

**SELEKSI DAN KARAKTERISASI ENZIM EKSTRASELULER
MANNANASE DARI BAKTERI PROBIOTIK (*Bacillus sp.*)**

(Skripsi)

Oleh

**JENI AYU MAULIKA
NPM 2117021110**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

**SELEKSI DAN KARAKTERISASI ENZIM EKSTRASELULER
MANANASE DARI BAKTERI PROBIOTIK (*Bacillus sp.*)**

Oleh

JENI AYU MAULIKA

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lampung**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

ABSTRAK

SELEKSI DAN KARAKTERISASI ENZIM EKSTRASELULER MANANNASE DARI BAKTERI PROBIOTIK (*Bacillus sp.*)

Oleh

JENI AYU MAULIKA

Komoditas udang merupakan salah satu komoditas perikanan yang paling banyak diminati dan memiliki nilai jual yang tinggi di pasar domestik dan internasional. Di Indonesia, budidaya udang khususnya spesies vaname (*Litopenaeus vannamei*) telah berkembang pesat. Oleh karena itu, udang vaname telah menjadi produk ekspor penting dan memberikan kontribusi signifikan terhadap perekonomian nasional. Keberhasilan usaha budidaya udang didukung oleh beberapa faktor, salah satunya yaitu kualitas pakan. Upaya yang dapat dilakukan untuk meningkatkan nilai gizi pakan melalui penambahan bakteri salah satu pendukung yaitu probiotik. Probiotik adalah mikroorganisme hidup, terutama bakteri baik, yang memiliki kemampuan untuk menyeimbangkan populasi mikroba, mendorong pertumbuhan dan meningkatkan kualitas air dengan mengurangi patogenesitas. Probiotik juga memiliki kemampuan dalam memecah campuran makromolekul yang ada di pakan udang. Salah satu makromolekul adalah manan, untuk memecah manan diperlukan bakteri probiotik yang memiliki enzim mananase. Penelitian ini bertujuan untuk menyeleksi dan mengkarakterisasi enzim mananase dari bakteri *Bacillus sp.* pada variasi suhu dan pH. Hasil penelitian ini menunjukkan *Bacillus sp.* dengan kode IBK 3 mampu menghasilkan enzim mananase. Secara kuantitatif aktivitas mananase ditentukan dengan metode DNS untuk mengukur kadar gula reduksi yang diproduksi oleh mikroba. Aktivitas enzim mananase yang diproduksi oleh *Bacillus sp.* memiliki karakteristik pada suhu 50 °C dan pH optimum 5 dengan aktivitas enzim sebesar 0,225 U/ml.

Kata kunci: Udang vanname, Probiotik, Enzim Mananase, *Bacillus sp.*

ABSTRACT

SELECTION AND CHARACTERISATION OF EXTRACELLULAR MANNANASE ENZYMES FROM PROBIOTIC BACTERIA (*Bacillus* sp.)

By

JENI AYU MAULIKA

Shrimp is one of the most sought-after fishery commodities and has a high selling value in domestic and international markets. In Indonesia, shrimp farming, especially the vaname species (*Litopenaeus vannamei*), has grown rapidly. Therefore, vaname shrimp has become an important export product and contributes significantly to the national economy. The success of shrimp farming is supported by several factors, one of which is feed quality. Efforts that can be made to improve the nutritional value of feed through the addition of bacteria include probiotics. Probiotics are live microorganisms, especially good bacteria, which have the ability to balance microbial populations, promote growth and improve water quality by reducing pathogenicity. Probiotics also have the ability to break down macromolecular compounds present in shrimp feed. One such macromolecule is mannan, and to break down mannan, probiotic bacteria possessing mannanase enzymes are required. This study aims to select and characterise mannanase enzymes from *Bacillus* sp. bacteria under varying temperatures and pH levels. The results of this study show that *Bacillus* sp. With code IBK 3 is capable of producing mannanase enzymes. Quantitatively, mannanase activity is determined using the DNS method to measure the reducing sugar content produced by microbes. The mannanase enzyme activity produced by *Bacillus* sp. has characteristics at a temperature of 50 °C and an optimum pH of 5 with enzyme activity of 0.225 U/ml.

Keywords: Vannamei shrimp, Probiotics, Mannanase enzyme, *Bacillus* sp.

Judul Skripsi : **SELEKSI DAN KARAKTERISASI ENZIM
EKSTRASELULER MANANASE DARI
BAKTERI PROBIOTIK (*Bacillus* sp.)**

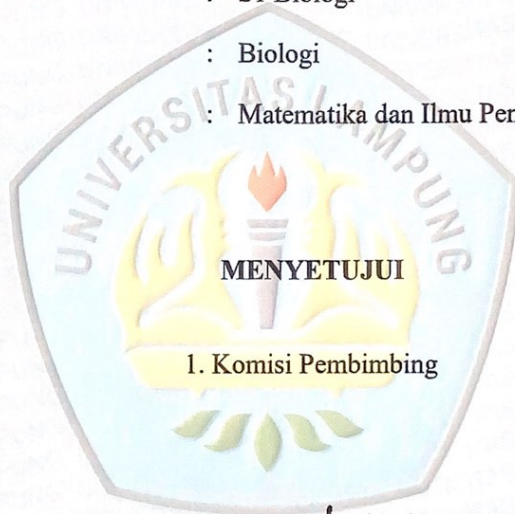
Nama Mahasiswa : *Jeni Ayu Maulika*

Nomor Pokok Mahasiswa : 2117021110

Program Studi : S1 Biologi

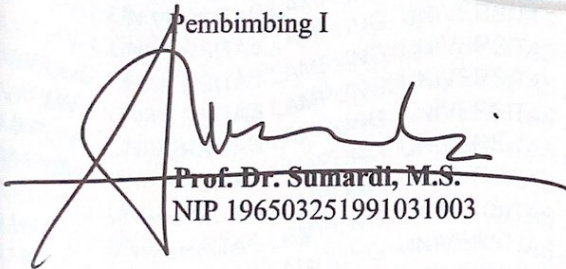
Jurusan : Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

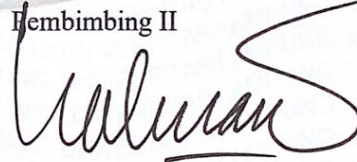


1. Komisi Pembimbing

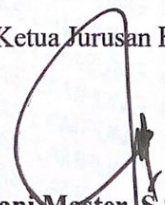
Pembimbing I


Prof. Dr. Sumardi, M.S.
NIP 196503251991031003

Pembimbing II


Ir. Salman Farisi, M.Si.
NIP 196104181987031001

2. Ketua Jurusan Biologi


Dr. Jani Master, S.Si., M.Si.
NIP 198301312008121001

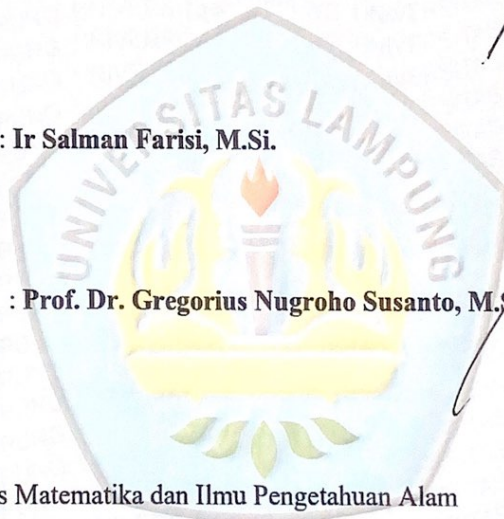
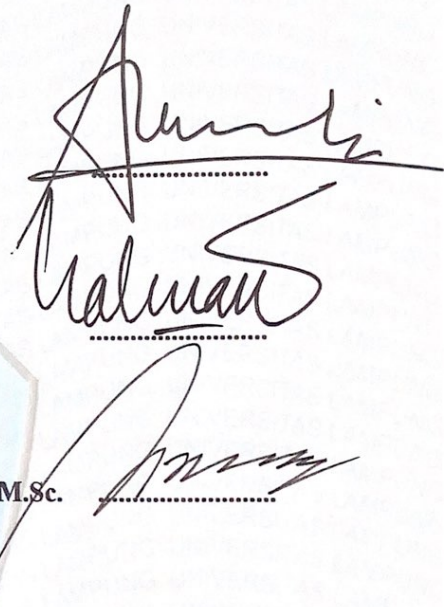
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Prof. Dr. Sumardi, M.Si.

Sekretaris : Ir Salman Farisi, M.Si.

Penguji : Prof. Dr. Gregorius Nugroho Susanto, M.Sc.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dr. Eng. Heri Satria, M.Si.
NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 08 Oktober 2025

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Jeni Ayu Maulika
NPM : 2117021110
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya dan sesungguhnya, bahwa skripsi saya yang berjudul **“Seleksi dan Karakterisasi Enzim Ekstraseluler Mananase dari Bakteri Probiotik (*Bacillus* sp.)”** merupakan karya tulis ilmiah hasil pemikiran sendiri baik gagasan, data, maupun pembahasannya berdasarkan pengetahuan serta informasi yang telah saya dapatkan, skripsi ini saya susun dengan mengikuti pedoman dan norma akademik yang berlaku.

Demikian pernyataan ini saya buat, apabila pada kemudian hari ditemukan kecurangan dalam karya tulis ilmiah ini, saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 30 September 2025

Yang menyatakan,



Jeni Ayu Maulika
NPM. 2117021110

RIWAYAT HIDUP



Penulis lahir di Tanjung Raya, Lampung Barat, pada tanggal 02 Juni 2003 dari pasangan Bapak Burniyat dan Ibu Neni Santriyana. Penulis merupakan anak pertama dari tiga bersaudara. Penulis menyelesaikan pendidikan di TK Dharma Wanita pada tahun 2009, Madrasah Ibtidaiyah Negeri 1 Lampung Barat lulus pada tahun 2015, Madrasah Tsanawiyah Negeri 1 Lampung Barat pada tahun 2018, Madrasah Aliyah Negeri 1 Bandar Lampung lulus pada tahun 2021. Penulis terdaftar sebagai mahasiswa S1 Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur SBMPTN pada tahun 2021.

Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi asisten praktikum di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA UNILA. Penulis juga aktif berorganisasi dengan keikutsertaan menjadi anggota bidang SAINTEK di Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO). Kuliah Kerja Nyata (KKN) penulis dilaksanakan di Desa Kedaton, Kecamatan Batang Hari Nuban, Kabupaten Lampung Timur selama 40 hari. Penulis juga melaksanakan Kerja Praktik di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Samaun Samadikun, Cisitu, Bandung pada Januari-Februari 2024 dengan judul **“Identifikasi Bakteri dan Jumlah Materi Padat dalam Sampel Cucian Darah Pembalut Sekali Pakai di BRIN Samaun Samadikun Cisitu Bandung”**.

MOTTO

“Hidup bukan tentang menunggu badai berlalu,
Tapi belajar menari di tengah hujan.
Setiap tetes yang jatuh adalah pelajaran,
Membentuk jiwa yang kuat dan penuh harapan”

“Every path is unique,
No two journeys the same,
Life’s beauty lies in difference,
In walking your own way”

PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Segala puji bagi Allah Subhanahu wa ta'ala yang selalu menunjukkan jalan kebaikan dan melimpahkan nikmat sehat, sehingga atas Ridho-Nya karya ini dapat terselesaikan dengan baik dan salam tercurah kepada Rasul kami, Nabi Muhammad Sallallahu alayhi wa sallam. Saya persembahkan karya ini dengan setulus hati kepada:

Yang teristimewa orang tua saya terkasih, ayah dan ibu yang selalu menyebut nama saya dalam doa, serta selalu memberikan segalanya untuk pendidikan saya, yang menjadi sumber kekuatan saya untuk tetap bertahan dalam mewujudkan cita-cita. Serta kepada adik-adik saya tersayang, Bayu dan Barra yang senantiasa mendukung dan memberikan semangat.

Teruntuk yang saya hormati, Bapak Ibu Guru dan Dosen atas dedikasi yang telah mengajarkan ilmu pengetahuan dan nilai-nilai moral dengan penuh keikhlasan dan kasih sayang.

Teruntuk teman-teman tersayang, yang telah memberikan pengalaman, dukungan, serta canda tawa selama masa studi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillahirabbil'alamin, segala puji dan syukur kehadiran Allah Subhanahu wa ta'ala yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi dengan judul **“Seleksi dan Karakterisasi Enzim Ekstraseluler Mananase dari Bakteri Probiotik (*Bacillus* sp.)”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains di Universitas Lampung. Penelitian ini merupakan bagian dari proyek penelitian Bapak Prof. Dr. Sumardi, M.Si.

Berbagai pihak yang telah mendukung, membantu, serta berperan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini, penulis mengucapkan terimakasih dengan tulus kepada:

1. Allah Subhanahu wa ta'ala atas berkat rahmat dan kasih sayang-Nya, skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
2. Ibu Prof. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M. selaku Rektor Universitas Lampung.
3. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, M.Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
4. Bapak Dr. Jani Master, M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
5. Bapak Prof. Dr. Sumardi, M.Si. selaku Dosen Pembimbing utama, yang senantiasa membimbing dan memberikan masukan, ilmu, motivasi, saran, kritik dan semangat dalam proses penyelesaian skripsi.
6. Bapak Ir. Salman Farisi, M.Si. selaku Dosen Pembimbing kedua, yang senantiasa membimbing, memberikan ilmu, memberikan waktu, motivasi dan semangat selama proses penyelesaian skripsi.
7. Bapak Prof. Dr. Gregorius Nugroho Susanto, M.Sc. selaku Dosen Penguji yang senantiasa membimbing, memberikan ilmu, memberikan waktu, dan motivasi.

8. Bapak Prof. Dr. Hendri Busman, M. Biomed. Selaku Pembimbing Akademik.
9. Segenap keluarga “Umpu Datuk H. Mad Bayuni” yang selalu memberikan kasih sayang yang tulus. Terimakasih atas motivasi dan doa-doa untukku.
10. Ibu Oni Mastuti, S.Si., selaku Laboran Lab. Mikrobiologi FMIPA Universitas Lampung atas segala bantuan, semangat, kasih sayang, dan doa untuk semua peneliti di Laboratorium Mikrobiologi.
11. Mega Astuti, Chela Aprilia, Restu Apriliani, Tara Febri Dinanti, terimakasih telah memberikan semangat dan dukungan.
12. Adesia Nindi Kirana, Febby Larasati, Haniifah Washfah dan Marcella Syahputri, terimakasih untuk semangat, canda tawa, bantuan dan kebersamaannya yang telah menjadi cerita di kehidupan perkuliahan saya.
13. Vivin Stevani, rekan penelitian saya di Laboratorium Mikrobiologi yang selalu membersamai penulis menyelesaikan tugas akhir.
14. Teman-teman seperjuangan Biologi Angkatan 2021.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, namun besar harapan penulis skripsi ini dapat memberikan manfaat untuk pembaca.

Bandar Lampung, 30 September 2025

Jeni Ayu Maulika

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR TABEL.....	v
DAFTAR GAMBAR	vi
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Penelitian	1
1.2. Tujuan Penelitian	2
1.3. Kerangka Teoritis.....	3
1.4. Hipotesis	4
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. <i>Bacillus</i> sp.	5
2.2. Manan	6
2.3. Enzim Mananase	7
2.4. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim Mananase	8
2.4.1. Suhu.....	8
2.4.2. pH	9
2.5. Mekanisme Kerja Enzim	10
2.6. Bakteri Mananolitik	11
2.7. Probiotik	12
2.8. Reagen DNS (<i>Dinitro salicylic acid</i>)	13
III. METODE PENELITIAN.....	14
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	14
3.2. Alat dan Bahan Penelitian.....	14
3.3. Jenis dan Rancangan Penelitian	14
3.4. Pelaksanaan Penelitian.....	15
3.4.1. Persiapan Media Produksi.....	15
3.4.2. Seleksi Bakteri Mananolitik.....	15
3.4.3. Produksi Enzim Mananase.....	16
3.4.4. Uji Aktivitas Enzim Mananase.....	16
3.5. Diagram Alir Penelitian	18
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	19
4.1. Uji Kualitatif <i>Bacillus</i> sp.	19
4.2. Aktivitas Enzim Mananase.....	20

4.3. Pengaruh Suhu Terhadap Aktivitas Enzim Mananase.....	22
4.4. Pengaruh PH Terhadap Aktivitas Enzim Mananase.....	23
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	25
5.1. Kesimpulan.....	25
5.2. Saran.....	25
DAFTAR PUSTAKA.....	26
LAMPIRAN.....	32

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Uji kualitatif Mananolitik <i>Bacillus</i> sp.	19
2. Perbandingan Aktivitas Enzim Mananase dari Berbagai Mikroorganisme di Indonesia.....	20
3. Uji Aktivitas Enzim (Suhu Optimum).....	34
4. Uji Aktivitas Enzim (pH Optimum).....	34
5. Penentuan Kurva Standar Manosa.....	35

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Koloni <i>Bacillus cereus</i> dan Mikroskopis <i>Bacillus cereus</i>	6
2. Hidrolisis Senyawa Manan oleh Enzim Mananase.....	7
3. Hubungan Suhu dengan Aktivitas Enzim.....	9
4. Proses Denaturasi.....	9
5. Hubungan pH dengan Aktivitas Enzim.....	10
6. Model Kunci dan Anak Kunci.....	10
7. Model <i>Induced Fit</i>	11
8. Gugus Aldehid dan Keton.....	13
9. Reaksi DNS.....	13
10. Diagram Alir Penelitian.....	18
11. Uji Aktivitas Enzim secara Kualitatif.....	20
12. Pengaruh Suhu pada Aktivitas Enzim.....	22
13. Pengaruh pH pada Aktivitas Enzim.....	23
14. Kurva Standar Manosa.....	35
15. Persiapan Media Produksi.....	37
16. Seleksi Bakteri Mananolitik.....	37
17. Produksi Enzim Mananase.....	37
18. Uji Aktivitas Enzim Mananase (Suhu Optimum).....	38

19. Uji Aktivitas Enzim Mananase (pH Optimum).....	38
20. Uji Aktivitas Enzim Mananase Sebelum Dipanaskan.....	40
21. Uji Aktivitas Enzim Mananase Setelah Dipanaskan.....	40
22. Uji Kadar Gula Standar.....	40
23. Perbedaan Uji Aktivitas Enzim Mananase pada Uji dan Kontrol.....	41

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Penelitian

Komoditas udang merupakan salah satu komoditas perikanan yang paling banyak diminati dan memiliki nilai jual yang tinggi di pasar domestik dan internasional. Di Indonesia, budidaya udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) telah berkembang pesat. Oleh karena itu, udang vanname telah menjadi produk ekspor penting dan memberikan kontribusi signifikan terhadap peningkatan perekonomian nasional (Aziza dan Chaidir, 2024). Produksi udang pada tahun 2023 mencapai 1,097 juta ton (KKP, 2023).

Keberhasilan usaha budidaya udang didukung oleh beberapa faktor, seperti manajemen kualitas air untuk memantau parameter seperti oksigen terlarut, salinitas, pH, dan suhu agar tetap optimal, pemilihan benur, dan kualitas pakan. Upaya yang dapat dilakukan untuk meningkatkan nilai gizi pakan adalah dengan bakteri salah satu pendukung yaitu probiotik (Telaumbanua dkk., 2023).

Probiotik adalah mikroorganisme hidup, terutama bakteri baik, yang memiliki kemampuan untuk menyeimbangkan populasi mikroba, mendorong pertumbuhan dan meningkatkan kualitas air dengan mengurangi patogenesitas (Telaumbanua dkk., 2023). Probiotik mampu meningkatkan proses penyerapan nutrisi pada pakan karena dibantu oleh bakteri-bakteri probiotik di saluran pencernaan sehingga meningkatkan pertumbuhan (Djauhari dkk., 2022).

Probiotik yang baik memiliki kemampuan untuk memecah makromolekul hemiselulosa yang ada di pakan udang. Pakan udang seperti dedak padi memiliki kandungan hemiselulosa yang bervariasi menurut varietas, dengan nilai sekitar 98 % untuk varietas *Ir.66*, 10,62 % untuk *Cigelis*, dan 11,35 % untuk

Inpari (Hasyim dan Manaf, 2021). Hemiselulosa merupakan polisakarida terbesar kedua setelah selulosa, dengan rumus kimia $(C_5H_8O_4)_n$ terdiri dari xilan, manan, arabinogalaktan dan arabinan (Fitriani dkk., 2018). Salah satu makromolekul yang terdapat di pakan udang adalah manan. Untuk memecah manan tersebut maka diperlukan bakteri probiotik yang memiliki enzim mananase. Enzim mananase merupakan komponen hemiselulosa penting dalam industri pangan dan pakan, enzim ini berperan dalam meningkatkan pencernaan pakan dengan menyederhanakan karbohidrat kompleks (Rismayanti, 2018). Enzim mananase dalam pakan udang juga berfungsi mendukung dan membantu mengatasi kandungan serat tinggi dari bahan baku seperti bungkil sawit (Sainah dkk., 2016). Pakan udang dengan serat tinggi dapat mempengaruhi efisiensi pencernaan dan pertumbuhan udang. Serat kasar yang tinggi sering kali sulit dicerna, mengakibatkan penurunan daya cerna nutrisi, yang berdampak negatif pada penambahan berat udang. Selain itu, serat tinggi dapat menyebabkan penumpukan lemak pada tubuh udang, dan menurunkan kelangsungan hidup udang. Oleh karena itu, penting untuk menyeimbangkan kandungan serat dalam pakan agar mendukung pertumbuhan optimal udang (Megawati, 2017).

Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan dari penelitian Rahmawati, dkk (2020). Di laboratorium mikrobiologi, FMIPA Unila memiliki beberapa koleksi bakteri *Bacillus* sp. Bakteri tersebut telah dikarakterisasi namun untuk karakterisasi enzim mananase belum dilakukan. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk menyeleksi dan mengkarakterisasi enzim ekstraseluler mananase yang dihasilkan oleh bakteri probiotik *Bacillus* sp.

1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah:

1. Menyeleksi isolat bakteri *Bacillus* sp. unggul dari kultur stok laboratorium mikrobiologi yang memiliki kemampuan mannanolitik yang tinggi.
2. Mengetahui karakteristik spesifik dari enzim mananase yang dihasilkan.

1.3. Kerangka Teoritis

Probiotik sangat penting untuk kesehatan udang karena mereka membantu menekan pertumbuhan bakteri patogen yang dapat menyebabkan penyakit. Dengan meningkatkan keseimbangan mikroba di usus udang, probiotik juga memperkuat sistem kekebalan tubuh, meningkatkan pencernaan, dan memproduksi senyawa antibakteri. Selain itu, probiotik berkontribusi pada perbaikan kualitas air dengan menguraikan bahan organik berbahaya, sehingga menciptakan lingkungan yang lebih sehat untuk budidaya udang. Penggunaan probiotik juga lebih ramah lingkungan dibandingkan dengan penggunaan antibiotik.

Bakteri probiotik penghasil enzim ekstraseluler berperan penting dalam meningkatkan pencernaan pada tubuh udang. Bakteri probiotik bersaing dengan bakteri patogen untuk mendapatkan nutrisi dan ruang di usus udang, sehingga mengurangi risiko infeksi. Secara keseluruhan, bakteri probiotik penghasil enzim ekstraseluler dapat membantu mereka menyerap lebih banyak nutrisi, dan meningkatkan daya tahan terhadap stres. Hal ini dapat membantu meningkatkan produktivitas budidaya udang dan mengurangi risiko penyakit.

Pada bakteri probiotik enzim ekstraseluler tersebut, enzim ekstraseluler dilepaskan oleh bakteri ke lingkungan sekitarnya. Enzim ekstraseluler mananase berfungsi memecah manan menjadi manosa dan manooligosakarida. Proses tersebut dapat meningkatkan ketersediaan nutrisi dan energi. Hal ini berkontribusi pada pertumbuhan udang yang lebih baik dan kelangsungan hidup udang yang lebih tinggi.

Dalam penelitian ini akan dilakukan seleksi untuk mencari mananase terbaik. Selanjutnya enzim diproduksi dan dikarakterisasi terhadap pengaruh pH dan suhu.

1.4. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah:

1. Didapatkannya isolat bakteri *Bacillus* sp. unggul dari kultur stok laboratorium mikrobiologi yang memiliki kemampuan mannanolitik yang tinggi.
2. Didapatkannya karakteristik spesifik dari enzim mananase yang dihasilkan

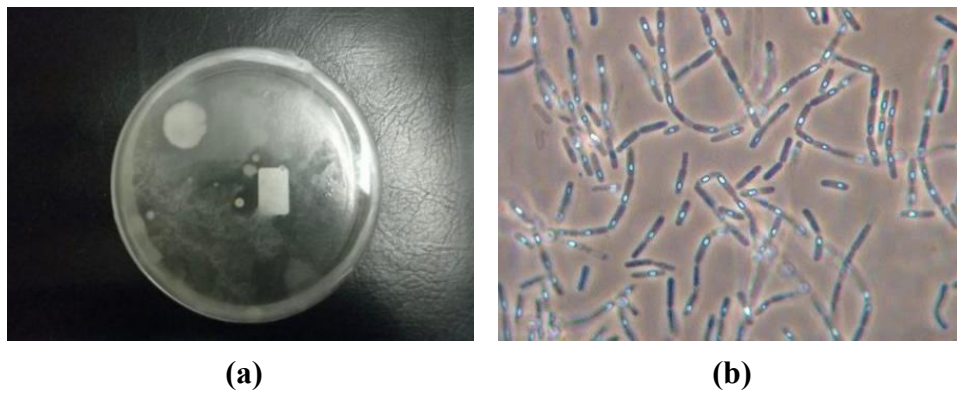
II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Bacillus* sp.

Bakteri *Bacillus* sp. adalah kelompok bakteri gram positif yang dikenal memiliki bentuk khas yang menyerupai batang. *Bacillus* sp. memiliki berbagai ukuran sel. Biasanya memiliki lebar 0,5 hingga 2,5 mikrometer dan panjang 1 hingga 10 mikrometer, dengan beberapa spesies menunjukkan perbedaan dalam panjang dan ketebalan (Bergey dan Boone, 2009).

Dinding sel dari *Bacillus* sp. memiliki ketebalan dan terdiri dari peptidoglikan, yang merupakan ciri utama dari bakteri Gram-positif. Ini memberikan stabilitas struktural serta menjaga kemampuan untuk mempertahankan pewarnaan Gram selama proses mikroskopis. Selain itu, dinding sel ini memiliki peran dalam interaksi dengan lingkungan eksternal dan juga menciptakan ketahanan terhadap tekanan osmotik. Morfologi dari *Bacillus* sp. sangat penting untuk proses identifikasi dan berhubungan erat dengan fungsi fisiologis serta kemampuan bakteri untuk beradaptasi di berbagai lingkungan (Faturrahman dkk., 2025).

Bacillus sp. biasanya ditemukan pada kultur yang tumbuh dalam media padat dalam bentuk tunggal, berpasangan, atau rantai pendek. Kemampuan *Bacillus* sp. untuk membentuk spora endospora adalah salah satu ciri paling menonjol, mereka sangat tahan terhadap suhu tinggi, kekeringan, dan radiasi (Ghosh dkk., 2016). Spora ini biasanya ditemukan di ujung sel, menghasilkan tampilan morfologi unik yang dapat mengidentifikasi spesies (Nakamura, 2010). *Bacillus* sp. juga memiliki banyak sifat fisiologis, yang membedakannya dari bakteri lain. Hal ini termasuk reaksi positif terhadap uji katalase dan kemampuan untuk menghidrolisis pati (Wang, 2018).



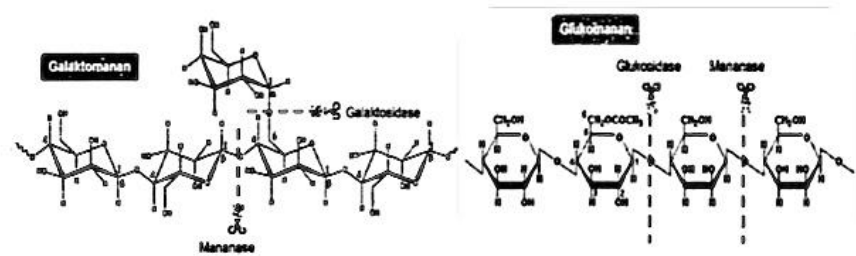
Gambar 1. (a) Koloni *Bacillus cereus* (b) Mikroskopis *Bacillus cereus*
(Sumber: Manikome, 2022)

Taksonomi *Bacillus* sp. secara lengkap menurut De Vos et al, (2009) adalah sebagai berikut.

Kingdom : Bacteria
 Division : Firmicitus
 Class : Bacilli
 Ordo : Bacillales
 Family : Bacillaceae
 Genus : *Bacillus*
 Spesies : *Bacillus* sp.

2.2. Manan

Manan adalah polisakarida yang terdiri dari unit manosa yang banyak ditemukan dalam berbagai sumber alami, seperti jamur, alga, dan biji-bijian. Manan melakukan berbagai fungsi biologis, seperti menyimpan energi dan memberikan dukungan struktural pada jaringan, dan merupakan bagian penting dari struktur sel (Winarno dan Tanjung, 2020). Manan terletak pada dinding sel tanaman karena hemiselulosa, polisakarida yang banyak ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi.



Gambar 2. Hidrolisis Senyawa Manan oleh Enzim Mananase
(Sumber: Sigres dan Sutrisno, 2015)

Dalam klasifikasi manan, ada empat subfamili : glukomanan, galaktomanan, galaktoglukomanan, dan manan (Sigres dan Sutrisno, 2015). Manan dapat terhidrolisis dan menghasilkan manosa dan manooligosakarida. Manosa (polimer manan) yang diselingi dengan galaktosa juga disebut galaktomanan. Galaktomanan terdapat pada bungkil inti kelapa sawit dan pada tanaman legume sebagai penyusun biji (Jorgensen et al., 2010). Manan dapat berfungsi sebagai prebiotik, yang dapat meningkatkan kesehatan pencernaan dengan membantu pertumbuhan mikroorganisme baik di dalam usus (Gibson dkk., 2017).

2.3. Enzim Mananase

Mananase adalah enzim yang berfungsi untuk memecah substrat yang mengandung mannan (Hames dan Hooper, 2005). Enzim ini tergolong dalam kategori hidrolase dan berfungsi dalam mengkatalisasi proses hidrolisis polimer. Mananase bekerja dengan memecah ikatan β -1.4 (pada molekul polisakarida) yang menghubungkan manosa dengan manosa. Proses ini mengubah heteromanan yang kaya menjadi manooligosakarida serta sejumlah manosa, glukosa, dan galaktosa. Enzim mananase memecah β -1.4-D-mannopyranosyl dalam struktur utama polimer manan, menghasilkan rantai yang lebih singkat berupa manooligosakarida. Setelah itu, produk ini akan dihidrolisis lebih lanjut oleh enzim mannosidase dan α -galaktosidase, menghasilkan manosa dan galaktosa (Sigres dan Sutrisno, 2015).

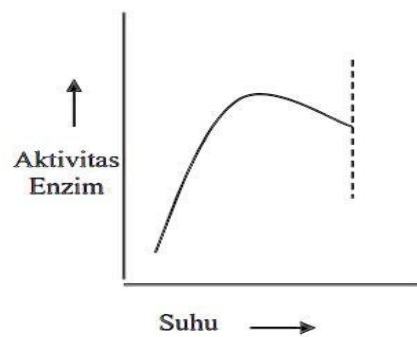
Aktivitas enzim mananase bervariasi tergantung pada sumbernya. Enzim mananase biasanya berasal dari mikroba karena dapat dibuat dalam jumlah besar, dapat berupa enzim intraseluler dan ekstraseluler, dan dapat diisolasi dengan lebih mudah. Ada banyak tanaman, bakteri, jamur, dan moluska yang dapat menghasilkan enzim mananase (Xu, 2002). Tanah, pupuk kompos, dan perut hewan adalah tempat mikroorganisme dapat ditemukan. Tanah adalah media penyimpanan terbaik sekaligus sumber luas mikroorganisme jamur dan mikroba (Zakaria dkk., 1998).

2.4. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim Mananase

Aktivitas enzim dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti waktu inkubasi, pH, suhu. Enzim akan bekerja paling baik sesuai dengan kondisi optimumnya (Delfiana dkk., 2023).

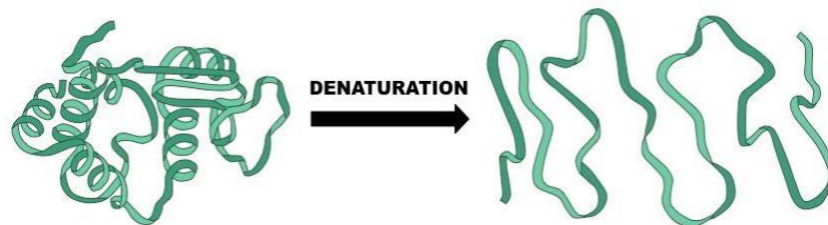
2.4.1. Suhu

Suhu berpengaruh terhadap kecepatan reaksi katalisis enzim dengan dua cara. Pertama, kenaikan suhu akan menaikkan energi dari molekul substrat, yang pada gilirannya meningkatkan kecepatan reaksi enzim. Kenaikan suhu juga berdampak pada perubahan bentuk substrat, sehingga menghalangi area reaktif substrat untuk berinteraksi dengan tempat aktif enzim, yang mengakibatkan penurunan efektivitas enzim. Kedua, peningkatan energi termal dari molekul-molekul yang membentuk struktur protein enzim mengakibatkan hilangnya interaksi kovalen (seperti ikatan hidrogen, interaksi van der Waals, interaksi hidrofobik, dan interaksi elektrostatik) yang menjaga bentuk tiga dimensi enzim, sehingga menyebabkan denaturasi enzim (Hames dan Hooper, 2000).



Gambar 3. Hubungan Suhu dengan Aktivitas Enzim
(Sumber: Rachmat, 2021).

Denaturasi adalah suatu keadaan dimana terjadi perubahan atau modifikasi struktur enzim. Denaturasi enzim dapat terjadi karena adanya pengaruh pemanasan, penambahan asam, penambahan basa, dan penambahan garam (Novika dkk., 2021). Denaturasi membuat struktur lipatan enzim di permukaannya menjadi terbuka, yang mengubah area aktif enzim dan mengurangi kinerjanya (Hames dan Hooper, 2005).

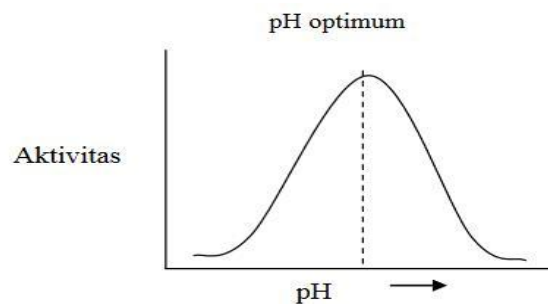


Gambar 4. Proses Denaturasi
(Sumber: asset.kompas.com)

2.4.2. pH

Perubahan pH juga dapat menyebabkan denaturasi pada enzim karena gangguan pada kelompok ioniknya. Kelompok ionik ini memiliki peranan penting dalam mempertahankan bentuk sisi aktif enzim agar dapat mengikat dan mengubah substrat menjadi produk. Enzim mencapai tingkat aktivitas tertingginya pada pH tertentu. Terdapat enzim yang paling efektif dalam lingkungan asam dan enzim yang berfungsi paling baik dalam lingkungan basa. Namun,

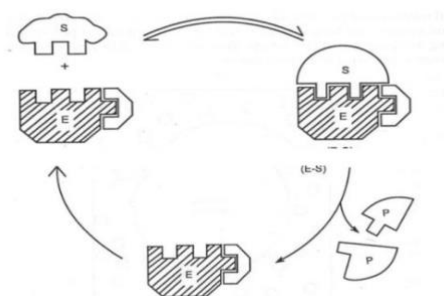
sebagian besar enzim bekerja dengan optimal pada pH netral (Hames dan Hooper, 2005).



Gambar 5. Hubungan pH dengan Aktivitas Enzim
(Sumber: Shahib, 2005).

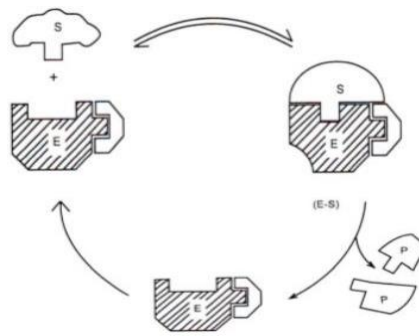
2.5. Mekanisme Kerja Enzim

Kerja enzim didasarkan pada dua tahap. Tahap pertama, enzim (E) bergabung dengan substrat (S) untuk membentuk kompleks enzim substrat (E-S). Tahap kedua, kompleks enzim-substrat terurai menjadi produk dan enzim bebas. Terdapat dua model pada kegiatan enzim dalam mempengaruhi substrat sehingga diperoleh zat hasil, yaitu model kunci dan anak kunci, dan model induced fit.



Gambar 6. Model Kunci dan Anak Kunci
(Sumber: Santoso, 2010)

Substrat atau bagian substrat pada model kunci dan anak kunci (Gambar 6) harus ditarik oleh sisi katalik enzim yang cocok untuk substrat sehingga terbentuk kompleks enzim substrat.



Gambar 7. Model *Induced Fit*
(Sumber: Santoso, 2010)

Pada model *induced fit* (Gambar 7), menunjukkan konfigurasi yang tidak kaku. Setelah pengikatan, enzim berubah bentuk untuk menyesuaikan diri dengan bentuk substrat. Oleh karena itu, tautan yang sesuai pada keduanya dapat diinduksi ketika terbentuk kompleks enzim-substrat (Santoso, 2010).

Faktor suhu dan pH mempengaruhi enzim tertentu dalam mekanisme kerja enzim. Hanya suhu dan pH yang ideal yang memungkinkan aktivitas enzim berlangsung dengan baik, enzim yang bekerja pada suhu dan pH yang tidak ideal akan cepat terdenaturasi (Prihatini, 2021).

2.6. Bakteri Mananolitik

Bakteri mananolitik adalah mikroorganisme penghasil enzim mananase dan dapat mendegradasi senyawa manan dan turunannya (Utami dkk., 2016) yang sering ditemukan dalam biji-bijian, limbah pertanian, dan bahan nabati lainnya. Kemampuan ini sangat penting untuk siklus karbon dan proses biodegradasi. Selain itu, dapat digunakan dalam industri makanan, pakan ternak, dan bioteknologi (Meryandini dkk., 2008). Bakteri mananolitik biasanya hidup di tempat yang mengandung substrat manan, seperti tanah dan limbah organik (Seftiono, 2017). Untuk melakukan isolasi bakteri mananolitik, isolat bakteri ditanam pada media yang mengandung substrat manan.

2.7. Probiotik

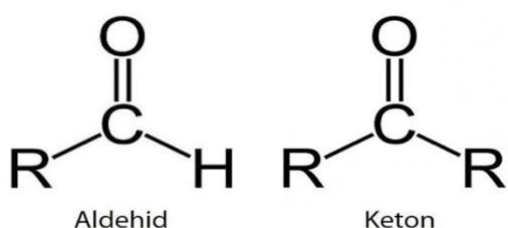
Probiotik adalah makanan tambahan yang terdiri dari sel-sel mikroba hidup yang membantu hewan inang mengonsumsinya dengan mengubah flora mikroba intestinalnya (Fuller, 1987) dan membantu komunitas mikroba di sekitarnya (Verschere dkk., 1999). Probiotik adalah segala bentuk preparasi sel mikroba atau komponen sel mikroba yang membantu kesehatan dan kehidupan inang. Diperkenalkan oleh Elies Merchinikoff pada awal abad ke-20 istilah “*probiotik*” berasal dari bahasa Yunani yang berarti “untuk kehidupan” (Hill dkk., 2014). Probiotik harus memiliki karakteristik berikut ; 1) tidak bersifat patogen atau mengganggu inang, tidak bersifat patogen bagi konsumen (manusia atau hewan lainnya), 2) tidak mengganggu keseimbangan ekosistem setempat, 3) dapat diperbanyak dengan mudah 4) dapat hidup dan berkembang biak di dalam usus ikan, dan 5) dapat hidup dan berkembang di dalam air wadah pemeliharaan ikan (Feliatra, 2002).

Probiotik memiliki beberapa manfaat bagi kesehatan tubuh, termasuk:

1. Fungsi protektif, yaitu melindungi saluran pencernaan dari patogen. Kolonisasi probiotik di saluran pencernaan menyebabkan persaingan nutrisi dan penempelan antara probiotik dan bakteri lain, terutama, patogen. Berbagai jenis anti bakteri, seperti bakteriosin, asam organik dan hidrogen peroksida, akan diproduksi saat probiotik berkembang.
2. Fungsi sistem kekebalan tubuh, yaitu meningkatkan sistem kekebalan melalui kemampuan probiotik untuk menginduksi pembentukan IgA, aktivasi 15 makrofag, mengubah profil sitokin, dan menyebabkan kurang responsif terhadap antigen dari makanan.
3. Fungsi metabolit probiotik yaitu metabolisme yang dihasilkan oleh probiotik termasuk kemampuan probiotik untuk menghancurkan laktosa dalam produk susu terfermentasi (Yuniastuti, 2014).

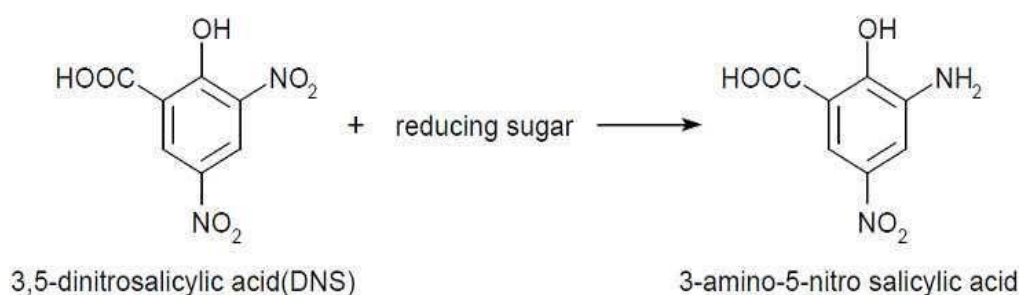
2.8. Reagen DNS (*Dinitro salicylic acid*)

Gula pereduksi adalah golongan gula (karbohidrat) yang mampu mereduksi senyawa penerima elektron, ujung dari suatu gula pereduksi terdapat gugus aldehid atau keton bebas. Beberapa monosakarida yang termasuk dalam gula pereduksi diantaranya glukosa, xilosa, fruktosa, dan galaktosa (Danu dkk., 2022).



Gambar 8. Gugus Aldehid dan Keton

Reaksi gula pereduksi dengan reagen DNS merupakan reaksi redoks dimana gugus aldehid yang bertindak sebagai pereduksi akan teroksidasi menjadi karboksil sedangkan DNS yang bertindak sebagai oksidator akan tereduksi membentuk asam 3-amino-5-nitrosalisat. Apabila terdapat gula pereduksi pada sampel, maka larutan DNS yang awalnya berwarna kuning bereaksi dengan gula pereduksi akan menimbulkan warna jingga kemerahan (Ruswandi dkk., 2018). Reagen DNS yang digunakan dalam mengukur gula pereduksi terdiri dari asam dinitrosalisilat, garam *Rochelle* dan natrium hidroksida.



Gambar 9. Reaksi DNS

(Sumber: Osama *et al.*, 2022)

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Februari-Juli 2025 dan dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

3.2. Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang akan digunakan pada penelitian ini antara lain *beaker glass*, *hotplate*, *magnetic stirrer*, *erlenmeyer*, *sentrifuge*, *autoklaf*, mikroskop, cawan petri, ose bulat, bunsen, neraca analitik, *waterbath*, *orbital shaker*, inkubator, mikropipet, tabung reaksi, rak tabung reaksi, batang pengaduk, oven, gelas ukur, *stopwatch*, BSC (*Biology Safety Cabinet*), kulkas, spektrofotometer.

Bahan-bahan yang akan digunakan pada penelitian ini antara lain sampel *Bacillus* sp., media cair *Sea Water Complete* (SWC) dengan komposisi *Pepton* (0.5 %), *Yeast Extract* (0.1 %), *Glycerol* (0.3 %), *Agar* (1.5 %), *Aquadest* (25 %), *Air laut* (75 %), *Amonium sulfat*, *locust bean gum*, *Buffer*, *congo red*, plastik selofan.

3.3. Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif kuantitatif. Tahapan penelitian meliputi persiapan media produksi, seleksi bakteri mananolitik, produksi enzim mananase, dan uji aktivitas enzim mananase.

3.4. Pelaksanaan Penelitian

Isolat *Bacillus* yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Kemampuan *Bacillus* sp. untuk mananolitik ditentukan dengan menumbuhkan isolat pada media agar yang mengandung 0,5 % *locust bean gum*. Kemampuan mananolitik ditandai dengan adanya zona jernih yang terbentuk di sekitar koloni.

3.4.1. Persiapan Media Produksi

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Sea Water Complete* (SWC) dengan komposisi *Pepton* (0.5 %), *Yeast Extract* (0.1 %), *Glycerol* (0.3 %), *Agar* (1.5 %), *Aquadest* (25 %), *Air laut* (75 %). Semua bahan ditimbang terlebih dahulu selanjutnya dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* dan dipanaskan dengan *hotplate* dan di homogenkan dengan *magnetic stirrer*. Selanjutnya media disterilkan dengan suhu 121 °C dan tekanan 2 atm selama 15 menit menggunakan *autoklaf*. Media disimpan pada kondisi dingin.

3.4.2. Seleksi Bakteri Mananolitik

Isolat bakteri ditumbuhkan pada medium *Sea Water Complete* (SWC) dengan penambahan *locust bean gum* sebanyak 0,5 % dilanjutkan inkubasi selama 24 jam. Koloni yang tumbuh lalu diwarnai dengan 1 % *congo red* selama 15 menit, kemudian dicuci kembali menggunakan 1 M NaCl. Pengamatan yang dilakukan meliputi morfologi koloni dan sel serta indeks mananolitiknya. Morfologi koloni meliputi bentuk, warna, elevasi, dan margin. Morfologi sel diketahui dengan pewarnaan Gram. Indeks mananolitik ditentukan melalui perbandingan antara luas zona jernih yang terbentuk dan luas koloni bakteri sesuai dengan rumus :

$$\text{Indeks mananolitik} = \frac{\text{Diameter zona jernih}}{\text{Diameter koloni}}$$

3.4.3. Produksi Enzim Mananase

Erlenmeyer volume 250 ml diisi dengan 50 ml media produksi, selanjutnya kultur isolat bakteri 1 ose diinokulasikan. Setelah itu biakan diinkubasi selama 6 jam, 12 jam dan 18 jam, pada suhu 37 °C. Selanjutnya kultur disentrifuge dengan kecepatan 8500 rpm selama 15 menit pada suhu 4 °C. Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar enzim mananase.

3.4.4. Uji Aktivitas Enzim Mananase

Pada uji aktivitas enzim mananase dilakukan dengan 2 variasi yaitu variasi suhu dan variasi pH. Aktivitas enzim mananase diuji dengan menggunakan metode DNS (*Dinitro salicylic acid*) dengan mengukur jumlah gula pereduksi yang dilepaskan *locust bean gum*.

- **Suhu Optimum**

Untuk menentukan suhu yang optimum, disediakan sebanyak 5 tabung reaksi yang berbeda. Pada setiap tabung dimasukkan *locust bean gum* 0,5 % sebanyak 1 ml dan ditambahkan dengan buffer pH yang optimum. Pada setiap tabung ditambahkan dengan 1 ml ekstrak kasar enzim mananase dan diinkubasi pada suhu 30 °C, 40 °C, 50 °C dan 60 °C selama 60 menit. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 1 ml reagen DNS dalam campuran reaksi. Selanjutnya tabung dipanaskan dalam air pada suhu 100 °C selama 15 menit. Gula reduksi diukur dengan menggunakan spektrofotometer 575 nm.

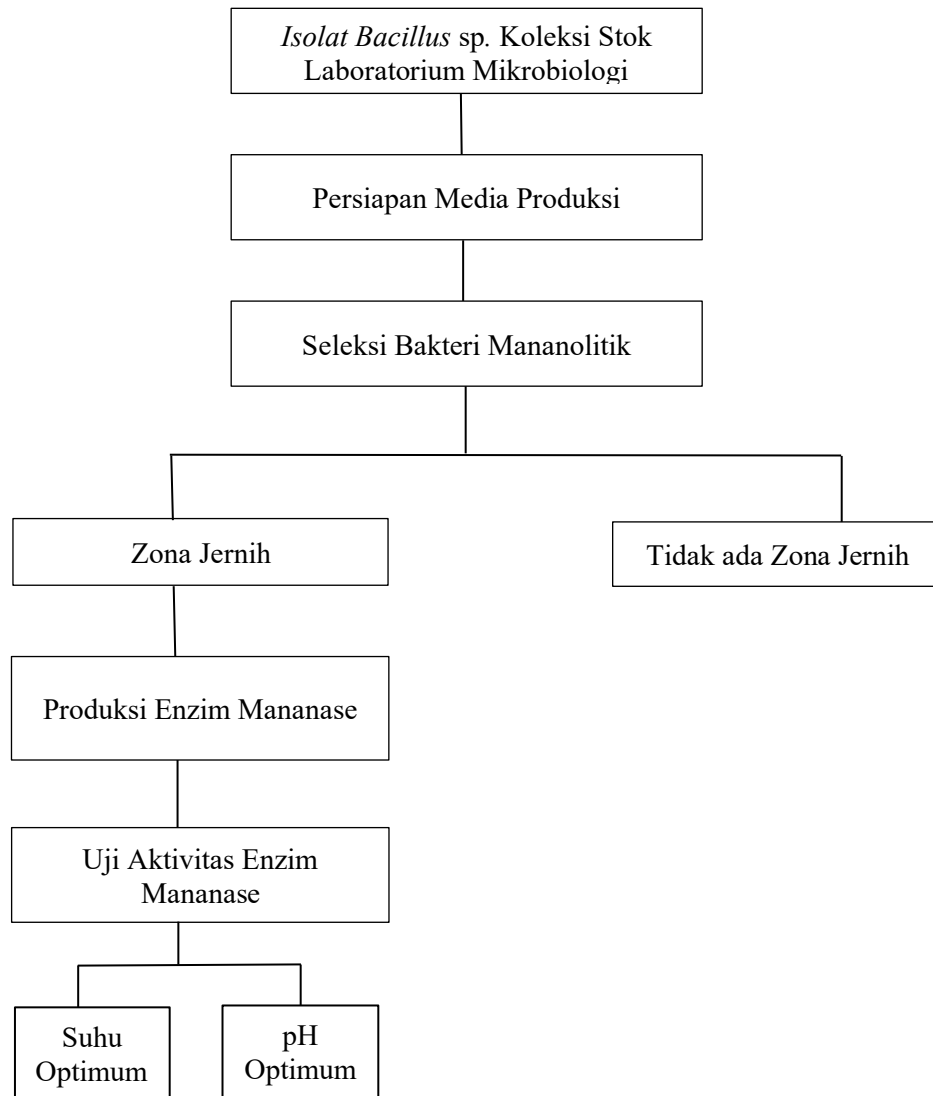
- **pH Optimum**

Untuk menentukan pH yang ideal, disediakan sebanyak 6 tabung reaksi yang berbeda. Pada setiap tabung dimasukkan *locust bean gum* 0,5 % sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan dengan buffer (buffer asetat pH 5 dan buffer fosfat pH 6, 7, 8, dan 9). Pada setiap tabung ditambahkan dengan 1 ml ekstrak kasar enzim mananase dan

diinkubasi pada suhu ruang 30 °C selama 30 menit. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 1 ml reagen DNS dalam campuran reaksi. Selanjutnya tabung dipanaskan dalam air pada suhu 100 °C selama 15 menit. Gula reduksi diukur dengan menggunakan spektrofotometer 575 nm.

U/ml (Unit per milliliter) adalah satuan yang dipakai untuk mengukur aktivitas enzim dalam suatu larutan, yang menunjukkan berapa banyak unit enzim aktif terdapat dalam setiap mililiter larutan tersebut. Satu unit enzim (U) didefinisikan sebagai jumlah enzim yang mampu mengkatalisis konversi 1 mikromol substrat menjadi produk per menit pada kondisi standar, yaitu suhu, pH, dan konsentrasi substrat yang optimal. Dengan kata lain, U/ml mengindikasikan tingkat kemampuan katalitik enzim dalam volume larutan tertentu (Sari dkk., 2024).

3.5. Diagram Alir Penelitian



Gambar 10. Diagram Alir Penelitian

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Adapun kesimpulan pada penelitian ini adalah :

1. Didapatkan enzim mananase isolat *Bacillus* sp. dengan kode IBK 3 yang berasal dari kultur stok Laboratorium Mikrobiologi di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung
2. Karakteristik enzim mananase yakni memiliki suhu optimum 50 °C dan pH optimum 5 dengan aktivitas enzim mananase yaitu 0,225 U/ml.

5.2. Saran

Perlu diteliti lebih lanjut mengenai aplikasi enzim mananase dari *Bacillus* sp. IBK 3, yang ikut berperan dalam probiotik untuk pemecahan pakan pada udang.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Annisa, R. I. 2021. Pengaruh Dosis Asam Humat dan Lama Fermentasi Bungkil Inti Sawit dengan *Bacillus subtilis* Terhadap Aktivitas Mannanase, Selulase dan Protease. *Skripsi*. Unand.
- Aziza, R. N., R. R. A. Chaidir. 2024. Isolasi Bakteri *Vibrio sp.* Resisten Antibiotik pada Sampel Udang Vaname (*Litopenaeus Vannamei*) dari Pasar Seketeng. *Journal of Life Science and Technology*. 2(1): 26-35.
- Aurora. 2003. Isolasi dan Karakterisasi Enzim Mananase *Bacillus Pumilus* DYP-2. *Skripsi*. IPB, Bogor.
- Bergey, D. H., dan D. R. Boone. 2009. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol.3, Ed.2, Springer Science-Business Media. New York.
- Chauhan, P. S., Puri, N., Sharma, P. & Gupta, N. 2012. Mannanases: Microbial Sources, Production, Properties, and Potential Biotechnological Application. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 93, 1817-1830.
- Danu, I. W., A. Assadam., A. N. Nalawati., R. M. 2022. Produksi gula pereduksi dari kulit kopi robusta dengan metode hidrolisis asam. *Jurnal Agrotek*. 16(2): 76-90.
- Delfiana, R. S., T. D. Harlita., A. R. Hartono. 2023. Pengaruh Penyimpanan Reagen Kerja terhadap Aktivitas Enzim Alanine Aminotransferase. *Journal of Indonesian Medical Laboratory and Science* 4(2): 125-135.
- De Vos., Paul., M. George., Garrity., J. Dorothy., R. Noel., Krieg., W. Ludwig., A. Fred., Rainey., K. H. Schleifer and W. B. Whitman. 2009. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd Edition Volume Three : The Firmicutes*. Bergey's Manual Trust. New York.
- Djauhari, R., E. L. S. Siburian., M. C. Wirabakti., S. S. Monalisa dan I. Christiana. 2022. Kinerja Pertumbuhan Ikan Gabus (*Channa striata*) yang Diberi Prebiotik Madu dan Probiotik *Lactocaseibacillus Paracasei*. *Jurnal Perikanan*. 12 (3): 457-466.

- Faturrahman, N. L., Nakadira, N., Anjani, N., Fajriah, B. F., Suryadi, B., Kasman, A. A. M. N., & Setyaningrum, T. W. 2025. The distribution of *Bacillus* spp. in the digestive tract of Arab chicken (*Gallus turcicus*) and the evaluation as indigenous probiotic. *Journal of Animal Health and Production*, 13(1), 12-22.
- Feliatra. 2002. Implementasi dan pengembangan bioteknologi kelautan dalam upaya optimalisasi pemanfaatan laut Indonesia. *Makalah dalam Pengukuhan Guru Besar*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau, Pekanbaru.
- Fitriani., J. Rauf., I. D. Novieta. 2018. Kandungan Sellulosa, Hemiselulosa dan Pakan Komplit Berbasis Tongkol Jagung yang Disubstitusi *Azolla pinnata* pada Level yang Berbeda. *Jurnal Galung Tropika*, 7(3):220 – 228
- Fuller. 1987. A review, probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology* 66:365-378
- Ghosh, A. 2016. "Characteristics of *Bacillus* species: An overview". *Journal of Applied Microbiology*.
- Gibson, G. R., R. Hutkins., M. E. Sanders., S. Prescott., C. Reifer and P. Shetty. 2017. "Expert Consensus Document: The Role of Probiotics in Health and Disease. " *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 14(8), 493-502.
- Ginting, J. 2009. Isolasi Bakteri Dan Uji Aktivitas Enzim Amylase Kasar Termofilik Dari Sumber Air Semangat Gunung Kabupaten Karo, Sumatera Utara (*Thesis*). Medan: Sumut.
- Gupta, R., Singh, S., & Kumar, A. 2019. Effect of pH on the activity and stability of mannanase from *Bacillus* sp.: Structural insights and catalytic implications. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 158, 1-8.
- Hames, D. N., Hooper. 2005. *Biochemistry*. Third edition. Taylor and Francis Group.
- Hasyim., A. Manaf. 2021. Kandungan Hemiselulosa, Selulosa dan Lignin Dedak Padi pada berbagai Varietas Padi di Kabupaten Bima. *SI thesis*, Universitas Mataram.
- Hilge, M., S. M. Gloor., W. Rypniewski., O. Sauer., T. D. Heightman., W. Zimmermann., K. Winterhalter and K. Piontek. 1998. High- resolution native and complex structures of thermostable mannanase from *Thermomonospora fusca*-substrate specificity in glycosil hydrolase family 5. *Research article*, Netherlands.

Hill, C., F. Guarner., G. Reid. 2014. Expert Consensus Document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics Consensus Statement on the Scope and Appropriate Use of Probiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 11(8), 506-51

<https://asset.kompas.com/data/photo/2020/12/11/5fd338dfbcff6.jpeg>

Ire, F., E. Vinking. 2016. Produksi, pemurnian, dan Karakterisasi Poligalakturinase dari *Aspergillus niger* dalam bentuk Padat dan Fermentasi terendam menggunakan Kulit Pisang. *Jurnal Kemajuan Biologi & Bioteknologi* 10 (1): 1-15.

Jiang, Z., W. Yun., L. Daoyi., L. Lite., C. Pingping, and K. Isao. 2006. High-level Production, Purification and Characterization of a Thermostable β - Mannanase from the Newly Isolated *Bacillus subtilis* WY34. *Journal of Elsevier Carbohydrate Polymers* 66:88-96.

Jorgensen, H. A., C. Sanadi., N. Felby., M. Lange., Fischer dan S. Ernst. 2010. Production of ethanol and feed by high dry matter hydrolysis and fermentation of palm Kernel Press Cake. *Appl Biochem Biotechnol* 161(1– 8):318–332.

Kensch, O. 2008. *Mananase engineering for fibre degradation*. Speciality Chemicals Magazine.

KKP, K. K. Dan P. 2023. Statistik-KKP (Produksi Perikanan dan Kelautan).

Kumar, S., & Satyanarayana, T. 2015. Purification and characterization of a thermostable mannanase from *Bacillus subtilis*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72, 1352-1359.

Kumar, S., Singh, R., & Sharma, A. 2022. Production, optimization, and characterization of thermostable mannanase from *Bacillus subtilis* with potential industrial applications. *Journal of Microbial Enzyme Technology*, 15(3), 145-156.

Kumar, S., Singh, P., & Sharma, R. 2020. Screening and characterization of mannanase-producing bacteria from soil samples. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(5), 2103-2112.

Manikome, N. 2022. Isolat Bakteri *Bacillus cereus* Frank. Dari Tanah pada beberapa Kawasan (Studi Kasus Minahasa Tenggara dan Minahasa Selatan). *Journal of Science and Technology*. 2 (2): 196-206.

Megawati, R. A., M. Arief., dan M. A. Alamsjah. 2017. Pemberian Pakan dengan Kadar Serat Kasar yang berbeda terhadap Daya Cerna Pakan pada Ikan Berlambung dan Ikan tidak Berlambung. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 4(1): 47-52.

- Meryandini, A., R. Anggreandari., N. Rachmania. 2008. Isolasi Bakteri Mananolitik dan Karakterisasi Mananasenya. *Jurnal Biota*. 13 (2): 82-88.
- Nakamura, K. 2010. Taxonomy of the genus *Bacillus*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*.
- Nugraha IP. 2014. Optimasi Produksi Enzim Mananase dari Bakteri Laut *Bacillus subtilis* dengan Substrat Biomassa Manan. Skripsi. IPB.
- Nurkhotimah. 2017. Pengaruh Suhu dan pH Terhadap Aktivitas Enzim Fosfatase Bakteri Termofilik Sungai Gendol Pasca Erupsi Merapi. *Jurnal Prodi Biologi* 6 (8):465-472.
- Novika, D. S., Ahsanunnisa, R., & Yani, D. F. 2021. Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Penghambatan Denaturasi Protein. *Stannum: Jurnal Sains dan Terapan Kimia*, 3(1), 16-22.
- Osama, A. B., R. S. Sakr., M. G. Abdul. 2022. The microbial amylases an overview with practical consequences and applications. *Journal of Microbiology*. 10 (4).
- Petkowiez, C. L. O. 2001. Linier Mananas in the Endosperm of *Schizolobium amazonicum*. *Carbohydr Polym* 44:107-112.
- Prihatini, I., R. K. Dewi. 2021. Kandungan Enzim Papain pada Pepaya (*Carica papaya* L) Terhadap Metabolisme Tubuh. *Jurnal Tadris IPA Indonesia*. 1 (1):449-558.
- Purnawan A. 2013. Hidrolisis karbohidrat manan (bungkil inti kelapa sawit) dengan enzim mananase dari *Streptomyces cyaeus* untuk menghasilkan oligosakarida. *Tesis*. IPB, Bogor.
- Rachmat, N. A. 2021. Uji Inhibisi Enzim Xantin Oksidase Kombinasi Ekstrak Air dan Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) dan Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) secara In Vitro. *Skripsi*. Universitas Hasanuddin Makassar.
- Ramadana, R. M. 2014. Kondisi Optimum untuk Produksi Enzim Mananase Ekstraseluler dari *Bacillus subtilis* yang diisolasi dari air laut bali. *Tesis*. IPB, Bogor.
- Rismayanti. 2018. Uji Enzim Protease, Selulase, Amilase, Xilanase dan Mananase dari *Bacillus* sp. Sebagai Kandidat Probiotik Udang. *Skripsi*. Universitas Lampung.

- Ruswandi, B., Oktavia., M. Azhar. 2018. Penentuan Kadar Fruktosa hasil Hidrolisis Inulin dengan DNS sebagai Pengoksidasi. *Jurnal Eksata*. 19(1): 14-23.
- Safitri, A. H., A. Meryandini., Yopi. 2014. Enzymatic Hydrolysis of Porang by *Streptomyces violascens* BF 3. 10 Mannanase for the Production of Mannooligosaccharides. *Journal of Animal Science and Technology* 37: 143-214.
- Sainah, Adelina, dan Heltonika, B. 2016. Penambahan Bakteri Probiotik (*Bacillus sp.*) Isolasi dari Giant River Frawn (*Macrobrachium rosenbergii, de Man*) di Pakan Buatan Untuk Meningkatkan Pertumbuhan Ikan Baung (*Hemibagrus nemurus*). *Berkala Perikanan Terubuk* 44(2): 36-50.
- Sanders, M. E. 2011. Probiotics: Definition, Sources, Mechanisms, and Applications. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 45(Suppl), S149-S153.
- Santoso. 2010. Enzimologi. *Seri Buku Kuliah Biokimia Kedokteran I*. Semarang.
- Sari, R., Nugroho, A., & Putri, D. 2024. Characterization and activity assay of amylase enzyme from *Bacillus* sp. under varying pH and temperature. *Journal of Enzyme Research*, 18(2), 112-120.
- Sasongko, A., N. Rahmani., P. Lisdiyanti., E. Saepudin. 2015. Enzymatic Hydrolysis of Mannan from Konjac (*Amorphophallus* sp.) Using Mannanase from *Streptomyces lipmanii* to Produce Manno-oligosaccharides. *Makara Journal of Science* 19 (3), 4.
- Seftiono, H. 2017. Penentuan Aktivitas Enzim Mananase dari Berbagai Mikroorganisme di Indonesia dan Perannya dalam Bidang Pangan: Kajian Pustaka. *Jurnal Agrotek*. 11 (1): 14-21
- Shahib, M. N. 2005. *Biologi Molekuler Medik I*. Universitas Padjajaran Press. Bandung.
- Sigres, D. P., dan A. Sutrisno. 2015. Enzim Mananase dan Aplikasi di Bidang Industri: Kajian Pustaka. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*., 3(3): 899-908.
- Sumardi. 2007. Isolasi dan Karakterisasi Mananase Ekstraseluler dari *Fusarium oxysporum*. *Jurnal Sains MIPA* 13(1):43-48.
- Telaumbanua, B. V., P. H. Telaumbanua2., N. K. Lase., dan J. Dawol. 2023. Penggunaan Probiotik EM4 pada Media Budidaya Ikan : Review. *Jurnal Manajemen Sumberdaya Perairan* 19(1) 36-42.

- Utami, D. R., A. Sutrisno, dan J. Kusnadi. 2016. Isolation, Purification and Characterization of Mannanase from *Bacillus subtilis* MAN-511. *International Journal of Science Technology & Engineering (IJSTE)* 2(11):83-87.
- Verschere, L., G. Rombaut., P. Sorgeloos and W. Verstraete. 2000. Probiotic bacteria as biological ontrol agents in aquaculture. *Microbiology and Molecular Biology Review* 64: 655- 671.
- Wang, S. 2018. *Physiological Characteristics of Bacillus species*. Frontiers in Microbiology.
- Winarno, F. G and M. Tanjung. 2020. Characterization and Potential Applications of Mannan as a Functional Food Ingredient. *Journal of Food Science and Technology*, 57(5).
- Xu, B. 2002. Endoglucanase and Mananase from Blue Mussel, *Mytilus edulis* Purification, Characterization, Gene and Tree Dimentional Structure. Upsala Universitet: *Doctoral Thesis*.
- Yuniastuti. 2014. Peran Pangan Fungsional dalam Meningkatkan Derajat Keasaman. *Skripsi* Universitas Negeri Semarang. Semarang.
- Yusuf, A. I. 2012. Purifikasi Parsial dan Karakterisasi Enzim Mananase dari *Bacillus pumilus*. *Tesis*. IPB, Bogor.
- Zakaria, M. M., M. Ashiuchi., S. Yamamoto and T. Yagi. 1998 Purification and Characterization of an Endo-1,4- β -Mananase from *Bacillus subtilis* KU-1. *FEMS Microbiol Lett* 158, 25-31.