



**PRODUKSI MANOOLIGOSAKARIDA DARI BUNGKIL
KOPRA MENGGUNAKAN MANANASE
Streptomyces sp. BF 3.1**

ARIANDI



**SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2014**

© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA*

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis berjudul Produksi Manooligosakarida dari Bungkil Kopro Menggunakan Mananase *Streptomyces* sp. BF 3.1 adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Agustus 2014

Ariandi
NIM P051120101

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



RINGKASAN

ARIANDI. Produksi Manooligosakarida dari Bungkil Kopra Menggunakan Mananase *Streptomyces* sp. BF 3.1. Dibimbing oleh ANJA MERYANDINI dan YOPI.

Indonesia merupakan produsen kopra terbesar kedua di dunia. Prediksi produksi bungkil kopra Indonesia akan meningkat 520.000 ton (3.2%) dari 1.56 menjadi 1.58 juta ton pada tahun 2013. Bungkil kopra (*copra meal*) merupakan produk samping dari proses ekstraksi minyak kelapa yang tersedia dalam jumlah yang sangat banyak dan harganya cukup kompetitif. Bungkil kopra mengandung 60-70% karbohidrat yang terdiri atas beta-manan. Hidrolisis bungkil kopra oleh enzim mananase lebih mudah dan ekonomis untuk produksi manooligosakarida.

Prebiotik manooligosakarida merupakan bahan makanan non-cerna (*non-digestible food*) yang sangat menguntungkan dalam mempengaruhi mikrobiota usus dengan stimulasi selektif terhadap pertumbuhan dan aktivasi satu atau sejumlah bakteri dalam usus. Beberapa peneliti telah memproduksi enzim mananase dari berbagai jenis aktinomisetes dari kelompok *Streptomyces* dan *Actinobacteria*. Aktinomisetes memiliki keragaman genetik dan biokimia, sehingga perlu diidentifikasi potensi isolat dalam menghasilkan enzim mananase yang dapat digunakan untuk menghasilkan prebiotik manooligosakarida dari bungkil kopra. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kondisi optimum enzim mananase *Streptomyces* sp. BF 3.1 dalam menghidrolisis bungkil kopra dan menganalisis produk manooligosakarida yang dihasilkan dengan kromatografi lapis tipis dan kromatografi cair kinerja tinggi.

Secara garis besar penelitian ini diawali dengan melakukan skrining delapan isolat aktinomisetes menggunakan media manan yang mengandung 0.5% bungkil kopra. Satu isolat potensial dengan aktivitas enzim mananase tertinggi dipilih untuk dikarakterisasi lebih lanjut. Karakterisasi yang dilakukan meliputi profil pH, suhu dan stabilitas enzim. Hasil karakterisasi enzim menjadi informasi penting bagi kondisi optimum enzim dalam menghidrolisis bungkil kopra menjadi produk manooligosakarida. Hasil produk hidrolisis dianalisis kadar gula reduksi, gula total dan derajat polimerisasinya, kemudian untuk menentukan jenis produk manooligosakarida dilakukan analisis kromatografi lapis tipis dan kromatografi cair kinerja tinggi.

Isolat aktinomisetes yang terpilih sebagai bakteri potensial penghasil mananase adalah *Streptomyces* sp. BF 3.1 yang dikulturkan pada media bungkil kopra menghasilkan aktivitas tertinggi sebesar 0.98 U/mL dengan waktu inkubasi 120 jam. Enzim mananase *Streptomyces* sp. BF 3.1 dapat bekerja optimum pada pH 6, suhu 70 °C dan tetap stabil selama 24 jam pada suhu 4 °C dan 30 °C. Hidrolisis enzimatik bungkil kopra dilakukan dengan tiga variasi konsentrasi substrat, yaitu 1%, 5% dan 10%. Konsentrasi gula reduksi mengalami peningkatan pada jam ke-1 hingga jam ke-5 dan menurun drastis pada jam ke-24 pada semua konsentrasi substrat dan konsentrasi gula total cenderung konstan. Nilai DP yang didapatkan berkisar 2-7.

Hasil kromatografi lapis tipis menunjukkan bahwa enzim mananase mampu menghidrolisis bungkil kopra pada semua konsentrasi (1%, 5%, 10%) dengan waktu inkubasi selama 5 jam dapat menghasilkan beragam produk

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritikan atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

Bogor Agricultural University



manooligosakarida berupa manobiosa, manotriosa, manotetrosa, manopentosa, dan manohexosa, kecuali pada jam ke-24 hanya menghasilkan manopentosa dan manohexosa. Kondisi optimum hidrolisis adalah konsentrasi bungkil kopra 10% dengan waktu inkubasi 5 jam mampu menghasilkan produk manooligosakarida yang beragam dan gula reduksi tertinggi sebesar 3.83 mg/mL. Hasil analisis kromatografi cair kinerja tinggi menunjukkan hasil yang sama dengan kromatografi lapis tipis.

Uji prebiotik manooligosakarida dari bungkil kopra yang dilakukan pada bakteri *Pediococcus pentosaceus* E.2211 menggunakan media MRS substitusi prebiotik menunjukkan koloni bakteri dapat tumbuh dengan baik. *Pediococcus pentosaceus* E.2211 mampu memanfaatkan prebiotik manooligosakarida dari bungkil kopra sebagai sumber karbon. Pengujian manooligosakarida pada bakteri patogen menunjukkan menurunnya jumlah koloni *Salmonella* sp. pada generasi dua. Hal ini mengindikasikan *Salmonella* sp. tidak dapat memanfaatkan prebiotik manooligosakarida sebagai sumber karbon tetapi tetap dapat tumbuh pada media LB prebiotik disebabkan masih terdapat gula monomer (glukosa) yang berasal dari hasil hidrolisis bungkil kopra.

Kata kunci: Bungkil kopra, mananase, manooligosakarida, *Streptomyces* sp.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



SUMMARY

ARIANDI. Production of Mannooligosaccharides from Copra Meal by Mannanase *Streptomyces* sp. BF 3.1. Supervised by ANJA MERYANDINI and YOPI.

Indonesia is the world's second largest producer of copra. Indonesian copra meal production were predicted to be increased 520.000 tons (3.2%) from 1.56 to 1.58 billion tons in 2013/2014. Copra meal is coconut residual cake are discharged as a byproduct in the process of oil extraction which is abundantly available and has a quite competitive price. Copra meal contains 60-70% mannan which was discarded as a byproduct. The hydrolysis of copra by mannanase is easier and economical for preparation of mannooligosaccharides.

Mannooligosaccharides prebiotics (MOS) are non-digested foodstuffs oligosaccharides which highly beneficial in influencing the intestinal microbiota by selectively stimulating the growth and activation of one or a number of bacteria in the gut. The diversity and production of mannanases by various species of the actinomycetes from the streptomycetes group and actinobacteria group. Actinomycetes have genetic and biochemical diversity, therefore it would necessary to identify its potential to produce mannanase that can be used to produce prebiotic mannooligosaccharides from copra meal. This study determine the optimum conditions of enzyme mannanase *Streptomyces* sp. BF 3.1 to hydrolyze copra meal and analyze product mannooligosaccharides by thin layer chromatography and high performance liquid chromatography.

The outline this research was initiated by screening of of eight isolates of actinomycetes using mannan medium containing 0.5% copra meal. One potential isolates with the highest enzyme activity mannanase selected to characterized. Characterization was conducted on the pH profile, temperature and enzyme stability. The results of enzyme characterization be important information for optimum conditions enzymatic hydrolysis of copra meal for production mannooligosaccharides. The results of the hydrolysis products were analyzed concentrations of reducing sugars, total sugars and the degree of polymerization, and then to determine the type of product mannooligosaccharides analyzed thin layer chromatography and high performance liquid chromatography.

Actinomycetes isolates were selected as potential bacteria producing mannanase was *Streptomyces* sp. BF 3.1 cultured in media copra meal yield the highest activity of 0.98 U/mL with an incubation time of 120 hours. Enzymes mannanase *Streptomyces* sp. BF 3.1 optimum at pH 6, temperature 70 °C and remained stable for 24 hours at 4 °C and 30 °C. Enzymatic hydrolysis copra meal conducted with three variations of the substrate concentration is 1%, 5% and 10%. Reducing sugar concentration increased at the 1 hours to 5 hours and declined rapidly in the 24 hours on all substrate concentrations and total sugar concentration is relatively constant. DP values obtained range from 2-7.

The results of thin layer chromatography showed that the enzyme mannanase was able hydrolyze copra meal at all concentrations (1%, 5%, 10%) with an incubation time of 5 hours could produce a variety of products mannooligosaccharides including mannobiose, mannotriose, mannotetrose, mannopentose and mannoheksose, except on only 24 hours to produce

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritikal atau tinjauan suatu masalah.
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



mannopentose and mannoheksose. The optimum conditions of hydrolysis is 10% copra meal concentration with incubation time of 5 hours was able produce a variety of products mannoooligosaccharides and the highest reducing sugar of 3.83 mg/mL. The results of high performance liquid chromatography analysis showed similar results with thin layer chromatography.

Test prebiotic mannoooligosaccharides of copra meal were performed in bacteria *Pediococcus pentosaceus* E.2211 using MRS medium substitution prebiotics showed bacterial colonies can grow properly. *Pediococcus pentosaceus* 2211 able to utilize prebiotic mannoooligosaccharides of copra meal as a source carbon. While testing mannoooligosaccharides on pathogenic bacteria, decrease the number of colonies of *Salmonella* sp. the second generation. It indicates *Salmonella* sp. can not utilize of prebiotic mannoooligosaccharides as a carbon source but can grow on LB prebiotic medium because there were sugars monomers (glucose) derived from the hydrolysis of copra meal.

Keywords: Copra meal, mannanase, mannoooligosaccharides, *Streptomyces* sp.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.

© Hak Cipta Milik IPB, Tahun 2014
Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah; dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB



PRODUKSI MANOOLIGOSAKARIDA DARI BUNGKIL KOPRA MENGGUNAKAN MANANASE *Streptomyces* sp. BF 3.1

ARIANDI

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister Sains
pada
Program Studi Bioteknologi

**SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2014**

© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Pengujian Luar Komisi pada Ujian Tesis: Dr Laksmi Ambarsari, MS

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Judul : Produksi Manooligosakarida dari Bungkil Kopra Menggunakan
Mananase *Streptomyces* sp. BF 3.1
Nama : Ariandi
NIM : P051120101

Disetujui oleh
Komisi Pembimbing

Prof Dr Anja Meryandini, MS
Ketua

Dr Yopi
Anggota

Diketahui oleh

Ketua Program Studi
Bioteknologi

Prof Dr Ir Suharsono, DEA

Dekan Sekolah Pascasarjana



Dr Ir Dahruul Syah, MScAgr

Tanggal Ujian: 21 Agustus 2014

Tanggal Lulus: 05 SEP 2014

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah *Subhanahu Wa ta'ala* atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Shalawat dan salam selalu tercurahkan kepada Rasulullah SAW. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan Oktober 2013 sampai Maret 2014 ini ialah Prebiotik Manooligosakarida, dengan judul Produksi anooligosakarida dari Bungkil Kopro Menggunakan Mananase *Streptomyces* sp. F 3.1.

Terima kasih penulis sampaikan kepada Prof Anja Meryandini selaku ketua komisi pembimbing dan Dr Yopi selaku anggota atas bimbingan, arahan, kritik dan saran dalam menyelesaikan penelitian ini. Terima kasih penulis sampaikan kepada Dr Laksmi Ambarsari yang telah menjadi dosen penguji dan Dr Nisa Achmania M selaku perwakilan program studi Bioteknologi dalam sidang tesis atas masukan dan ilmu selama penulis melakukan studi.

Ucapan terima kasih dan penghormatan penulis ucapkan kepada kedua orang tua tercinta, Manda dan Muliati atas doa, dukungan dan kasih sayang tak terhingga, kakak terhebat Arfian, Yusri M Yafid, adikku Reski Amalia, Afrisaldi, nenek tercinta Indo Kecce atas perhatian, dukungan dan motivasinya, keponakan terhebat Muhammad Zafran Riskillah, serta seluruh keluarga di Impa-Impa atas segala dukungannya.

Penghargaan penulis juga ucapkan kepada Azizah Hikma Safitri, Wida Alupi, dan Muhammad Nur Kholis selaku teman seperjuangan dalam tim penelitian, seluruh staf dan keluarga Laboratorium Biokatalis dan Fermentasi, Mba Lia, Mba Nani, Pak Awan, Mbak Alif, Mas Diki, Mba Gading, Ade, Ayun dan Bu Dewi selaku teknisi Laboratorium Mikrobiologi dan Biokimia, PPSHB Institut Pertanian Bogor yang telah memberikan bimbingan, fasilitas dan pelayanan dalam kegiatan penelitian.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada para pejuang kosan Andika House Kav.2 Sunardi, Rizaldi, Lukman, Yozar, Kak Syamdi, sahabat biologi UNM 07 Adry, Ummink, Fara, Nelsi, Baso, Ino dan seluruh rekan-rekan Bioteknologi 2012, terima kasih atas cerita indahny semoga silaturahmi kita selalu terjaga, serta semua pihak yang tidak dapat penulis tuliskan satu persatu yang telah memberikan bantuannya.

Penulis mengharapkan saran dan kritik membangun yang berguna dalam pelaksanaan penelitian ini. Besar harapan penulis agar usulan tesis ini bermanfaat bagi semua pihak yang membutuhkan.

Bogor, Agustus 2014

Ariandi

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritikan atau tinjauan suatu masalah.
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



DAFTAR ISI

| | |
|---|----|
| DAFTAR TABEL | xi |
| DAFTAR GAMBAR | xi |
| DAFTAR LAMPIRAN | xi |
| 1 PENDAHULUAN | 1 |
| Latar Belakang | 1 |
| Tujuan Penelitian | 2 |
| Manfaat Penelitian | 2 |
| METODE | 3 |
| Waktu dan Tempat | 3 |
| Bahan dan Alat | 3 |
| Metode | 3 |
| HASIL DAN PEMBAHASAN | 8 |
| Analisis Kualitatif Isolat Aktinomisetes | 8 |
| Penapisan dan Pemilihan Isolat Aktinomisetes | 8 |
| Optimasi Waktu Produksi | 9 |
| Karakterisasi Enzim Mananase | 10 |
| Hidrolisis Enzimatik Bungkil Kopro | 11 |
| Analisis Produk Manooligosakarida | 12 |
| Uji Pengaruh Prebiotik terhadap Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat dan Bakteri Patogen | 13 |
| Pembahasan | 14 |
| 4 SIMPULAN DAN SARAN | 17 |
| Simpulan | 17 |
| Saran | 17 |
| DAFTAR PUSTAKA | 18 |
| LAMPIRAN | 22 |
| WAWAYAT HIDUP | 24 |

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

DAFTAR TABEL

| | | |
|---|--|----|
| 1 | Derajat polimerisasi hasil hidrolisis bungkil kopra konsentrasi 1%, 5%, dan 10% dalam 10 mL supernatan enzim (1.87 U/mL), suhu inkubasi 30 °C | 12 |
| 2 | Uji prebiotik manooligosakarida bungkil kopra pada bakteri asam laktat <i>Pediococcus pentosaceus</i> E.2211 dengan waktu inkubasi selama 48 jam pada suhu 37 °C | 14 |
| 3 | Uji prebiotik manooligosakarida bungkil kopra pada bakteri patogen <i>Salmonella</i> sp. dengan waktu inkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C | 14 |

DAFTAR GAMBAR

| | | |
|---|---|----|
| 1 | Pertumbuhan dan zona bening isolat BF 3.1 | 8 |
| 2 | Grafik aktivitas enzim mananase tiga isolat potensial | 9 |
| 3 | Analisis kromatografi lapis tipis hasil hidrolisis substrat LBG dengan enzim ekstrak kasar isolat BF 3.1 | 9 |
| 4 | Pengukuran pertambahan biomassa sel dan aktivitas enzim ekstrak kasar mananase isolat <i>Streptomyces</i> sp. BF 3.1 | 10 |
| 5 | Karakterisasi enzim ekstrak kasar mananase <i>Streptomyces</i> sp. BF 3.1 | 10 |
| 6 | Stabilitas enzim ekstrak kasar mananase isolat <i>Streptomyces</i> sp. BF 3.1 | 11 |
| 7 | Profil hasil kromatografi lapis tipis enzim sebelum dan setelah didialisis | 11 |
| 8 | Analisis kromatografi lapis kertas hasil hidrolisis bungkil kopra dengan enzim ekstrak kasar <i>Streptomyces</i> sp. BF 3.1 | 12 |
| 9 | Hasil analisis hidrolisis bungkil kopra 10% dengan waktu inkubasi 5 jam menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi | 13 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | | |
|---|---|----|
| 1 | Zona bening delapan isolat aktinomisetes | 21 |
| 2 | Komposisi media MRS, MRS minimal, MRS substitusi prebiotik, LB, LB minimal, dan LB substitusi prebiotik | 22 |

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

1 PENDAHULUAN

Latar Belakang

Indonesia merupakan produsen kopra terbesar kedua di dunia. Prediksi produksi bungkil kopra Indonesia akan meningkat 520.000 ton (3.2%) dari 1.56 menjadi 1.58 juta ton pada tahun 2013/2014 (USDA 2013). Bungkil kopra (*copra meal*) merupakan produk samping dari proses ekstraksi minyak kelapa yang tersedia dalam jumlah yang sangat banyak dan harganya cukup kompetitif (Sundun Dingle 2003). Bungkil kopra memiliki potensi besar sebagai sumber karbohidrat dan protein, namun tidak dapat sepenuhnya dimanfaatkan sebagai bahan pakan hewan monogastrik (Mendoza *et al.* 1994). Keterbatasan pemanfaatan bungkil kopra disebabkan oleh tingginya kadar polisakarida non-pati (*urwadaria et al.* 1995), oleh karena itu perlu pengelolaan bungkil kopra menjadi plemen pakan ternak.

Degradasi bungkil manan dapat menghasilkan sejumlah manooligosakarida yang berfungsi sebagai komponen pangan fungsional untuk dijadikan sebagai prebiotik (Yopi *et al.* 2006). Bungkil kopra mengandung 60-70% karbohidrat yang terdiri atas beta-manan. Bungkil kopra juga mengandung 40-50% laktomanan dengan rasio galaktosa:manan = 1:14 (Regalado *et al.* 2000). Park (2008) melaporkan bahwa hidrolisis bungkil kopra oleh mananase lebih mudah dan ekonomis untuk persiapan manooligosakarida.

β -manan merupakan polimer manosa dengan ikatan β -1,4. Struktur ini dapat dihidrolisis menjadi manooligosakarida oleh mikroorganisme yang memproduksi mananase. Apabila polimernya tersusun antara manosa dan glukosa dengan ikatan β -1,4 maka dinamakan glukomanan, contohnya pada umbi konjak, sedangkan glukomanan yang memiliki gugus samping galaktosa melalui ikatan α -1,6 dinamakan galaktoglukomanan (Rattanasuk dan Cairns 2009) dan polimer yang tersusun atas unit β -1,4 manosa dan α -1,6 unit galaktosa dinamakan galaktomanan, contohnya pada kopra kelapa (Phothichitto *et al.* 2006).

Prebiotik manooligosakarida merupakan bahan makanan non-cerna (*non-digestible food*) yang sangat menguntungkan dalam mempengaruhi mikrobiota usus dengan stimulasi selektif terhadap pertumbuhan dan aktivasi satu atau sejumlah bakteri dalam usus (Gibson *et al.* 2004). Pemanfaatan bungkil kopra untuk menghasilkan prebiotik manooligosakarida diharapkan dapat berguna untuk meningkatkan kinerja metabolisme dan pertumbuhan hewan. Manooligosakarida telah dilaporkan merupakan nutrisi khusus atau promotor pertumbuhan probiotik.

Bungkil kopra kaya manooligosakarida (MOS) yang dapat bertindak sebagai prebiotik untuk mikroba rumen dan berdampak tidak langsung dalam meningkatkan produksi susu ruminansia (Moorthy dan Viswanathan 2009). Produk MOS digunakan pada industri makanan dan pakan untuk meningkatkan kinerja dan kesehatan gastrointestinal pencernaan (sebagai prebiotik dan oligosakarida *nondigestible*). MOS sebagai nutrisi tambahan juga dapat meningkatkan jumlah lemak yang dikeluarkan dan mengurangi tekanan darah pada hewan mamalia (Hoshino *et al.* 2008; Kumao *et al.* 2006). MOS dari *morphopallus muelleri* dapat meningkatkan populasi kelompok *lactobacilli* yang uji secara *in vitro* (Dinoto *et al.* 2014) dan prebiotik MOS dari bungkil inti

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

sawit dapat mempengaruhi pertumbuhan *Escherichia coli* patogen dan *Lactobacillus casei*. *E. Coli* tidak dapat menggunakan MOS sebagai sumber karbon dibandingkan *L. casei* (Utami *et al.* 2013).

Beberapa peneliti telah memproduksi enzim mananase dari berbagai jenis aktinomisetes dari kelompok *Streptomyces* yaitu *Streptomyces scabies* CECT 3340, *Streptomyces Ipomoea* CECT 3341 (Montiel *et al.* 1996), *Streptomyces galbus* (Kansoh dan Nagieb 2004), *Streptomyces lividans* (Arcand *et al.* 1993). Bakteri laut *Rhodothermus marinus* menghasilkan enzim mananase termostabil (Politi *et al.* 2000). Kelompok actinobacteria yaitu *Cellulomonas fimi* (Stoll *et al.* 1999) dan *Thermomonospora fusca* KW3 (Hilge *et al.* 1996), kelompok fungi yaitu *Trichoderma reesei* (Clark *et al.* 1997), *Aspergillus niger* NCH-189 (Lin dan Chen 2004), semuanya dapat mendegradasi berbagai jenis substrat yang mengandung manan.

Aktinomisetes memiliki keragaman genetik dan biokimia, sehingga perlu diidentifikasi potensi isolat dalam menghasilkan enzim mananase yang dapat digunakan untuk menghasilkan prebiotik manooligosakarida dari bungkil kopra. Penelitian ini akan menentukan kondisi optimum enzim mananase isolat potensial aktinomisetes dalam menghidrolisis bungkil kopra dan menganalisa produk manooligosakarida yang dihasilkan dengan kromatografi lapis tipis dan kromatografi cair kinerja tinggi.

Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan menapis isolat aktinomisetes yang menghasilkan mananase, karakterisasi mananase dan menganalisis prebiotik manooligosakarida dari bungkil kopra hasil hidrolisis enzim mananase.

Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini yaitu diperolehnya isolat aktinomisetes potensial penghasil enzim mananase dengan aktivitas enzim yang tinggi dan bungkil kopra dapat dijadikan sebagai substrat untuk produksi prebiotik manooligosakarida yang dapat diformulasikan dalam pelet pakan ternak.

2 METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biokatalis dan Fermentasi Bidang Bioproses, Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI Cibinong. Penelitian dilakukan dari Bulan Oktober 2013 sampai dengan Maret 2014.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu delapan isolat aktinomisetes koleksi Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi FMIPA B. Media manan selain mengandung bungkil kopra 0.5% atau *locust bean gum* (LBG) 0.5% juga mengandung ekstrak khamir 0.05%, pepton 0.075%, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.025%, KH_2PO_4 0.2%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.03%, $\text{CO}(\text{NH}_4)_2$ 0.03%, CaCl_2 0.03%, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.0005%, $\text{MnCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.00016%, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.00014, CoCl_2 0.0002%. Bahan-bahan lain berupa aquades, pewarna merah kongo, gliserol 30%, metanol 70%, etanol 96%. Bahan analisis gula adalah reagen *dinitrosalicylic acid* (DNS) terdiri atas DNS, Na_2SO_3 , kalium natrium tartrat (K-Na-tartrat), fenol 5%, asam sulfat pekat, eluen kromatografi lapis tipis (KLT) berupa n-butanol, asam asetat, aquades (2:1:1), larutan DAP (difenilamin, anilin, asam fosfat dan aseton), eluen H_2O dan acetonitril (25:75) untuk kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT).

Alat yang di gunakan dalam penelitian ini adalah alat gelas, tabung reaksi, cawan petri, neraca analitik, vortex, *magnetic stirrer*, *sentrifuge*, mikropipet, termometer, tabung mikro *Eppendorf*, penangas air, pH meter Jenway 3505, *hot stirrer* IKA RH basic 2, *incubator* TAITEC *Bioshaker* BR-23FP, *laminar air flow* Bioclean Bench Sanyo, *autoclave* Tommy SX-500, *spreader*, inkubator bakteri SANYO, Freezer SANYO Ultra low, spektrofotometer UV-VIS, dan set alat *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).

Metode

Persiapan Substrat dan Peremajaan Isolat Aktinomisetes

Biomassa bungkil kopra terlebih dahulu digiling dengan blender kering sehingga diperoleh tepung bungkil kopra dan diseragamkan ukurannya menggunakan ayakan 100 mesh. Peremajaan isolat dilakukan dengan menumbuhkan isolat pada media 0.5% *locust bean gum* (LBG), diinkubasi pada suhu ruang selama 96 jam. Isolat yang telah ditumbuhkan pada media padat LBG tersebut dipindahkan ke media padat bungkil kopra 0.5%. Isolat tersebut akan diuji aktivitas enzimnya secara kualitatif dan kuantitatif.

Uji Kualitatif Aktivitas Enzim Mananase

Uji kualitatif dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri dalam mendegradasi manan. Pengujian dilakukan dengan metode pewarna merah kongo

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritikan atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

1% (Meryandini *et al.* 2008). Masing-masing 1 koloni isolat ditumbuhkan pada media agar-agar yang mengandung 0.5% bungkil kopra, lalu diinkubasi pada suhu ruang selama 4 hari. Pewarna merah kongo diteteskan di atas media dan diinkubasi selama 30 menit. Sisa pewarna merah kongo pada media dicuci dengan larutan NaCl 2 M sebanyak 3 kali setiap 15 menit sehingga zona bening terlihat. Kemampuan mendegradasi manan dapat diketahui dengan mengukur diameter zona bening disekitar koloni isolat bakteri.

Penapisan dan Pemilihan Isolat Aktinomisetes Potensial

Pemilihan isolat aktinomisetes potensial dilakukan dengan menguji aktivitas enzim secara kuantitatif. Isolat potensial ditumbuhkan pada media padat bungkil kopra 0.5% dan diinkubasi selama 4 hari. Kemudian dari cawan diambil masing-masing 1 *corckborer* isolat untuk diinokulasikan kedalam tabung Erlenmeyer yang berisi 100 mL media bungkil kopra 0.5%. Kultur dikocok pada kecepatan 150 rpm pada suhu 30 °C selama 5 hari. Sampel diambil pada jam ke-96, 120 dan 144 sebanyak 5 mL kultur. Sampel kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 8050 xg, selama 10 menit pada suhu 4 °C. Filtrat supernatan digunakan untuk penentuan aktivitas enzim mananase. Isolat yang memiliki aktivitas tertinggi akan diuji enzim ekstrak kasarnya. Sebanyak 0.5% *locus bean gum* dihidrolisis dengan enzim ekstrak kasar. Larutan hidrolisis diinkubasi pada suhu ruang. Setelah inkubasi, enzim dinaktivasi pada suhu 90-100 °C selama 10 menit. Kemudian sampel disentrifugasi pada kecepatan 8050 xg selama 10 menit. Supernatan hasil hidrolisis dianalisis dengan kromatografi lapis tipis untuk melihat produk manooligosakarida yang dihasilkan. Isolat yang memiliki aktivitas enzim mananase tertinggi dan menghasilkan produk manooligosakarida dipilih sebagai isolat potensial.

Penentuan Waktu Optimum Produksi Mananase

Enzim ekstrak kasar mananase diproduksi dengan menggunakan media manan bungkil kopra 0.5%. Prekultur dibuat dengan cara satu *corckborer* isolat diinokulasikan pada Erlenmeyer yang berisi 20 mL media bungkil kopra 0.5%. Prekultur dikocok dengan kecepatan 200 rpm pada suhu ruang selama satu malam. Prekultur diambil sebanyak 60 µL dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer berisi media manan bungkil kopra 0.5% sebanyak 100 mL. Kultur dikocok pada kecepatan 200 rpm suhu 30 °C selama 6 hari. Pemanenan dilakukan setiap hari, kemudian sampel disentrifugasi dengan kecepatan 8050 xg, selama 10 menit pada suhu 4 °C, kemudian filtrat supernatan langsung diuji untuk penentuan aktivitas enzim mananase.

Kurva Pertumbuhan

Kurva pertumbuhan didapat berdasarkan bobot kering biomassa sel. Satu koloni isolat terpilih ditumbuhkan pada media padat bungkil kopra 0.5% selama 4 hari. Prekultur dibuat dengan cara satu *corckborer* isolat diinokulasikan pada

Erlenmeyer yang berisi 20 mL media bungkil kopra 0.5%. Prekultur digoyangkan dengan kecepatan 200 rpm pada suhu 30 °C selama satu malam. Prekultur diambil sebanyak 30 µL dan dimasukkan ke setiap Erlenmeyer berisi media 30 mL mewakili jam 0, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120, dan 144. Kultur dikocok pada kecepatan 200 rpm suhu 30 °C selama 6 hari. Pemanenan sel dilakukan berdasarkan waktu yang telah ditentukan. Biomassa sel disaring dan dikeringkan dalam oven 60 °C hingga kering. Kemudian ditimbang biomasanya untuk selanjutnya diplotkan terhadap waktu inkubasi sehingga diperoleh kurva pertumbuhan.



Pengukuran Aktivitas Mananase

Assay aktivitas mananase dilakukan berdasarkan metode *dinitrosalicylic acid* (DNS) (Miller 1959). Pengukuran jumlah gula yang tereduksi menggunakan substrat LBG 0.5% (dalam 50 mM bufer fosfat pH 6). Sebanyak 250 µL substrat tambahkan 250 µL enzim ekstrak kasar (EEK) dan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 750 µL reagen DNS. Kontrol dibuat dengan cara 250 µL substrat direaksikan dengan 750 µL reagen DNS lalu ditambahkan 250 µL enzim ekstrak kasar. Blanko dibuat dengan suspensikan 500 µL aquades ditambahkan 750 µL DNS. Sampel, kontrol dan blanko dimasukkan dalam penangas dengan suhu 90-100 °C selama 10-15 menit lalu didinginkan dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm. Pembuatan kurva standar dilakukan dengan mereaksikan berbagai konsentrasi manosa dari 0-10 mg/mL. Satu unit aktivitas mananase didefinisikan sebagai jumlah enzim yang diproduksi untuk mereduksi 1 µmol manosa setiap menit berdasarkan kondisi eksperimen.

Pengaruh pH dan Suhu terhadap Aktivitas Enzim Mananase

Penentuan pH optimum dilakukan dengan menguji aktivitas enzim pada pH 3-10 pada suhu ruang. Komposisi pereaksi mengandung 0.5% LBG dalam 0.5 mL bufer pH masing-masing dan 0.5 mL ekstrak kasar enzim yang diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Bufer yang digunakan adalah bufer sitrat 50 mM untuk pH 3-5 (*citric acid + sodium citrate*) dan bufer fosfat 50 mM untuk pH 6-8 (*monobasic sodium phosphate + dibasic sodium phosphate*), dan bufer glisin 50 mM untuk pH 9-10 (Glisin + NaOH)

Penentuan suhu optimum dilakukan dengan menguji aktivitas enzim pada peningkatan suhu 30-100 °C selang 10 °C. Komposisi pereaksi mengandung 0.5% LBG dalam 0.5 mL bufer pH optimum, dan 0.5 mL ekstrak kasar enzim yang diinkubasi dalam penangas sesuai suhu masing-masing selama 30 menit. Pengukuran aktivitas mananase pada berbagai pengaruh pH dan suhu dilakukan menggunakan metode DNS.

Stabilitas Enzim

Stabilitas enzim didapatkan pada tiga kondisi yaitu pada suhu optimum, suhu ruang 30 °C dan suhu 4 °C. Masing-masing enzim ekstrak kasar hasil sentrifus dipisahkan sebanyak 5 mL didiamkan pada suhu optimum, suhu ruang 30 °C, dan suhu 4 °C. Pengamatan dilakukan per jam selama 5 jam dan pada jam ke-24. Aktivitas mananase dihitung berdasarkan gula pereduksi yang terbentuk menggunakan metode Miller (1959). Uji aktivitas dilakukan pada kondisi pH dan suhu optimum enzim.

Hidrolisis Enzimatik Bungkil Kopra

Enzim ekstrak kasar mananase yang akan digunakan dalam proses hidrolisis terlebih dahulu didialisis menggunakan membran selopan dalam bufer fosfat 50 mM pH 6 dengan suhu 4 °C. Hidrolisis enzimatik bungkil kopra dilakukan dengan tiga variasi konsentrasi substrat yaitu 1% (b/v), 5% (b/v) dan 10% (b/v). Masing-masing konsentrasi substrat tersebut dimasukkan dalam 10 mL larutan enzim. Larutan hidrolisis diinkubasi pada suhu ruang 30 °C dan pH optimum enzim. Sampel hidrolisis diambil tiap jam selama 5 jam pertama dan pada jam ke-24. Setelah inkubasi, enzim diinaktivasi pada suhu 90-100 °C selama 20 menit. Kemudian sampel disentrifugasi pada kecepatan 8050 xg selama 10 menit. Supernatan hasil hidrolisis dianalisis gula totalnya dengan metode fenol H₂SO₄, gula pereduksi dengan metode DNS, sehingga dapat diketahui derajat polimerisasinya.

Gula reduksi diukur berdasarkan metode Miller (1959). Supernatan hasil hidrolisis diambil sebanyak 1 mL dan ditambahkan 1.5 mL larutan DNS. Kemudian sampel dipanaskan dalam penangas air dengan suhu 90-100 °C selama 15 menit lalu didinginkan. Selanjutnya absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang 540 nm dan dihitung kadar gula pereduksi berdasarkan kurva standar.

Gula total diukur berdasarkan metode Dubois *et al.* (1956). Supernatan hasil hidrolisis diambil sebanyak 0.5 mL kemudian ditambahkan 0.5 mL larutan fenol 5%. Sampel dihomogenkan dengan cepat kemudian ditambahkan 2.5 mL asam sulfat pekat dan didiamkan selama 10 menit. Sampel dimasukkan kedalam penangas air dengan suhu 40 °C selama 20 menit. Absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang 490 nm dan dihitung kadar gula total berdasarkan kurva standar manosa.

Derajat Polimerisasi

Derajat polimerisasi menyatakan perbandingan antara gula total dengan gula pereduksi dengan rumus hitung sebagai berikut.

$$\text{Derajat Polimerisasi} = \frac{\text{Total Gula (mg/mL)}}{\text{Gula pereduksi (mg/mL)}}$$

Kromatografi Lapis Tipis

Standar yang digunakan adalah galaktosa, glukosa, manosa, manobiosa, manotriosa, manopentosa dan manohexosa dengan masing-masing konsentrasi 1000 ppm. Sebanyak 4 μL sampel hasil hidrolisis dan 3 μL larutan standar ditotolkan pada plat kromatografi lapis tipis (KLT) dengan jarak 4 mm antar sampel, lalu dikeringkan dengan menggunakan *hair dryer* untuk tiap kali penotolan. Plat KLT kemudian dimasukkan ke dalam *chamber glass* yang berisi eluen (n-butanol:asam asetat:akuades dengan perbandingan 2:1:1). Pergerakan eluen diamati hingga batas akhir eluen pada plat. Plat kemudian dikeluarkan dari dalam *chamber glass* dan dibiarkan mengering di dalam lemari asam. Plat disemprot secara merata dengan larutan DAP (0.2 mL difenilamin, 0.2 mL anilin, 0.2 mL aseton dan 1.5 mL asam fosfat) untuk memunculkan noda, kemudian plat diambil dan dikeringkan di dalam lemari asam. Plat yang sudah kering dimasukkan dalam oven suhu 100 °C selama ± 20 menit.

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Sebanyak 1 mL sampel hidrolisis difilter dengan menggunakan *syringe* ke dalam *vial*. Produk manooligosakarida dianalisis menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi dengan kondisi kolom berukuran 250 x 4.6 mm Zorbax SIL dengan *amino propyl silane*, eluen fase gerak ialah asetonitril dan air dengan perbandingan 75:25 (v/v), suhu kolom 30 °C, laju alir 1.4 mL/min dan detektor Agilent Technologies 1200 series *refractive index monitor* (RID). Standar yang digunakan adalah galaktosa, glukosa, manosa, manobiosa, manotriosa, manopentosa dan manohexosa dengan masing-masing konsentrasi 10.000 ppm

Uji Pengaruh Prebiotik terhadap Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat dan Bakteri Patogen

Pengujian prebiotik dilakukan dengan menumbuhkan bakteri uji sebanyak dua generasi. Inokulum *Pediococcus pentosaceus* E.2211 dan *Salmonella* sp. ditumbuhkan secara terpisah dalam 5 mL media cair LB dan MRS lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Setelah itu inokulum disentrifugasi dan dicuci dengan *phosphate buffered saline* (PBS). Pelet dilarutkan dalam PBS sebanyak 1 mL kemudian dilakukan pengenceran bertingkat untuk diinokulasikan pada media padat. Ada enam kelompok perlakuan, yaitu 1. *Pediococcus pentosaceus* E.2211 dengan media MRS minimal; 2. *Pediococcus pentosaceus* E.2211 dengan media MRS yang komponen glukosa disubstitusi dengan prebiotik; 3. *Pediococcus pentosaceus* E.2211 dengan media MRS; 4. *Salmonella* sp. dengan media LB minimal; 5. *Salmonella* sp dengan media LB yang komponen ekstrak khamir disubstitusi dengan prebiotik; 6. *Salmonella* sp. dengan media LB. Setelah inokulum disebar pada masing-masing media, bakteri *Pediococcus pentosaceus* E.2211 diinkubasi selama 48 jam dan bakteri *Salmonella* sp. diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, kemudian dihitung jumlah koloninya dengan metode *total plate count* (TPC).

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

3 HASIL DAN PEMBAHASAN

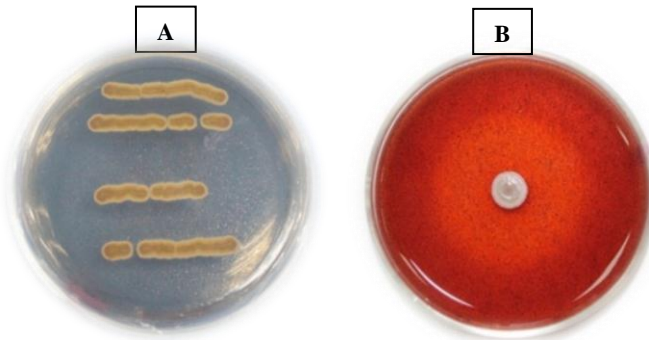
Hasil

Analisis Kualitatif Isolat Aktinomisetes

Delapan isolat aktinomisetes ditumbuhkan pada media *locus bean gum* (LBG) sebagai tahap awal untuk menginduksi produksi enzim mananase. Media LBG mengandung galaktomanan yang dapat dijadikan sumber karbon untuk metabolisme aktinomisetes, selain itu media tersebut diperkaya dengan mineral-mineral untuk menginduksi enzim mananase. Galaktomanan akan dihidrolisis oleh kompleks enzim mananase menghasilkan monomer manosa dan galaktosa. Manosa dan galaktosa tersebut akan digunakan bakteri sebagai sumber karbon dalam proses glikolisis. Manosa juga berperan sebagai inducer untuk menginduksi ekspresi gen mananase.

Aktinomisetes yang telah ditumbuhkan pada media LBG selama lima hari, kemudian ditumbuhkan pada media bungkil kopra. Bungkil kopra digunakan sebagai sumber karbon untuk menggantikan LBG. Aktinomisetes akan beradaptasi untuk memanfaatkan kandungan heteromanan yang terdapat pada bungkil kopra. Aktinomisetes yang memiliki kemampuan memproduksi enzim mananase akan dapat menghidrolisis heteromanan tersebut menjadi oligosakarida dan gula-gula monomer.

Kemampuan isolat aktinomisetes mendegradasi manan secara kualitatif dapat dilihat dari nilai indeks mananolitik hasil uji kualitatif menggunakan pewarnaan merah kongo. Hasil pengamatan menunjukkan isolat yang mampu menghasilkan zona bening pada media padat manan bungkil kopra ialah isolat BF 3.1, BF 3.10, YM 4.2 dengan indeks mananolitik berturut-turut 3.61, 0.79 dan 1.50. Isolat BF 3.1 menghasilkan indeks mananolitik terbesar (Gambar 1). Ketiga isolat tersebut akan diuji aktivitas enzimnya untuk memilih isolat yang paling potensial.



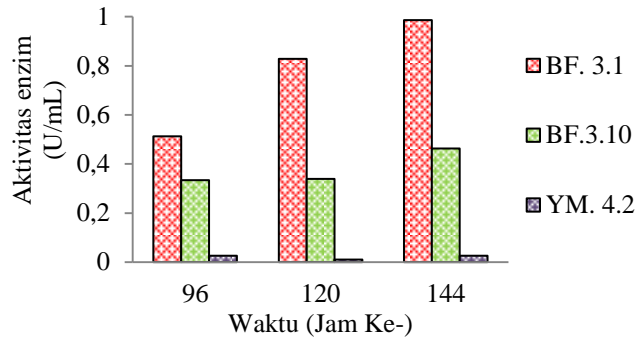
Gambar 1 Pertumbuhan isolat BF 3.1 (A) Hasil peremajaan isolat BF 3.1 pada media padat LBG. (B) Zona Bening isolat BF 3.1 yang ditumbuhkan pada media padat bungkil kopra. Keduanya diinkubasi pada suhu 30 °C selama 4 hari.

Pemilihan dan Pemilihan Isolat Aktinomisetes Potensial

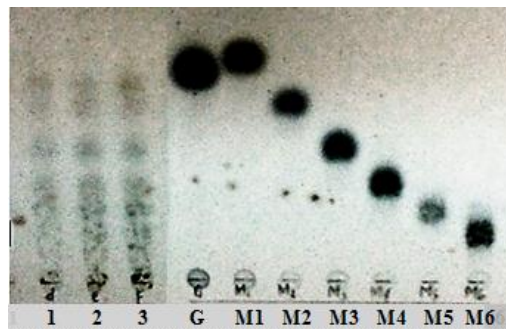
Tiga isolat BF 3.1, BF 3.10, dan YM 4.2 yang ditumbuhkan pada media cair bungkil kopra memiliki waktu produksi enzim tertinggi yang sama pada jam ke-144, isolat BF 3.1 memiliki aktivitas enzim tertinggi sebesar 0.99 U/mL (Gambar 2). Isolat BF 3.1 dipilih sebagai isolat potensial penghasil enzim mananase. Selanjutnya enzim

- Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritikan atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
 2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

ekstrak kasar isolat BF 3.1 digunakan untuk menghidrolisis substrat LBG. Produk hidrolisis LBG dianalisis dengan kromatografi lapis tipis (KLT) untuk melihat jenis manooligosakarida yang dihasilkan. Hasil KLT menunjukkan bahwa enzim mananase BF 3.1 mampu menghasilkan produk manooligosarida manobiosa, manotriosa, manotetrosa. (Gambar 3), sehingga merupakan isolat paling potensial untuk memproduksi manooligosakarida.



Gambar 2 Grafik aktivitas mananase tiga isolat potensial. Isolat ditumbuhkan pada media bungkil kopra 0.5%, suhu 30 °C, agitasi 200 rpm. Uji aktivitas menggunakan substrat LBG 0.5% dalam bufer fosfat 50 mM pH 6.

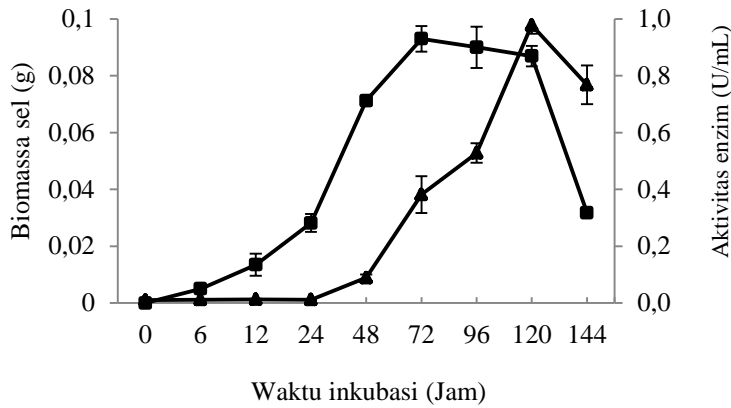


Gambar 3 Analisis kromatografi lapis tipis hasil hidrolisis substrat LBG dengan enzim ekstrak kasar isolat BF 3.1. Baris 1, 2, 3: enzim ekstrak kasar jam ke 96, 120 dan 144, standar Glukosa (G), manosa (M1), manobiosa (M2), manotriosa (M3), manotetrosa (M4), manopentosa (M5), dan manohexosa (M6).

Optimasi Waktu Produksi

Aktivitas enzim mananase isolat *Streptomyces* sp. BF 3.1 pada media bungkil kopra 0.5% dari jam ke-0 hingga jam ke-120 terus mengalami peningkatan dan pada jam ke-144 mengalami penurunan. Aktivitas tertinggi didapatkan pada jam ke-120 sebesar 0.98 U/mL. Pertumbuhan sel bakteri *Streptomyces* sp. BF 3.1 dari jam ke-24 hingga jam ke-72 mengalami fase esponensial dan sel memasuki fase stasioner pada jam ke-96 hingga 120, setelah itu sel telah memasuki fase kematian. Biomassa sel tertinggi didapatkan pada jam ke-72. Melihat hasil grafik kurva pertumbuhan dan aktivitas sel, ditentukan waktu optimum inkubasi isolat untuk menghasilkan aktivitas enzim tertinggi pada jam ke-120 saat sel memasuki fase stasioner.

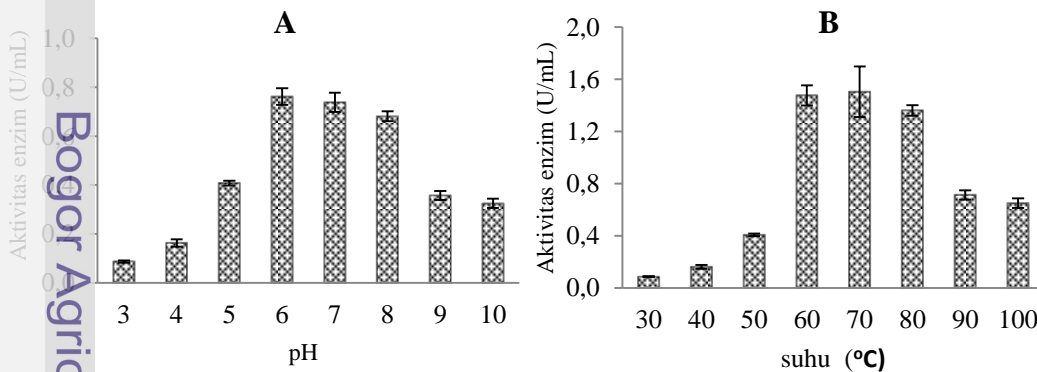
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritikan atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



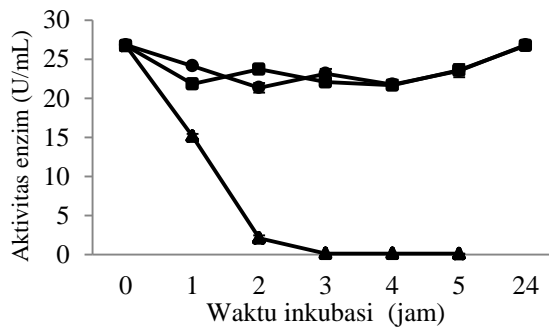
Gambar 4 Pengukuran pertambahan biomassa sel dan aktivitas enzim ekstrak kasar mananase isolat *Streptomyces* sp. BF 3.1. Isolat ditumbuhkan pada media bungkil kopra 0.5%, pH 6, suhu 30 °C, agitasi 200 rpm.
 —■— : Biomassa dan —▲— : aktivitas enzim

Karakterisasi Enzim

Pengaruh pH dan suhu terhadap aktivitas enzim mananase dapat dilihat pada gambar 5. Enzim mananase dapat bekerja optimal pada rentang pH 6-8, dengan aktivitas tertinggi 0.74 U/mL pada pH 6. Suhu optimum enzim bekerja ialah pada suhu 70 °C, pH 6 dengan aktivitas 1.50 U/mL (Gambar 4). Enzim mananase disimpan pada suhu 4 °C, 30 °C dan 70 °C untuk diuji stabilitasnya. Enzim mananase tetap stabil selama 24 jam pada suhu 4 °C dan 30 °C, sedangkan pada suhu penyimpanan 70 °C aktivitas enzim langsung menurun drastis dan setelah 1 jam pertama enzim mananase telah kehilangan aktivitas (Gambar 5). Berdasarkan hal tersebut untuk melakukan proses hidrolisis bungkil kopra selama 24 jam, sebaiknya digunakan suhu ruang 30 °C karena enzim mananase lebih stabil sehingga diharapkan produk hidrolisis juga lebih banyak.



Gambar 5 Karakterisasi enzim ekstrak kasar mananase *Streptomyces* sp. BF 3.1. A: Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim. B: Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim



Gambar 6 Stabilitas enzim ekstrak kasar mananase isolat *Streptomyces* sp. BF 3.1. Penyimpanan enzim dilakukan pada suhu 4 °C (●), 30 °C (■) dan 70 °C (▲). Uji aktivitas dilakukan pada suhu 70 °C.

Hidrolisis Enzimatik Bungkil Kopra

Enzim ekstrak kasar yang akan digunakan dalam proses hidrolisis bungkil kopra terlebih dahulu harus melalui proses dialisis. Proses dialisis berfungsi untuk menghilangkan gula monomer dan oligosakarida yang terdapat dalam larutan enzim. Hasil kromatografi lapis tipis (KLT) menunjukkan bahwa enzim yang telah didialisis telah menghilangkan sebagian besar gula monomer dan oligosakarida manopentosa (Gambar 7). Aktivitas enzim sebelum dialisis sebesar 17 U/mL dan setelah dialisis menjadi 1.87 U/mL. Total aktivitas enzim yang digunakan sebesar 18.7 U dalam 10 mL.

Hidrolisis enzimatik bungkil kopra dilakukan dengan jumlah substrat yaitu 1 g, 0.5 g dan 1 g dalam 10 mL supernatan enzim. Konsentrasi gula reduksi mengalami peningkatan pada jam ke-1 hingga jam ke-5 dan menurun drastis pada jam ke-24 pada semua konsentrasi substrat (1%,5%,10%). Penurunan gula reduksi tersebut kemungkinan disebabkan oleh enzim ekstrak kasar yang digunakan dalam proses hidrolisis pada suhu 30 °C mengandung endospora bakteri yang selama masa inkubasi 24 jam tumbuh menjadi bakteri dengan menggunakan monomer manosa dan glukosa sebagai sumber karbon, sehingga konsentrasi gula pereduksi turun. Hal ini ditunjang oleh hasil kromatografi lapis tipis yang menunjukkan monomer menghilang pada jam ke-24 (Gambar 8). Berdasarkan konsentrasi gula total dan gula reduksi yang didapatkan, kita dapat menghitung derajat polimerisasi (tabel 1). Nilai DP yang didapatkan berkisar 2-7.



Gambar 7 Profil hasil kromatografi lapis tipis enzim sebelum dan setelah didialisis. Enzim sebelum didialisis (1); enzim setelah didialisis (2).

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

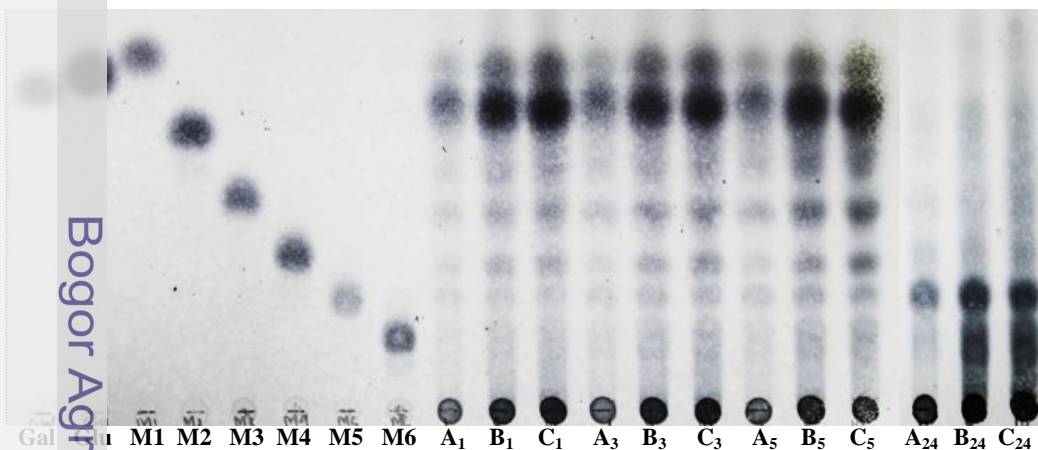
© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor) Bogor Agricultural University

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Tabel 1 Derajat polimerisasi hasil hidrolisis bungkil kopra konsentrasi 1%, 5%, dan 10% dalam 10 mL supernatan enzim (1.87 U/mL), suhu inkubasi 30 °C.

| Konsentrasi substrat | Waktu hidrolisis (Jam) | Gula Total (mg/mL) | Gula reduksi (mg/mL) | DP |
|----------------------|------------------------|--------------------|----------------------|----|
| 1 | 1 | 1,55 | 0,36 | 4 |
| | 2 | 1,58 | 0,44 | 4 |
| | 3 | 1,67 | 0,57 | 3 |
| | 4 | 1,73 | 0,63 | 3 |
| | 5 | 1,62 | 0,67 | 2 |
| | 24 | 1,09 | 0,46 | 2 |
| 5 | 1 | 5,67 | 1,33 | 4 |
| | 2 | 5,44 | 1,48 | 4 |
| | 3 | 6,45 | 1,87 | 3 |
| | 4 | 6,56 | 1,93 | 3 |
| | 5 | 7,03 | 2,30 | 3 |
| | 24 | 6,01 | 1,95 | 3 |
| 10 | 1 | 16,08 | 2,26 | 7 |
| | 2 | 16,65 | 2,76 | 6 |
| | 3 | 14,78 | 3,09 | 5 |
| | 4 | 14,30 | 3,59 | 4 |
| | 5 | 14,17 | 3,83 | 4 |
| | 24 | 14,03 | 1,88 | 7 |

Analisis Produk Manooligosakarida



Gambar 8 Analisis kromatografi lapis tipis hasil hidrolisis bungkil kopra dengan enzim ekstrak kasar *Streptomyces* sp. BF 3.1. Baris 1-8 (Standar Galaktosa (Gal), glukosa (Glu), manosa (M1), manobiosa (M2), manotriosa (M3), manotetrosa (M4), manopentosa (M5), manohexosa (M6), konsentrasi bungkil kopra 1% (A), 5% (B), 10% (C) dengan waktu hidrolisis 1,3,5 dan 24 jam

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

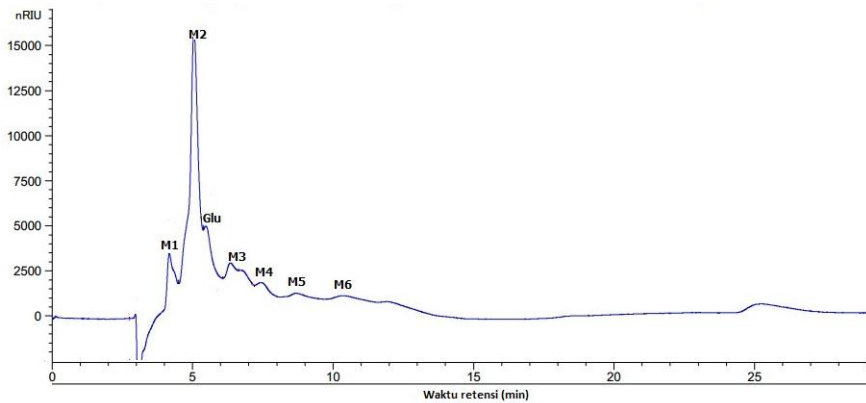
© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumarkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritikan atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Hasil kromatografi lapis tipis menunjukkan bahwa enzim mananase mampu menghidrolisis bungkil kopra pada semua konsentrasi (1%, 5%, 10%) dengan suhu inkubasi 30 °C dan waktu inkubasi selama 5 jam dapat dihasilkan beragam produk manooligosarida berupa manobiosa, manotriosa, manotetrosa, manopentosa, dan manoheksosa, kecuali pada jam ke-24 hanya menghasilkan manopentosa dan manoheksosa. Kondisi optimum hidrolisis ialah konsentrasi bungkil kopra 10% dengan waktu inkubasi 5 jam mampu menghasilkan produk manooligosakarida yang beragam dan gula reduksi tertinggi sebesar 3.83 mg/mL.



Gambar 9 Hasil analisis hidrolisis bungkil kopra 10% dengan waktu inkubasi 5 jam menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi. Kondisi kromatografi: kolom berukuran 250 x 4.6 mm Zorbax SIL dengan 3-amino propyl silane, eluen asetonitril dan air dengan perbandingan 75:25 (v/v), suhu kolom 30 °C, laju alir 1.4 mL/min dan detektor refractive index monitor (RID).

Hasil analisis hidrolisis bungkil kopra 10% dengan waktu inkubasi selama 5 jam menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi menghasilkan tujuh puncak (Gambar 9). Monomer manosa dan glukosa terdeteksi pada puncak pertama dan ketiga dengan waktu retensi masing-masing 4.176 menit dan 5.478 menit. Produk manooligosakarida juga terdeteksi meliputi manobiosa (5.051 menit), manotriosa (6.347 menit), manotetrosa (7.438 menit), manopentosa (8.695 menit) dan manoheksosa (10.609 menit).

Pengaruh Prebiotik terhadap Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat dan Bakteri Patogen

Uji prebiotik manooligosakarida dari bungkil kopra yang dilakukan pada bakteri *Pediococcus pentosaceus* E.2211 menggunakan media MRS substitusi prebiotik menunjukkan koloni bakteri dapat tumbuh dengan baik. Jumlah koloni yang tumbuh pada media MRS prebiotik hampir mendekati jumlah koloni MRS control (Tabel 2). Hal ini menunjukkan bahwa *Pediococcus pentosaceus* E.2211 mampu memanfaatkan prebiotik MOS dari bungkil kopra sebagai sumber karbon. Jumlah koloni pada media MRS prebiotik lebih banyak dibandingkan dengan jumlah koloni pada MRS minimal, hal ini disebabkan keterbatasan sumber karbon yang dapat digunakan oleh bakteri pada media minimal tersebut.

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritikan atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Tabel 2 Uji prebiotik manooligosakarida bungkil kopra pada bakteri asam laktat *Pediococcus pentosaceus* E.2211 dengan waktu inkubasi selama 48 jam pada suhu 37 °C

| <i>Pediococcus pentosaceus</i> E.2211 | Media | | |
|---------------------------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|
| | MRS kontrol | MRS Minimal | MRS Prebiotik MOS |
| Generasi I | 29 x 10 ⁶ | 17 x 10 ⁶ | 19 x 10 ⁶ |
| Generasi II | 292 x 10 ⁶ | 79 x 10 ⁶ | 216 x 10 ⁷ |

Tabel 3 Uji prebiotik manooligosakarida bungkil kopra pada bakteri patogen *Salmonella* sp. dengan waktu inkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C

| <i>Salmonella</i> sp. | Media | | |
|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| | LB Kontrol | LB Minimal | LB Prebiotik MOS |
| Generasi I | 604 x 10 ⁷ | 304 x 10 ⁷ | 512 x 10 ⁷ |
| Generasi II | 643 x 10 ⁷ | 69 x 10 ⁷ | 125 x 10 ⁷ |

Uji prebiotik manooligosakarida juga dilakukan pada bakteri patogen *Salmonella* sp. Hasil pertumbuhan koloni *Salmonella* sp. pada generasi pertama menunjukkan jumlah koloni pada LB prebiotik mendekati jumlah koloni LB kontrol dan jumlahnya lebih banyak dibandingkan dengan jumlah koloni LB minimal (Tabel 3). Hal ini menunjukkan bahwa *Salmonella* sp. dapat memanfaatkan sebagian gula-gula yang terdapat pada produk hidrolisis bungkil kopra. Pada generasi kedua terjadi penurunan jumlah koloni bakteri yang signifikan pada media LB prebiotik sedangkan jumlah koloni bakteri pada media LB kontrol cenderung sama. Berdasarkan data tersebut diindikasikan *Salmonella* sp. tidak dapat memanfaatkan prebiotik manooligosakarida sebagai sumber karbon tetapi tetap dapat tumbuh pada media LB prebiotik disebabkan masih terdapat gula monomer (glukosa) yang berasal dari hasil hidrolisis bungkil kopra.

Pembahasan

Bungkil kopra mengandung sekitar 43-45% polisakarida manan dari total karbohidrat yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber karbon untuk media pertumbuhan aktinomisetes dan kadar protein yang cukup tinggi sebagai sumber nitrogen. Hasil penelitian Khuwijitjaru *et al.* (2012), bungkil kopra mengandung polisakarida yang mengandung manosa ±79.77%, glukosa ±12.80%, galaktosa ±6.12% dan arabinosa 1.31% dari total karbohidrat sebanyak 68.99%. Media manan bungkil kopra dapat didegradasi oleh isolat *Streptomyces* sp. Bungkil kopra telah digunakan sebagai media untuk memproduksi mananase ekstraseluler dari *Bacillus circulans*, *Bacillus albei* (Abe *et al.* 1994) dan *Aspergillus niger* NCH-189 (Lin dan Chen 2004). Hasil analisis kualitatif menunjukkan terbentuknya zona bening dan nilai indeks manolitik yang cukup besar mengindikasikan bahwa isolat mampu menghasilkan enzim mananase. Penggunaan

merah kongo dengan konsentrasi 1% (b/v) selama 15 menit akan memunculkan zona bening yang kontras. Diameter zona bening akan berkurang secara linear seiring dengan penambahan konsentrasi 0.1–1.0% (b/v) pada substrat galaktomanan (Downie *et al.* 1994).

Produk hasil hidrolisis *locus bean gum* hampir sama dengan hasil penelitian sebelumnya, enzim β -mananase dari *Aspergillus awamori* K4 (Kurakake dan Komaki 2001) dan *Cellulosimicrobium* sp. galur HY-13 (Kim *et al.* 2011) digunakan untuk menghidrolisis *locus bean gum*, hasil kromatografi lapis tipisnya menunjukkan spot manobiosa, manotriosa, dan manotetrosa. Pada produk hidrolisis terdapat glukosa dan manosa. Ini mengindikasikan bahwa isolat *Streptomyces* sp. BF 3.1 memiliki enzim mananase, β -glukosidase, β -mannosidase kondisi ekstraseluler. β -mananase merupakan endoenzim yang mendegradasi ikatan β -1,4 polimer manan sehingga membentuk produk manooligosakarida dan β -glukosidase ialah eksoenzim yang mendegradasi ikatan 1,4- β -D-glukopiranosida oligosakarida glukomanan ataupun alaktoglukomanan, sedangkan β -mannosidase ialah eksoenzim yang mendegradasi ikatan β -1,4 manosida manan dan manooligosakarida sehingga terdapat produk monomer manosa (Moreira dan Filho 2008).

Kurva aktivitas enzim dan pertumbuhan sel *Streptomyces* sp. BF 3.1 memiliki waktu inkubasi yang berbeda dengan mikroba lain untuk memproduksi enzim mananase. *Streptomyces scabies* CECT 3340 dan *Streptomyces ipomoea* CECT 3341 mampu memproduksi enzim mananase 294.3 U/L dan 242.9 U/L, dengan waktu inkubasi 96 jam (Montiel *et al.* 1999), dan *Streptomyces* sp. PG-08-03 aktivitas mananase 15 U/mL selama 72 jam inkubasi (Bhoria *et al.* 2009). *Aspergillus niger* NCH-189 (Lin dan Chen 2004) dan *Bacillus subtilis* galur NM-39 (Mendoza *et al.* 1994) yang difermentasi pada media bungkil kopra mampu memproduksi enzim mananase masing-masing sebesar 2.6 U/mL (3 hari inkubasi) dan 2.2 U/mL (24 jam waktu inkubasi).

Hasil karakterisasi enzim mananase *Streptomyces* sp. BF 3.1 menunjukkan bahwa enzim ini bekerja optimum pada pH netral dan termasuk enzim termostabil sama seperti β -mananase aktinomisetes termofilik *Thermomonospora fusca* optimum pada suhu 80 °C, pH alkalin (Hilge *et al.* 1998) dan *Aspergillus awamori* K4 suhu optimum 80 °C, pH 6 (Kurakake dan Komaki 2001). Beberapa peneliti sebelumnya juga telah mengkarakterisasi aktivitas mananase aktinomisetes yang lain yaitu *Streptomyces lividans* pada pH 6.8 dan suhu 58 °C (Arcand *et al.* 1993), *Streptomyces galbus* NR pH optimum 6.5, suhu 40 °C (Kansoh dan Nagieb 2004), dan golongan bakteri *Bacillus* sp. MSJ-5 optimum pada pH 5.5 dan suhu 50 °C (Zhang *et al.* 2009), *Bacillus subtilis* NM-39 optimum pada rentang pH 5-6 dan suhu 50-60 °C (Mendoza *et al.* 1994)

Stabilitas enzim mananase *Streptomyces* sp. BF 3.1 hampir sama dengan penelitian sebelumnya, aktivitas mananase *Cellulosimicrobium* sp. galur HY-13 tetap stabil pada suhu 37 °C diinkubasi selama 60 menit dan kehilangan aktivitasnya pada suhu 60 °C setelah diinkubasi selama 10 menit (Kim *et al.* 2011). Aktivitas mananase *Acinetobacter* sp. ST1-1 menurun drastis ketika diinkubasi selama 30 menit pada suhu 60 °C berbeda dengan *Klebsiella oxytoca* W 2-3 yang tetap mempertahankan 82% aktivitasnya pada keadaan tersebut (Titapoka *et al.* 2008).

Enzim mananase *Streptomyces* sp. BF 3.1 (1.87 U/mL) digunakan untuk menghidrolisis bungkil kopra. Nilai DP yang didapatkan berkisar 2-7, hampir sama dengan hasil penelitian Abe *et al.* (1994) bungkil kopra dihidrolisis dengan

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

mananase *Bacillus circulans* dan *B. albei* menghasilkan oligosakarida DP 2-4. Tepung konjak dihidrolisis dengan mananase *Bacillus* sp. MSJ-5 menghasilkan oligosakarida DP 2-6 (Zhang *et al.* 2009). Sesuai dengan pernyataan Weijers *et al.* (2008), oligosakarida memiliki derajat polimerisasi antara gula monomer dengan polisakarida yaitu DP 3-10. Produk hidrolisis dapat diamati dengan kromatografi lapis tipis yang dapat menggambarkan jenis produk manooligosakarida (Patel dan Goyal 2011)

Produk manooligosakarida yang dihasilkan dari hidrolisis enzimatik hampir sama dengan hasil penelitian hidrolisis manan kopra menggunakan mananase dari bakteri *Bacillus* (Abe *et al.* 1994, Hossain *et al.* 1996) dan hidrolisis galaktomanan dengan mananase termotabil *Paenibacillus illinoisensis* ZY-08 (Lee *et al.* 2010). Hasil penelitian Sachslehner *et al.* (2000) Hidrolisis manan ekstrak kopi dengan mananase *Sclerotium rolfsii* juga menghasilkan manooligosakarida berupa manobiosa, manotriosa dan manotetrosa. Endo- β -mananase (β -1,4-D-manan mananohidrolase) dapat menghidrolisis manan secara acak pada glukomanan dan galaktomanan yang umumnya menghasilkan manobiosa dan manotriosa (Eriksson *et al.* 1990).

Kromatografi lapis tipis juga menunjukkan spot hasil hidrolisis bungkil kopra yang terlihat tidak sejajar dengan standar manotriosa, manotetrosa dan manopentosa. Spot tersebut terlihat melebihi spot standar. Hal tersebut disebabkan oleh kemungkinan manooligosakarida masih memiliki rantai samping yang tidak terpotong oleh eksoenzim mananase. Chantorn *et al.* (2013) melaporkan bahwa hidrolisis manan dapat menghasilkan berbagai macam oligosakarida yang tidak dapat diketahui dan memiliki substansi yang terikat pada oligosakarida tersebut, manooligosakarida kemungkinan memiliki rantai samping karena adanya aktivitas transferase dari enzim hidrolase.

Tujuh puncak yang terdeteksi pada kromatografi cair kinerja tinggi memiliki waktu retensi yang sedikit berbeda dengan standar, hal ini disebabkan oleh larutan hidrolisis belum dimurnikan dan tidak diketahui besar konsentrasinya. Manooligosakarida yang dideteksi sebelumnya dengan kromatografi lapis tipis memiliki kecenderungan yang sama dengan hasil kromatografi cair kinerja tinggi. Retensi waktu produk hidrolisis manotriosa, manotetrosa dan manopentosa lebih besar dibandingkan dengan standarnya. Hal tersebut dapat disebabkan oleh manooligosakarida yang memiliki rantai samping. Sesuai dengan yang dilaporkan oleh Tanimoto *et.al* (2002) bahwa waktu retensi akan meningkat sesuai dengan meningkatnya ukuran molekul manooligosakarida yang dideteksi. Standar manooligosakarida yang linear akan menunjukkan waktu retensi yang lebih kecil dibandingkan dengan produk manooligosakarida hasil hidrolisis yang masih memiliki rantai samping.

Pada produk hidrolisis berupa manotriosa yang dideteksi dengan kromatografi lapis tipis memperlihatkan dua spot berbeda yang tidak sejajar dengan standar. Spot pertama terlihat berada di atas spot standar manotriosa dan spot kedua berada dibawah spot standar manotriosa. Hal tersebut juga terlihat pada hasil kromatografi cair kinerja tinggi, terdapat dua puncak manotriosa yang memiliki waktu retensi sedikit berbeda. Berdasarkan hasil penelitian Tanimoto *et.al* (2002), sakarida yang memiliki konfigurasi molekul yang sama (isomer) akan terdeteksi dengan waktu retensi yang berbeda seiring peningkatan ukuran molekulnya.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritikan atau tinjauan suatu masalah.
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Pada pengujian prebiotik manooligosakarida menunjukkan hasil positif terhadap pertumbuhan koloni bakteri asam laktat. *Pediococcus pentosaceus* memiliki potensi sebagai bakteri probiotik. *Pediococcus pentosaceus* CRAG3 memiliki kemampuan untuk menfermentasi selobiosa, dekstrosa, arabinosa, rhamnosa, sukrosa, manitol, fruktosa, maltosa, mannose, dan galaktosa untuk memproduksi asam laktat dan memiliki kemampuan koagregasi untuk bersaing dengan galur patogen *Escherichia coli* serta autoagregasi untuk berkolonisasi dalam saluran usus (Shukla dan Goyal 2013). Prebiotik manooligosakarida dari bungkil kopra dapat menekan pertumbuhan koloni bakteri patogen *Salmonella* sp. Manooligosakarida dapat mengurangi jumlah kolonisasi *Salmonella enteritidis* pada usus besar anak ayam (Fernandez *et al.* 2002) dan menekan pertumbuhan galur *Salmonella* yang mengekspresikan *fimbriae type-1* (Spring *et al.* 2000).

Studi pengaruh diet manooligosakarida terhadap mikroflora usus ayam, Fernandez *et al.* (2002) menyimpulkan bahwa suplementasi pakan dilengkapi dengan 2.5% MOS akan memberikan pengaruh signifikan yaitu meningkatnya jumlah *Bifidobacterium* spp. dan *Lactobacillus* spp. serta menurunnya kelompok *Enterobacteriaceae* pada usus ayam. Penggunaan probiotik dan prebiotik dapat digunakan sebagai cara aman untuk mengubah dan memanipulasi mikroflora usus hewan serta mengurangi penggunaan antibiotik dalam peternakan.

4 SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Enzim mananase isolat *Streptomyces* sp. BF 3.1 optimum pada pH 6 dan suhu 70 °C. Kondisi optimum hidrolisis bungkil kopra dengan mananase *Streptomyces* sp. BF 3.1 adalah konsentrasi bungkil kopra 10% dengan waktu inkubasi selama 5 jam pada suhu ruang 30 °C. Kondisi reaksi ini akan menghasilkan gula reduksi tertinggi sebesar 3.83 mg/mL dengan produk manooligosakarida berupa manobiosa, manotriosa, manotetrosa dan manopentosa. Prebiotik manooligosakarida dari bungkil kopra mampu mendukung pertumbuhan koloni bakteri *Pediococcus pentosaceus* E.2211 dan menekan pertumbuhan koloni *Salmonella* sp. pada generasi kedua.

Saran

Diperlukan optimasi waktu dan konsentrasi substrat bungkil kopra dalam proses hidrolisis menggunakan enzim mananase serta optimasi eluen kromatografi cair kinerja tinggi agar dapat dihasilkan puncak kromatogram yang terpisah secara baik.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritikan atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

DAFTAR PUSTAKA

- Abe JI, Hossain MZ, Hizukuri S. 1994. Isolation of β -mannanase-producing microorganism. *J Ferment Bioeng.* 78(3):259-261.doi:10.1016/S0922-338X(94)90301-8.
- Arcand N, Kluepfel D, Paradis FW, Morosoli R, Sharek F. 1993. β -mannanase of *Streptomyces lividans* 66: cloning and DNA sequencing of the manA gene and characterization of the enzyme. *Biochemistry.* 29(3):857-863.
- Bhorani P, Singh G, Hoondal GS. 2009. Optimization of mannanase production from *Streptomyces* sp. PG-08-03 in submerged fermentation. *Bioresources.* 4(3):1130-1138.
- Chantana ST, Pongsapipatana N, Keawsompong S, Ingkakul A, Haltrich D, Nitisinprasert S. 2013. Characterization of mannanase S1 from *Klebsiella oxytoca* KUB-CW2-3 and its application in copra mannan hydrolysis. *ScienceAsia.* 39(3):236-245.doi:10.2306/scienceasia1513-1874.2013.39.236.
- Clark AE, Ilmén M, Penttilä M. 1997. Expression patterns of ten hemicellulase genes of the filamentous fungus *Trichoderma reesei* on various carbon sources. *J Biotechnol.* 57(1):167-179.doi:10.1016/S0168-1656(97)00097-7.
- Dinoto A, Watumlawar CC, Yopi Y. 2014. In Vitro Modulation of Human Intestinal Microbiota by Mannoligosaccharides Synthesized from *Antrophophallus muelleri* Glucomannan. *Microbiol Indones.* 7(4):144-151.doi:10.454/mi/7.4.2.
- Downing B, Hilhorst HW, Derek Bewley, J. 1994. A new assay for quantifying endo- β -D-mannanase activity using Congo Red dye. *Phytochemistry.* 36(5):829-835.doi:10.1016/S0031-9422(00)90446-1.
- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Robers PA, Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem.* 28(3):350-356.doi:10.1021/ac60111a017.
- Eriksson KEL, Blanchette RA, Ander P. 1990. *Microbial and Enzymatic Degradation of Wood and Wood Components.* Berlin (DE): Springer.
- Fernandez F, Hinton M, Gils BV. 2002. Dietary mannan-oligosaccharides and their effect on chicken caecal microflora in relation to *Salmonella enteritidis* colonization. *Avian Pathol.* 31(1):49-58.doi:10.1080/03079450120106000.
- Gibson GR, Probert HM, Van Loo J, Rastall RA, Roberfroid MB. 2004. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutr Res Rev.* 17(2):259-275.doi:10.1079/NRR200479.
- Hilgert M, Gloor SM, Rypniewski W, Sauer O, Heightman TD, Zimmermann W, Wenterhalter K, Piontek K. 1998. High-resolution native and complex structures of thermostable β -mannanase from *Thermomonospora fusca* substrate specificity in glycosyl hydrolase family 5. *Structure.* 6(11):1433-1441.doi:10.1016/S0969-2126(98)00142-7.
- Hoshino-Takao I, Fujii S, Ishii A, Han L.K, Okuda H, Kumao T. 2008. Effects of mannanoligosaccharides from coffee mannan on blood pressure in Dahl salt-sensitive rats. *J Nutr Sci Vitaminol.* 54(2):181-184.
- Hossain MZ, Abe JI, Hizukuri S. 1996. Multiple forms of β -mannanase from *Bacillus* sp. *Enzyme Microb Technol.* 18(2):95-98.doi:10.1016/S0141-0296(96)2900071-2.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

- Kansoh AL, Nagieb ZA. 2004. Xylanase and mannanase enzymes from *Streptomyces galbus* NR and their use in biobleaching of softwood kraft pulp. *Anton van Leeuwenhoek*. 85(2):103–114.doi:10.1023/B:ANTO.0000020281.73208.62.
- Khuwijtjaru P, Watsanit K, Adachi S. 2012. Carbohydrate content and composition of product from subcritical water treatment of coconut meal. *Industr Eng Chem* 18(1):225-229.doi:10.1016/j.jiec. 2011.11.010.
- Kim DY, Ham SJ, Lee HJ, Kim YJ, Shin DH, Rhee YH, Son KH, Park HY. 2011. A highly active endo- β -1,4-mannanase produced by *Cellulosimicrobium* sp. Strain HY-13, a hemicellulolytic bacterium in the gut of *Eisenia fetida*. *Enzyme Microb Technol*. 48(4):365–370.doi:10.1016/j.enzmictec.2010.12.013.
- Umao T, Fujii S, Asakawa A, Takehara I, Fukuhara I. 2006. Effect of coffee drink containing manooligosaccharides on total amount of excreted fat in healthy adults. *Health Sci*. 52(4):482- 485.
- Yarakake M, Komaki T. 2001. Production of β -mannanase and β -mannosidase from *Aspergillus awamori* K4 and their properties. *Curr Microbiol*. 42(6):377–380.doi:10.1007/s002840010233.
- Lee YS, Zhou Y, Park IH, Chandra MRGS, Ahn SC, Choi YL. 2010. Isolation and Purification of Thermostable β -Mannanase from *Paenibacillus illinoisensis* ZY-08. *J Korean Soc Appl Biol Chem*. 53(1):1-7.doi:10.3839/jksabc. 2010.001.
- Lin TC, Chen C. 2004. Enhanced mannanase production by submerged culture of *Aspergillus niger* NCH-189 using defatted copra based media. *Process Biochem*. 39(9):1103-1109.doi:10.1016/S0032-9592(03)00218-8.
- Medoza NS, Arai M, Kawaguchi T, Yoshida T, Joson LM. 1994. Purification and properties of mannanase from *Bacillus subtilis*. *World J Microbiol Biotechnol*. 10(5):551-555. doi:10.1007/BF00367665.
- Meryandini A, Anggreandari R, Rachmania N. 2008. Isolasi bakteri mananolitik dan karakterisasi mananasenya. *Biota*. 13(2):82-88.
- Miller GL. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal Chem*. 31(3):426-428.doi:10.1021/ac60147a030
- Montiel MD, Rodriguez J, Pérez-Leblic MI, Hernández M, Arias ME, Copa-Patiño JL. 1999. Screening of mannanases in actinomycetes and their potential application in the biobleaching of pine kraft pulps. *Appl Microbiol Biotechnol* 52(2):240-245.doi:10.1007/s002530051515.
- Moorthy M, Viswanathan K. 2009. Nutritive Value of Extracted Coconut (Cocos Nucifera) Meal. *Res J Agric Biol Sci*. 5(4):515-517.
- Moreira LRS, Filho EXF. 2008. An overview of mannan structure and mannan-degrading enzyme systems. *Appl Microbiol Biotechnol*. 79(2):165–178.doi:10.1007/s00253-008-1423-4.
- Park GG. 2008. Separation and Identification of Galactosylmanno-oligosaccharides from Hydrolyzate of Brown Copra Meal by *Trichoderma* β -Mannanase. *Appl Biol Chem*. 51(6): 292-295.doi:10.3839/jabc.2008.045.
- Patel S, Goyal A. 2011. Functional oligosaccharides: production, properties and applications. *World J Microbiol Biotechnol* 27(5):1119–1128.doi:10.1007/s11274-010-0558-5.
- Pothichitto K, Nitisinprasert S, Keawsompong S. 2006. Isolation, screening and identification of mannanase producing microorganisms. *Kasetsart J Nat Sci*. 40:26-38.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



- Politz O, Krah M, Thomsen KK, Borriss R. 2000. A highly thermostable endo-(1,4)- β -mannanase from the marine bacterium *Rhodothermus marinus*. *App Microbiol Biotechnol* 53(6):715-721.doi:10.1007/s002530000351.
- Purwadaria T, Haryati T, Darma J, Munazat OI. 1995. In Vitro Digestibility Evaluation of Fermented Coconut Meal Using *Aspergillus Niger* NRRL 337. *Bull Anim Sci. (Special Edition)*. 375-381.
- Rattanasuk S, Ketudat-Cairns M.. 2009. *Chryseobacterium indologenes*, novel mananase producing bacteria. *Songklanakar J Sci Technol*. 31(4):395-399.
- Regalado C, Garcia-Almendarez BE, Venegas-Barrera LM, Tellez-Jurado A, Rodriguez-Serrano G, Huerta-Qchoa S, Whitaker JR. 2000. Production, partial purification and properties of β -mannanase obtained by solid substrate fermentation of spent soluble coffee wastes and copra paste using *Aspergillus oryzae* and *Aspergillus niger*. *J Sci Food Agric*. 80(9):1343-1350.doi:10.1002/1097-0010(200007)80:9<1343:AID-JSFA651>3.0.CO;2-#.
- Sachschner A, Foidl G, Foidl N, Gubitza G, Haltrich D. 2000. Hydrolysis of isolated coffee mannan and coffee extract by mannanases of *Sclerotium rolfsii*. *J Biotechnol*. 80(2):127-134.doi:10.1016/S0168-1656(00)00253-4.
- Shukla R, Goyal A. 2013. Probiotic potential of *Pediococcus pentosaceus* CR16G3: A new isolate from fermented cucumber. *Probiotics & Antimicro. Prev*. 6:11-21.doi 10.1007/s12602-013-9149-8.
- Spring P, Wenk C, Dawson KA, Newman KE. 2000. The effects of dietary manno-oligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in the ceca of salmonella-challenged broiler chicks. *Poult Sci*. 79(2):205-211.doi:10.1093/ps/79.2.205.
- Stoll G, Stålbrand H, Warren RAJ. 1999. Mannan-Degrading Enzymes from *Ceulomonas fimi*. *Appl Environ Microbiol*. 65(6):2598-2605.
- Sundu B, Dingle J. 2003. Use of enzyme to improve the nutritional value of palm kernel meal and copra meal. *Proc. Queensland Poult Sci Symp Australia* 11(14):1-15.
- Tanimoto T, Ikuta A, Sugiyama M, Koizumi K. 2002. HPLC analysis of manno-oligosaccharides derived from *Saccharomyces cerevisiae* mannan using an amino column or a graphitized carbon column. *Chem Pharm Bull*. 50(2):280-283.
- Titapoka S, Keawsompong S, Haltrich D, Nitisinprasert S. 2008. Selection and characterization of mannanase-producing bacteria useful for the formation of prebiotic manno-oligosaccharides from copra meal. *World J Microbiol Biotechnol*. 24(8):1425-1433.doi:10.1007/s11274-007-9627-9.
- [USDA] U.S. Department of Agriculture Foreign Agricultural Service. 2013. *Ornamentals and Products Annual Indonesia*. Global Agricultural Information Network (GAIN) Report Number: ID 1316. United States (US): USDA
- Utami W, Meryandini A, Wiryawan KG. 2013. Characterization of bacterial mannanase for hydrolyzing palm kernel cake to produce manno-oligosaccharides prebiotics. *Media Petern*. 36(3):192-196. doi:10.5398/medpet.2013.36.3.192.
- Weijers CAGM, Franssen MCR, Visser GM. 2008. Glycosyltransferase-catalyzed synthesis of bioactive oligosaccharides. *Biotechnol Adv*. 26(5):436-445.

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

- Yopi, Awan P, Ahmad T, Heri H. Anondho W. 2006. Preparasi manan dan mananase kasar dari bungkil kelapa sawit. *J Teknol.* 4:312-319.
- Zhang M, Chen XL, Zhang ZH, Sun CY, Chen LL, He HL, Zhou BC, Zhang YZ. 2009. Purification and functional characterization of endo- β -mannanase MAN5 and its application in oligosaccharide production from konjac flour. *Appl Microbiol Biotechnol.* 83(5):865–873.doi:10.1007/s00253-009-1920-0.

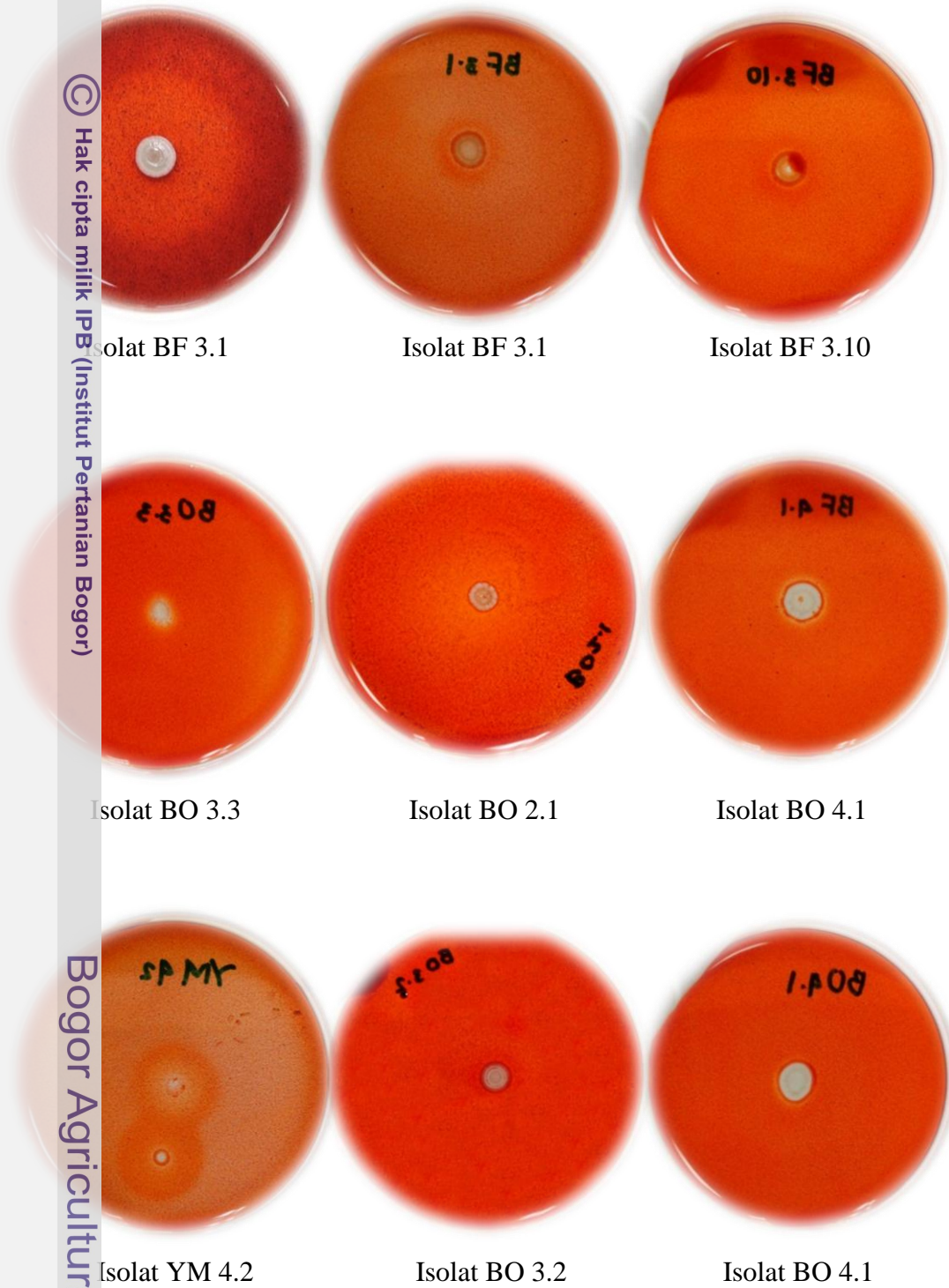
Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Zona bening delapan isolat aktinomisetes



© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Lampiran 2. Komposisi media MRS, MRS minimal, MRS substitusi prebiotik, LB, LB minimal, dan LB substitusi prebiotik

Komposisi media MRS, MRS minimal, MRS substitusi prebiotik

| Komposisi media (dalam 100 mL) | MRS | MRS minimal | MRS prebiotik |
|---|---------|-------------|---------------|
| Tripton | 1.8 g | 0.18 g | 1.8 g |
| Ekstrak Khamir | 0.4 g | 0.04 g | 0.4 g |
| KH_2PO_4 | 0.2 g | 0.2 g | 0.2 g |
| $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 0.02 g | 0.02 g | 0.02 g |
| CaSO_4 | 0.004 g | 0.004 g | 0.004 g |
| Ammonium | 0.2 g | 0.2 g | 0.2 g |
| Asam sitrat | | | |
| Laktosa/ prebiotik | 1 g | 0.1 g | 1 g |
| Glycerol 80 | 0.1 mL | 0.1 mL | 0.1 mL |
| Agar-agar | 2,2 g | 2,2 g | 2,2 g |

Komposisi media LB, LB minimal, dan LB substitusi prebiotik

| Komposisi media (dalam 100 mL) | LB | LB minimal | LB prebiotik |
|-----------------------------------|-------|------------|--------------|
| Tripton | 1 g | 0,1 g | 1 g |
| Ekstrak Khamir/prebiotik | 0.5 g | 0.05 g | 0.5 g |
| NaCl | 1 g | 1 g | 1 g |
| Agar-agar | 2,4 g | 2,4 g | 2,4 g |

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumarkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Kabupaten Wajo pada tanggal 27 Maret 1989 sebagai anak kedua dari empat bersaudara pasangan Manda dan Muliati. Pendidikan sarjana ditempuh di Program Studi Pendidikan Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Makassar, lulus pada tahun 2012. Pada tahun 2012 penulis diterima di Program Studi Bioteknologi pada Program Pascasarjana IPB. Beasiswa Unggulan Calon Dosen diperoleh dari Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia. Penulis telah mengemukakan artikel ilmiah untuk diterbitkan pada jurnal *Hayati Journal Bioscience* dengan judul *Enzymatic Hydrolysis of Copra Meal by Mannanase *Streptomyces* sp. BF 3.1 for The Production of Manno oligosaccharides.*

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.