

PENENTUAN AKTIVITAS ENZIM MANANASE DARI BERBAGAI MIKROORGANISME DI INDONESIA DAN PERANANNYA DALAM BIDANG PANGAN: KAJIAN PUSTAKA

Hermawan Seftiono

Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Universitas Trilogi
Jl. Kampus Trilogi No 1, Kalibata Jakarta 12760,
hermawan_seftiono@trilogi.ac.id

ABSTRACT

Mananase is an enzyme that is involved in producing prebiotic, namely manooligosaccharide. In Indonesia, research about mananase enzyme has started by using several types of microorganisms. Based on available reports, it seems that data collection is needed in order to determine the most optimal mananase enzyme producer. From among 20 microorganisms, it showed that Isolat SM – 14 (Bacillus sp.) has 119.44 U / ml activity with 19.55 U / mg specific activity in locus bean gum substrate. The highest enzyme activity is the most potential when applied as manooligosaccharide producer in food industry. Manooligosaccharide can be applied to various products such as cookies, chocolate, candy, and soft drinks.

Keywords : mananase, manooligosaccharide, enzyme activity, functional food

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki potensi mikroorganisme yang belum dioptimalkan. Berbagai mikroorganisme meliputi bakteri, kapang dan khamir menghasilkan enzim yang dapat mendegradasi hemiselulosa (manan dan xilan). Saat ini hasil atau limbah perkebunan berupa hemiselulosa terdapat pada bungkil kelapa sawit, kopi, kopra, suweg, dan kolang kaling. Mikroorganisme menghasilkan enzim mananase yang dapat menghidrolisis hemiselulosa berupa manan menjadi manooligosakarida. Manooligosakarida termasuk pangan fungsional karena berperan sebagai prebiotik bagi mikroflora usus.

Manan diklasifikasikan menjadi 4 subfamili meliputi manan linear, glukomanan, galaktomanan, dan galaktoglukomanan. Manan linear ditemukan pada *ivory nut* dan palm kernel oil (minyak inti kelapa sawit). Galaktomanan termasuk fraksi hemiselulosa utama pada kayu lunak. Galaktomanan dihasilkan oleh locust bean gum, tara gum, guar gum dan fenu greek gum dengan rasio galakto dan manosa yang bervariasi. Galaktoglukomanan memiliki struktur rantai utama yang terdistribusi secara acak atas ikatan β 1-4 D-manosa dan D-glukosa serta adanya D-galaktosa sebagai cabang pada

manosa pada rantai utama (Malgas S *et al* 2015).

Pemanfaatan enzim mananase asal mikroorganisme memiliki beberapa keuntungan diantaranya proses produksi enzim yang cepat, biaya produksi yang lebih murah dan ramah terhadap lingkungan (Sigres & Sutrisno 2015). Enzim β -mananase meliputi endo-1,4- β -manosidase atau 1,4- β -D mananase (EC3.2.1.78) merupakan enzim penting yang mendegradasi manan secara acak dengan memutus rantai sehingga menghasilkan β -1.4-manooligomer dan menghasilkan rantai akhir baru.

Mananase memiliki berbagai fungsi serta aplikasi industri termasuk di bidang teknologi pangan. Penerapannya antara lain dalam biokonversi biomassa menjadi manooligosakarida, peningkatan daya cerna pakan pada ternak, proses pengolahan biji kopi (Adebayo-Tayo *et al* 2013) Penelitian mengenai pemanfaatan enzim mananase saat ini mulai banyak dilakukan akan tetapi belum terlihat mikroorganisme mana yang potensial serta dalam penerapan dalam industri pangan.

Penelitian enzim mananase dalam menguraikan manan saat ini mulai banyak dilakukan terutama di Indonesia, namun belum ada proses pendataan aktivitas

mananase dari berbagai mikroorganisme. Pendataan ini berperan untuk melihat sumber mananase yang optimal serta pemanfaatannya untuk industri pangan.

PEMBAHASAN

Penentuan Aktivitas Enzim Mananase

Mananase merupakan enzim yang berperan dalam menguraikan heteromanan menjadi manosa, glukosa, dan galaktosa. β -mananase (β -1,4-D manan manohidrolase, EC 3.2.1.78) menghidrolisis β -1,4-D manopirosil dalam rangka utama polimer manan yang kemudian menghasilkan rantai pendek manooligosakarida. Selanjutnya senyawa tersebut dihidrolisis oleh β -manosidase (β -manosidase, EC 3.2.1.25) dan α -galaktosidase (EC 3.2.1.22) menghasilkan manosa dan galaktosa (Duffaud *et al.* 1997). penguraian manan oleh mananase akan menghasilkan manosa dan manooligosakarida. Manosa termasuk kedalam monosakarida sedangkan manooligosakarida berupa oligosakarida dari karbohidrat yang berperan sebagai probiotik. Manan bisa ditemukan pada biji dan dinding sel berbagai tanaman, termasuk tanaman kacang-kacangan.

Aktivitas enzim mananase berbeda-beda tergantung dari sumbernya. Enzim ini dihasilkan dari berbagai sumber diantaranya tumbuhan, hewan, serta mikroorganisme (bakteri, kapang dan khamir). Umumnya mananase diperoleh dari mikroba karena dapat dihasilkan dalam jumlah banyak bisa berupa enzim intraseluler dan enzim ekstraseluler serta lebih mudah dalam melakukan proses isolasi. Penentuan waktu produksi enzim optimum dilihat dari nilai aktivitas mananase tertinggi.

Aktivitas enzim menunjukkan dari jumlah mikromol substrat yang diubah menjadi produk per unit waktu pada kondisi suhu dan pH yang optimal. Substrat yang digunakan oleh beberapa peneliti diantaranya bungkil inti sawit, *locus bean gum* dan porang. Aktivitas enzim adalah ukuran kuantitas keadaan aktif enzim dan tergantung pada kondisi yang harus spesifik. Satuan internasional (SI) unitnya adalah katal dengan satuan 1 mol s^{-1} untuk tiap unitnya. Nilai yang umum dan sering digunakan ialah enzim unit

(U) dengan $1 \text{ U} = 1 \mu\text{mol min}^{-1}$. Nilai 1 U setara dengan 16,67 nanokatal (Bintang 2010).

$$\text{Aktivitas mananase (U/ml)} = \frac{(Xs - Xk) \times 2 \times fp \times 1000}{t \times BM \text{ manosa}}$$

dengan

Aktivitas mananase : Jumlah enzim yang dapat menghasilkan satu μmol manosa permenit (U/ml).

Xs : kadar manosa sampel

Xk : kadar manosa kontrol

t : waktu inkubasi (menit)

fp : faktor pengenceran

BM manosa : bobot molekul manosa 180 g/mol

Aktivitas spesifik enzim merupakan unit umum lainnya selain aktivitas enzim karena aktivitas spesifik lebih menunjukkan aktivitas enzim yang bekerja per milligram protein. Aktivitas spesifik mengukur kemurnian dari enzim yaitu jumlah dari produk yang dibentuk oleh enzim pada waktu tertentu dengan kondisi per miligram enzim. Aktivitas spesifik setara dengan rataan dari reaksi dikali dengan volume reaksi dibagi dengan berat dari enzim. SI unit nya adalah katal Kg^{-1} , tapi unit yang lebih praktis adalah $\mu\text{mol mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$.

$$\text{Aktivitas Spesifik} = \frac{\text{Total aktivitas}}{\text{Total protein}} (\text{U} / \text{mg})$$

dengan

Aktivitas Total (U) = volume enzim (ml) x aktivitas (U/ml)

Total Protein (mg) = volume enzim (ml) x kadar protein (mg/ml)

Aktivitas enzim mananase dari berbagai mikroorganisme di Indonesia menunjukkan nilai aktivitas dan aktivitas spesifik yang bervariasi (Tabel 1). Berbagai variasi ini disebabkan karena perbedaan isolat, lama waktu inkubasi, sumber karbon, pH, suhu dan agitasi. Aktivitas enzim mananase biasanya memiliki nilai yang tinggi pada pH 3.0-7,5 dan suhu 45-92 °C. (Purnawan 2013). Penelitian Rahayu (2013) menunjukkan mananase yang berasal dari

Isolat 5 dan Isolat 6 memiliki dua puncak aktivitas. Isolat 5 memiliki puncak aktivitas pada jam ke-18 dan jam ke-54 sedangkan isolat 6 memiliki puncak pada jam ke-30 dan jam ke-66. Hal ini dikarenakan enzim tersebut merupakan isoenzim yaitu berperan dalam mengkatalisis reaksi yang sama namun urutan asama amino dan sifatnya yang berbeda (Williams & Wilkins 1996). Produk hidrolisis seperti mano-oligosakarida (MOS) akan menghambat sintesis enzim dalam menguraikan polisakarida akan tetapi aktivitas enzim akan meningkat pada puncak kedua dari enzim karena kadar monosakarida (manosa) akan berkurang karena digunakan oleh bakteri sebagai sumber karbon untuk nutrisi dan bereproduksi setelah itu bakteri mulai memproduksi enzim kembali (Meryandini et al. 2008a, Purnawan 2013).

Penelitian Ambarwati (2005) memperlihatkan bahwa perbedaan sumber karbon berpengaruh terhadap aktivitas enzim mananase, penggunaan substrat *locust bean gum* menunjukkan aktivitas mananase yang lebih tinggi dan waktu yang lebih singkat yaitu 0.0107 U/mL (0.179 nkat/ml) dalam waktu 2 hari dibandingkan dengan bungkil kelapa yaitu 0.0031 U/mL (0.051 nkat/ml) dalam waktu 4 hari hal ini menurut Ambarwati (2005) *locust bean gum* lebih dapat menginduksi pembentukan mananase *Streptomyces* sp. galur 45I-3 daripada bungkil kelapa selain itu kandungan galaktomanan *locust bean gum* lebih tinggi dibandingkan di bungkil kelapa yaitu sebesar 88% sedangkan dibungkil kelapa hanya 61%. Hal ini sesuai dengan pernyataan Purnawan (2013) bahwa biomassa *locust bean gum* mempunyai tingkat kemurnian yang tinggi selain itu bungkil kelapa mirip dengan bungkil inti kelapa sawit (BKIS) sehingga kemungkinan serat kasar terikat secara kuat dengan lignin membentuk lignoselulosa sehingga enzim mananase

mengalami kesukaran untuk menembus dinding sel BIKS. Tabel 2 menunjukkan bahwa setiap substrat yaitu LBG, BIKS dan umbi porang memiliki kandungan serat kasar yang berbeda-beda. BKIS memiliki kadar serat kasar yang terbesar yaitu 18.35%, selanjutnya umbi porang (11.52%) dan LBG (3%).

Perlakuan pH dan suhu berpengaruh terhadap aktivitas enzim mananase hal ini dapat terlihat pada *Streptomyces cyaneus* dengan mengkondisikan sesuai dengan pH dan suhu optimum nya yaitu pH 8 dan suhu 50 °C maka aktivitas mananase meningkat dari 0.702 U/mL menjadi 1.706 U/mL. hal yang sama terjadi pada *Streptomyces violascens* BF 3.10 dikondisikan dengan pH dan suhu optimum nya yaitu pH 6 dan suhu 70 °C maka aktivitasnya meningkat dari 0.981 U/mL menjadi 16.38 U/mL serta waktu inkubasi menjadi lebih singkat dari 144 jam menjadi 72 jam. Selain itu agitasi berpengaruh terhadap meningkatnya aktivitas mananase pada *Bacillus subtilis* dengan perlakuan agitasi 200 rpm maka aktivitasnya meningkat dari 15.64 U/mL menjadi 37.7 U/mL selain itu waktu inkubasinya menjadi lebih singkat dari 96 menjadi 24 jam (Tabel 1).

Aktivitas mananase dari 20 isolat yang ada di Indonesia menunjukkan bahwa Isolat SM-1.4 (*Bacillus* sp) memiliki aktivitas tertinggi yaitu 119,44 U/mL dan aktivitas spesifik 19.55 U/mg dengan waktu inkubasi 48 jam. Hal ini menunjukkan bahwa kedepan isolat ini potensial sebagai penghasil mananase. Terlihat dari nilai aktivitas spesifik isolat ini dari 1 milligram enzim (protein) menghasilkan aktivitas 19.55 unit paling tinggi dibanding dengan isolate yang lain. Aktivitas spesifik akan sebanding dengan tingkat kemurnian enzim (Tabel 1).

Tabel 1 Perbandingan aktivitas enzim mananase dari berbagai mikroorganisme di Indonesia

No	Mikroorganisme	waktu inkubasi (jam)	Aktivitas (U/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)	Substrat	Literatur
1	Isolat 5	18	0.039	0.045	bungkil inti sawit	(Rahayu WP 2013)
		54	0.051	0.070	bungkil inti sawit	
2	Isolat 6	30	0.041	0.105	bungkil inti sawit	(Rahayu WP 2013)
		66	0.058	0.120	bungkil inti sawit	
3	Isolat SM-1.4 (<i>Bacillus</i> sp)	48	119,440	19.550	locus bean gum	(Harnentis et al. 2013)
4	<i>Aspergillus niger</i> NRRL 337	96	0.102	0.450	bungkil inti kelapa	(Yopi et al. 2006)
5	<i>Eupenicillum javanicum</i> BS4	96	0.088	0.436	bungkil inti kelapa	(Yopi et al. 2006)
6	<i>Streptomyces lipmanii</i>	96	0.032	0.208	bungkil inti kelapa	(Yopi et al. 2006)
7	<i>Saccharopolyspora flava</i>	96	0.133	0.555	bungkil inti kelapa	(Yopi et al. 2006)
8	<i>Bacillus Pumilus</i>	72	4.200	4.000	locus bean gum	(Yusuf AI, 2012)
9	<i>Streptomyces cyaeus</i>	hari ke2	0.702	-	locus bean gum	(Purnawan 2013)
			1.706 ^a	-		
10	<i>Streptomyces</i> sp. GALUR 45I-3	2 hari	0.0107 (0.179 nkat/ml)	0.064 (1.065nkat/mg)	locust bean gum	(Ambarawati 2005)
		4 hari	0.003 (0.051 nkat/ml)	0.022 (0.367nkat/mg)	bungkil kelapa	
11	<i>Bacillus subtilis</i>	96	15,640	-	Porang	(Nugraha IP 2014)
		24	37.700 ^b	-	Porang	
12	Isolat W6	96	0.0265	-	locust bean gum	(Asyariyah L 2014)
13	Isolat RA 05	32	0.1776 (2.96±0.7nkat/ml)	6.120 (102±0.7nkat/mg)	locust bean gum	(Meryandini et al. 2008)
			0.576 (9.60±1 nkat/ml)	6.3 00 (105±1.7nkat/mg)	bungkil kelapa	
			0.000	0.000	kolang kaling	
14	<i>Bacillus pumilus</i>	24	0.000079	0.0002	locust bean gum	(Aurora DD 2003)
15	<i>Streptomyces violascens</i> BF 3.10	144	0.981	-	locust bean gum	Safitri AH 2014
		72	16.380 ^c	-		
16	<i>Bacillus subtilis</i>	48	20.978	-	locust bean gum	(Ramadana RM 2014)
17	<i>Streptacidiphilus luteoalbus</i>	69	0.217	0.190	locust bean gum	(Sefitono H 2008)
18	<i>Streptomyces purpurances</i>	72	0.328	1.064	locust bean gum	(Setiangningrum K 2009)
19	<i>Geobacillus stearothermophilus</i> L-07	48	0.750	3.100	locust bean gum	(Sumardi 2005)
20	isolat Pari 3	48	2,474	-	locust bean gum	(Djohan AC 2012)

Ket:

a= pada pH 8 dan suhu 50 °C ; b= agitasi 200 rpm ; c=pada pH 6 suhu 70 °C

Tabel 2 Hasil analisis proksimat dari BIKS, umbi porang, dan LBG

Jenis Analisis (%)	Sampel		
	BIKS	Umbi porang	LBG
Kadar air	6,67	8,50	12,00
Kadar abu	3,96	8,61	0,80
Lemak	10,26	0,97	1,00
Protein	16,10	13,92	6,00
Serat Kasar	18,35	11,52	3,00

Sumber: Purnawan (2013)

Peran Enzim Mananase dalam Industri Pangan

Penelitian mengenai potensi mikroorganisme penghasil enzim yang bermanfaat bagi kehidupan manusia (*enzyme bioprospecting*) merupakan penelitian yang penting dibidang mikroorganisme dan enzim. Kebutuhan pasar enzim dunia akan penggunaan enzim sangat tinggi hal ini terlihat pada tahun 2004 mencapai 2 milyar dollar USD (20 trilyun rupiah) serta akan mengalami kenaikan setiap tahunnya sebesar 3.3 % (Oetomo 2012).

Enzim industrial yang dibutuhkan dalam jumlah tinggi adalah enzim hidrolitik yaitu mencapai 80%, enzim hidrolitik berperan dalam memecah molekul kompleks menjadi lebih sederhana. Enzim mananase termasuk kedalam enzim hidrolitik dalam menghidrolisis manan. Penelitian yang saat ini menarik untuk dilakukan adalah mengenai bioprospecting mikroorganisme penghasil enzim mananase (Oetomo 2012). Enzim β -mananase yang dihasilkan oleh *Bacillus lentus*. saat ini secara komersial telah dipasarkan (Wu *et al.* 2005).

Indonesia memiliki sumber biomasa yang melimpah. Menurut Purnawan (2013) manan banyak terdapat dalam biomassa bungkil inti kelapa sawit, bungkil kelapa, biji kopi dan lainnya. Selain itu, manan juga terdapat pada jenis umbi porang (*Amorphophallus muelleri blume*), sejenis dengan umbi konjak (*Amorphophallus konjac*). Berbagai biomasa yang mengandung polisakarida kompleks mampu didegradasi dengan bantuan enzim mananase menjadi mano-oligosakarida dan manosa. Oleh karena itu enzim ini dibutuhkan diberbagai industri

seperti pangan, pakan, deterjen dan industri pulp dan kertas.

Potensi enzim mananase dalam industri pangan belum banyak dimanfaatkan. Enzim ini dapat menghasilkan produk berupa manooligosakarida yang termasuk oligosakarida. Oligosakarida berperan sebagai pangan fungsional karena merangsang pertumbuhan mikroflora pada saluran pencernaan seperti *bifidobacterium* (bakteri bifidus) dan *lactobacillus* sehingga menjaga keseimbangan mikroflora dalam inang. Selain itu oligosakarida berperan dalam mengatur regulasi kadar gula darah dan kolesterol serta meningkatkan penyerapan mineral.

Industri pangan yang telah mengaplikasikan enzim mananase adalah perusahaan Ajinomoto General foods dengan mengembangkan paten bagi produk kopi yang mengandung manooligosakarida. Manooligosakarida ini diperoleh dari penguraian manan yang ada pada ampas kopi (Toeda 2002). Manooligosakarida yang berasal dari biji kopi efektif dalam menurunkan berat badan. Manooligosakarida dari biji kopi yang masuk kedalam saluran pencernaan akan menuju usus besar tanpa dicerna terlebih dahulu. Manooligosakarida tersebut pada usus besar akan dicerna menjadi sakarida rantai pendek yang bermanfaat bagi pertumbuhan bakteri positif. Selain itu adanya manooligosakarida diduga berperan meningkatkan sistem kekebalan tubuh serta menurunkan peluang terikatnya bakteri pathogen seperti *Salmonella enteriditis* dan *E.coli* pada sel hal ini karena strukturnya mirip dengan sakarida yang ada dipermukaan sel makhluk hidup (Purnawan 2013).

Potensi manooligosakarida kedepannya sebagai pangan fungsional dalam industri pangan. Aplikasinya pada berbagai produk seperti cookies, coklat, permen, minuman ringan dan sebagainya. Penelitian Naganagouda K (2009) menunjukkan bahwa produk manooligosakarida yang dari *Aspergirus niger* tidak menghasilkan toksin, termasuk *generally recognized as safe* (GRAS), dan aman bagi industri pangan

KESIMPULAN

Enzim mananase akan memainkan peran yang penting di bidang Industri pangan. Berbagai kajian mengenai beberapa sumber enzim mananase di Indonesia menunjukkan bahwa Isoalat SM-1,4 (*Bacillus* sp) mempunyai nilai aktivitas yang paling tinggi yaitu 119.44 U/ml dan aktivitas spesifik 19.55 U/mg. Tingginya nilai aktivitas isolat SM-1,4 (*Bacillus* sp) merupakan potensi dalam memproduksi mananase. Mananase ini akan bermanfaat untuk menghasilkan probiotik seperti manooligosakarida.

DAFTAR PUSTAKA

- Adebayo-Tayo B, Elelu T, Akinola G, Oyinloye I. 2013. Screening and production of mannanase by *Bacillus* strains isolated from fermented food condiments. *Innovative Romanian Food Biotechnology* 13: 53-62.
- Ambarwati D. 2005. *Karakterisasi mananase Streptomyces sp. Galur 45I-3* [skripsi yang tidak dipublikasi pada Institut pertanian Bogor].
- Asyariyah L. 2014. *Produksi prebiotik manooligosakarida (mos) serta pengujiannya terhadap pertumbuhan Salmonella sp. dan Pediococcus pentosaceus.* [skripsi yang tidak dipublikasi pada Institut pertanian Bogor].
- Aurora.2003. *Isolasi dan karakterisasi enzim mananase Bacillus pumilus DYP-2.* [skripsi yang tidak dipublikasi pada Institut pertanian Bogor].
- Bintang M. 2010. *Biokimia : Teknik Penelitian.* 12th ed. Jakarta. Erlangga.
- Djohan AC.2012. *Isolasi dan identifikasi bakteri manolitik laut dari pulau pari.* [tesis yang tidak dipublikasi pada Institut pertanian Bogor].
- Duffaud GD *et al.* 1997. Purification and characterication of extremely thermostable β Mannanase, β -Mannosidase, and α -Galactosidase from the hyperthermophilic *Eubacterium Thermotoga neapolitana* 5068. *Applied and Environ Microbiol* 63: 169-177.
- Harnentis, Marlida Y, RizalY dan Mahata ME. 2013. Isolation, characterization and production of mannanase from *Thermophilic Bacteria* to increase the feed quality. *Pakistan Journal of Nutrition* 12 (4): 360-364.
- Malgas S, van Dyk JS, Pletschke BI. 2015. A review of the enzymatic hydrolysis of mannans and synergistic interactions between b-mannanase, b-mannosidase and a-galactosidase *World J Microbiol Biotechnol* 31:1167–1175.
- Meryandini A, Anggreandari R, Rachmania N. 2008. Isolasi bakteri mananolitik dan karakterisasi mananasenya. *Biota*.13 (2):82-88
- Moreira LRS, Filho EX F. 2008. An overview of mannan structure and mannan-degrading enzyme systems. *Appl Microbiol Biotechnol* 79 : 165–178.
- Nugraha IP. 2014. Optimasi produksi enzim mananase dari bakteri laut *Bacillus subtilis* dengan substrat biomassa manan [skripsi yang tidak dipublikasi pada Institut pertanian Bogor].
- Naganagouda, K, Salimath PV ,dan Mulimani VH. 2009. Purification and characterization of Endo- β -1,4 mannanase from *Aspergillus niger* gr for application in food processing industry. *J. Microbiol. Biotechnol* 19(10): 1184–1190.
- Oetomo EG, 2012 *Karakterisasi enzim dan kloning gen penyandi Mananase dari Bacillus subtilis asal tempe* [tesis yang tidak dipublikasi pada Institut pertanian Bogor].
- Purnawan A. 2013. Hidrolisis karbohidrat manan (bungkil inti kelapa sawit) dengan enzim mananase dari *Streptomyses cyaeus* untuk menghasilkan oligosakarida [tesis yang tidak dipublikasi pada Institut pertanian Bogor].
- Ramadana RM. 2014. Kondisi optimum untuk produksi enzim mananase ekstraseluler dari *Bacillus subtilis* yang diisolasi dari air laut bali. [skripsi yang tidak dipublikasi pada Institut pertanian Bogor].
- Rahayu WP.2013. *Isolasi dan pencirian bakteri mananolitik pendegradasi*

- bungkil inti sawit*. [skripsi yang tidak dipublikasi pada Institut Pertanian Bogor].
- Setianingrum K. 2009. *Pemurnian dan Karakterisasi Mananase Ekstraseluler Streptomyces purpurascens*. [tesis yang tidak dipublikasi pada Institut pertanian Bogor].
- Seftiono H.2008. *Pemurnian dan karakterisasi mananase dari Streptacidiphilus luteoalbus*. [skripsi yang tidak dipublikasi pada Institut pertanian Bogor].
- Sigres DP, Sutrisno A. 2015. Enzim mananase dan aplikasi di bidang industri : kajian pustaka *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 3: 899-908
- Sumardi.2005. *Isolasi, karakterisasi dan produksi β -Mananase ekstraseluler dari Geobacillus stearothermophilus L-07* [disertasi yang tidak dipublikasi pada Institut pertanian Bogor].
- Toeda K. 2002. Mananase, microorganism capable for producing and methods of producing. Patent Japan 2002-65257.
- Williams, Wilkins. 1996. *Biokimia Kedokteran Dasar: Sebuah Pendekatan Klinis*. Pendit BU, penerjemah; Suyono J, Sadikin V, Mandera LI, editor. Jakarta (ID): EGC. Terjemahan dari: *Basic Medical Biochemistry: A Clinical Approach*. Ed ke-1.
- Wu G, Bryant MM, Voitle RA, Roland DA Sr. 2005. Effects of β -Mannanase in corn-soy diets on commercial leghorns in second-cycle hens. *Poultry Science* 84: 894-897.
- Yusuf AI. 2012 *Purifikasi parsial dan karakterisasi enzim mananase dari Bacillus pumilus* [tesis yang tidak dipublikasi pada Institut pertanian Bogor].