *E3 Journal of Biotechnology and Pharmaceutical Research* Vol. 4(2), pp 35-41
- 31) Feng, Y., He, Z., Say, L.O., Hu, Z., Zhanng, Z, and Wun, J.N. 2002. Optimization of Agitation, Aeration, and temperature Conditions for maximum  $\beta$ -Mannanase Production. Elsevier. *Enzyme and Microbiol Technology*, 32. 282-289
- 32) Bhoria, Preeti., G. Singh, and Gurinder, S.H. 2009. Optimization of Mannanase Production from *Streptomyces* sp. PG-08-03 in Submerged Fermentation. *BioResources* 4(3), 1130-1138. 1130.]
- 33) Naganagouda, K., P.V.Salimath, and V.H. Mulimani. 2009. Purification and Characterization of Endo- $\beta$ -1,4 Mananase from *Aspergillus niger* for Application in Food Processing Industry. *J. Microbiol. Biotechnol* 19(10), 1184-1190
- 34) Bollag, DM and S.J. Edelstei. 1991. Protein Methods. New York: Willey-Liss
- 35) Scopes RK. 1987. Protein Purification Principle and Practice. Second Edition. New York: Springer Verlag
- 36) Ferreira, H.M., and E.X.F. Filho, 2004. Purification and Characterization of  $\beta$ -Mannanase from *Trichoderma harzianum* strain T4. *Elsevier Carbohydrate Polymers* 57. 23-29
- 37) Mudau., M. Maria., Setati, and M. Evodia. 2008. Partial Purification and Characterization of Endo-  $\beta$ -1,4- Mannanases from *Scopulariopsis candida* strains Isolated from Solar Salterns. *African Journal of Biotechnology* Vol. 7 (13)
- 38) Ginting, J. 2009. Isolasi Bakteri Dan Uji Aktivitas Enzim Amylase Kasar Termofilik Dari Sumber Air Semangat Gunung Kabupaten Karo, Sumatera Utara (Thesis). Medan: Sumut
- 39) Brock, T.D. 1986. Thermophiles: General, Molecular, and Applied Microbiology. Science Tech. Inc., New York
- 40) Vuksan, V., J. L. Sievenpiper., R. Owen., J.A. Swilley., P. Spadafora., D. J. Jenkins. (2000). Beneficial effects of viscous dietary fiber from Konjac-manan in subjects with the insulin resistance syndrome: Results of a controlled metabolic trial. *Diabetes Care*, 23(1)

- 41) Viikari, L., A. Kantalinen, J. Sundquist, M. Linko. 1994. Xylanase in bleaching: from an idea to the industry. *FEMS Microbiol.Rev.* 13: 335-350
- 42) Yeh, S.-L., M.-S. Lin, and H.L. Chen. 2010. Partial Hydrolysis Enhances the Inhibitory Effects of Konjac Glucomanan from *Amorphophallus Konjac* C. Koch on DNA Damage Induced by Fecal Water in Caco-2 Cells. *Food Chemistry*, 119(2)
- 43) Viikari, L., A. Kantalinen, J. Sundquist, M. Linko. 1994. Xylanase in bleaching: from an idea to the industry. *FEMS Microbiol.Rev.* 13: 335-350
- 44) Gibson, G.R., H.M. Robert., J.V. Loo., R.A. Rastall., and M.B. Roberfroid. 2004. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews* 17: 259-275
- 45) Chen, H. L., Y.H. FaN., M.E. Chen., and Y. Chan. (2005). Unhydrolyzed And Hydrolyzed Konjac Glucomanans Modulated Cecal And Fecal Microflora In Balb Mice. *Nutrition*, 21(10), 1059–1064
- 46) Chen, J., L. Desheng., W. Hai., C. Yongqian., Z. Wenjing. 2013. Optimimization of Hydrolysis Conditions for the Production of Glucomano-oligosaccharides from Konjac Using  $\beta$ -Mananase by Response Surface Methodology. *Journal of Elsevier Carbohydrates Polymers* 93 (2013) 81-88
- 47) Wang, C. H., P. Lai., M. E. Chen, and H. L. Chen. (2008). Antioxidative capacity produced by *Bifidobacterium*- and *Lactobacillus acidophilus*-mediated fermentations of konjac glucomanan and glucomanan oligosaccharides. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(7), 1294–1300
- 48) Utami, Wijatanti. 2010. Pembuatan Prebiotik dari Bungkil Inti Sawit Menggunakan Bakteri Mananolitik dan Pemanfaatannya Untuk Menghambat Pertumbuhan *E. coli* dan Memicu Pertumbuhan *L. casei*. Tesis. IPB. Bogor
- 49) Onishi, N., S. Kawamoto., M. Nishimura., T. Nakano., T. Aki., S. Shigeta. (2005). A New Immunomodulatory Function Of Low-Viscous Konjac Glucomanan With A Small Particle Size: Its Oral Intake Suppresses Spontaneously Occurring Dermatitis In NC/Nga Mice. *International Archives of Allergy and Immunology*, 136(3)
- 50) Takeda, N., H. Kazumichi., U. Kohsuke., N. Yuichi., H. Yuji., U. Ron., Y. Yasuhiko., D.G. William, I. Susumu., H. Koki. 2004. Purification and Enzymatic Properties of a Highly Alkaline Mannanase from Alkaliphilic *Bacillus* sp. strain JAMB-750. *J. Biol. Macro.*, 4(2), 67-74