

Preparasi Mannan Dan Mannanase Kasar Dari Bungkil Kelapa Sawit

Yopi, Awan Purnawan, Ahmad Thontowi, Heri Hermansyah¹ dan Anondho Wijanarko¹

Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Jalan Raya Bogor KM 46,
Cibinong 16911, Indonesia

Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia, Kampus Universitas Indonesia,
Depok 16424, Indonesia¹

Email : anondho@che.ui.edu, yop_i@yahoo.com

Abstrak

Mannan yang banyak terdapat pada limbah perkebunan merupakan sumber biomasa setelah selulosa dan xylan yang masih belum banyak dimanfaatkan. Selama ini pemanfaatan biomasa mannan, terutama dari limbah bungkil kelapa sawit dan kopra, lebih ditujukan untuk pakan ternak dengan tingkat efisiensi penyerapan yang rendah. Kemajuan teknologi glikosains dan glikoteknologi memberikan manfaat tinggi dalam produksi berbagai oligosakarida yang diketahui fungsinya sebagai komponen pangan fungsional. Dari degradasi mannan dengan beberapa jenis enzim mannanase dapat diperoleh mannose dan manno-oligosakarida yang berfungsi sebagai komponen pangan fungsional karena berfungsi sebagai prebiotik. Limbah biomasa dari industri perkebunan, pertanian dan hasil hutan di Indonesia yang mengandung polisakarida mannan, terutama limbah dari produksi minyak kelapa sawit, kopra dan kopi, bisa dimanfaatkan untuk produksi mannosa dan manno-oligosakarida. Dari proses produksi minyak kelapa sawit (crude palm oil, CPO) dihasilkan limbah berupa lumpur sawit dan bungkil inti sawit. Sekitar 20 - 40% komposisi serat dari bungkil inti ini adalah beta-mannan. Untuk proses fermentasi, pada tahap awal, dilakukan analisa kandungan zat dan preparasi mannan dari bungkil inti kelapa sawit. Kondisi optimum preparasi awal dengan hidrolisis katalisis bungkil kelapa sawit adalah pada penggunaan 150 g/L substrat dalam air, 2% katalis, suhu 110°C yang dilakukan selama 1.0 jam. Proses hidrolisis 250 g/L bungkil dalam air dengan 2% massa katalis dan pemanasan hingga 90°C selama 1.5 jam diikuti proses pengendapan dengan aseton 1:1 menghasilkan sampel dengan konsentrasi mannan 19,1% massa. Hasil hidrolisis substrat bungkil inti kelapa sawit dengan menggunakan mikroba selektif yaitu dari spesies *Streptomyces* dan *Saccharopolyspora* (koleksi BTCC) menunjukkan bahwa secara kualitatif senyawa oligosakarida terbentuk. Kedua isolat bakteri tersebut memproduksi enzim mannanase dengan spesifik aktivitas tertinggi setelah 24 jam masa fermentasi.

Kata kunci: Bungkil inti kelapa sawit, mannan, mannosa, manno-oligosakarida dan pangan fungsional

Abstract

Mannan is an oligo-saccharide that was used for human health as a prebiotic food and is produced from hydrolysis of palm kernel cake, coconut seed, copra and coffee waste. Domestically, palm kernel cake and copra utilized for low efficiency metabolized animal feed. At this moment, via glico-science and technology route, these farming waste using mannanase could be degraded to produce functional oligo saccharide such as mannose and manno-oligosaccharide. Around 20-40% of palm kernel cake fibrous from CPO waste consist beta-mannan. In the beginning, palm kernel cake fibrous qualitative and quantitative analysis and mannan preparation was done for the next enzymatic processing (fermentation step). Optimum condition of palm kernel cake residue hydrolysis was 110°C used heating process till 1.5 hour and 2% mass acid catalyst of 150 g/L palm kernel cake residue solution. Here, hydrolysis 250 g/L substrate solution at 90°C used heating process till 1.5 hour produced 19.1% mass mannan. Hydrolysis using *Streptomyces* and *Saccharopolyspora* (strains from BTCC) resulted that both isolates have a potential to produce mannanase and this raw enzyme qualitatively capable to hydrolysis palm kernel cake for producing oligo-saccharides. Both isolates produced mannanase which higher specific activity after 24 hour inoculation of palm kernel cake residue solution.

Keywords : Palm kernel cake, mannan, mannosa, manno-oligosaccharides and prebiotic food

1. Pendahuluan

Mannan merupakan sumber biomasa setelah selulosa dan xylan banyak terdapat pada limbah perkebunan kelapa sawit, kopra dan kopi, yang saat ini di tanah air masih belum banyak dimanfaatkan.

Mannan bisa dihidrolisa menjadi mannososa maupun manno-oligosakarida yang berfungsi sebagai prebiotik oleh enzim endo β -mannanase (1,4- β -D-mannan mannanohidrolase [EC 3.2.1.78]) dan exo β -manosidase (β -D-mannanopyranoside hidrolase [EC 3.2.1.25]).[1]. Untuk proses hidrolisa mannan tersebut selain mannanase diperlukan enzim glukosidase atau galaktosidase [2].

Aplikasi glikosains yang meliputi riset dasar enzimologi, spesifikasi setiap enzim dan glikoteknologi yang meliputi aspek peningkatan kualitas enzim secara molekular diharapkan dapat memberikan informasi tepat untuk proses degradasi polisakarida mannan tersebut.

Ajinomoto General Foods berhasil mengembangkan paten untuk produk kopi dengan kandungan manno-oligosakarida yang merupakan turunan dari mannan yang banyak terkandung pada ampas kopi Mereka berhasil mengidentifikasi fungsi manno-oligosakarida sebagai prebiotik baru bagi mikroflora bakteri di dalam sistem pencernaan. Selain itu, manno-oligosakarida diprediksi memiliki fungsi untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan menurunkan intensitas terikatnya bakteri patogen seperti *Salmonella enteritidis* dan *E.coli* pada sel karena kemiripan strukturnya dengan sakarida yang ada dipermukaan sel makhluk hidup [3],[4]. Namun demikian, sejauh ini belum ada paten mengenai mikroba lokal penghasil mannanase dalam produksi mannososa atau oligosakarida dari limbah hasil perkebunan Indonesia.

Limbah biomasa dari industri perkebunan, pertanian dan hasil hutan di Indonesia yang mengandung polisakarida

mannan bisa dimanfaatkan untuk produksi mannososa, manno-oligosakarida dan sakarida lainnya. Terutama limbah dari produksi minyak kelapa sawit, kopra dan kopi. Kelapa sawit adalah primadona industri Indonesia saat ini. Pada dasarnya Industri kelapa sawit di Indonesia masih terfokus kepada produksi CPO. Masih sedikit industri berinvestasi dalam produk turunan kelapa sawit seperti minyak inti sawit dan pemanfaatan limbah dari setiap tahap produksi CPO ini. Salah satu limbah dari industri kelapa sawit ini adalah bungkil inti buah kelapa sawit (Palm kernel cake = PKC) yang merupakan hasil ikutan dari proses pengolahan inti sawit menjadi palm kernel oil (PKO). Selama ini pemanfaatan PKC ini terutama diperuntukkan sebagai pakan ternak. Tapi hampir sebagian pustaka mengindikasikan bahwa bungkil kelapa sawit berkualitas rendah karena kandungan serat kasarnya yang tinggi, rendah kandungan asam amino esensial (lysin, methionin, tryptophan). Karena itu rekomendasi awal tentang penggunaan bungkil kelapa sawit pada pakan ternak hanya berkisar 10-25% [5]. Diprediksi setiap tahun ada sekitar 1 juta ton lebih limbah PKC ini. Sebagai catatan, sekitar 20 ~ 40% komposisi serat dari bungkil inti ini adalah beta-mannan.

Penelitian enzim mannanase dengan limbah dari industri kelapa sawit telah dilakukan [6],[7] dan [8], tapi analisa detail mengenai enzimologinya belum banyak diteliti. Dengan adanya pengetahuan dasar enzim mannanase yang lebih spesifik dan dihasilkan dari mikroba lokal, diharapkan aplikasi pemanfaatan limbah bungkil untuk produksi mannososa dan oligosakarida sebagai komponen pangan fungsional dapat direalisasikan.

Paparan pada penelitian ini ditekankan pada preparasi mannan kasar dari limbah biomasa kelapa sawit yang dilakukan dengan proses kimia fisika secara simultan maupun secara biologis menggunakan mikroba lokal pada degradasi polisakarida mannan.

2. Bahan dan Metode Penelitian

2.1. Bahan dan peralatan

Bubuk bungkil inti kelapa sawit diperoleh dari PT Indofood (Bogor) yang merupakan hasil olahan dari perkebunan di Lampung, biji inti kelapa sawit diperoleh dari perkebunan petani di Pandeglang. Bahan kimia yang dibutuhkan mannan (*locust bean gum*), bubuk bungkil kelapa sawit, *yeast extract*, peptone, agar dan larutan garam mineral esensial [(NH₄)₂SO₄, KH₂PO₄, MgSO₄·7H₂O, CO(NH₂)₂, CoCl₂, CaCl₂, FeSO₄·7H₂O, MnSO₄·7H₂O, ZnSO₄·7H₂O]. Peralatan yang diperlukan adalah *shaker incubator*, spektrofotometer, *liquid chromatography*, HPLC, inkubator, *soxhlet*, *petridish*, tabung reaksi dan flask, *grinder*.

2.2. Preparasi Bubuk Bungkil Kelapa Sawit

Bubuk bungkil kelapa sawit diperoleh melalui proses pencucian biji inti kelapa sawit hasil perkebunan petani Pandeglang, diikuti dengan proses pengeringan selama 3 jam. Setelah itu dilakukan proses pembuangan kulit luarnya dan diikuti proses penggilingan menggunakan *grinder*.

2.3. Preparasi Mannan Kasar Secara Kimia Fisika

Pada preparasi secara kimia fisika ini dilakukan proses hidrolisis 100, 150, 200, dan 250 g/L massa bungkil kelapa sawit dalam air dengan katalis asam asetat 2% pada variasi kondisi operasi: temperatur 80°C, 90°C, 100°C, dan 110°C selama 1, 1,5, 2, 3, dan 4 jam diikuti dengan proses ekstraksi. Kandungan mannan dalam ekstrak bubuk bungkil inti kelapa sawit dianalisa secara kuantitatif dengan menggunakan HPLC.

2.4. Bioassay Enzim Mannanase Dari Mikroba Mannolitik Lokal

Untuk proses degradasi polisakarida mannan digunakan 3 kelompok jenis mikroba mannolitik, yaitu sebagai mikroba referensi adalah *Aspergillus niger* NRRL 337 dan mikroba koleksi Balai Penelitian

Ternak *Eupenicillium javanicum* BS4 [6]. Serta bakteri mannolitik hasil isolasi dari koleksi milik BTCC. Sedikitnya ada 6 mikroba selektif yang terdiri dari 2 jenis spesies yaitu *Streptomyces* dan *Saccharopolyspora*.

Aktivitas enzim selama proses reaksi diukur berdasarkan metode Araujo dan Ward (1990) yang dimodifikasi [7]. Sebagai substrat digunakan larutan mannan (*locust bean gum*) 0.5% dalam buffer fosfat sitrat 20 mM pH 7.2. Mannosa yang dihasilkan dideteksi dengan metode DNS [2]. Sebanyak 1 ml larutan enzim ditambah 1 ml substrat diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Kemudian ditambahkan 3 ml DNS (asam dinitrosalisilik), serta dipanaskan dalam air mendidih selama 15 menit. Pembacaan spektrofotometer dilakukan pada $\lambda = 575$ nm. Satu unit aktivitas enzim ialah banyaknya enzim yang dapat memproduksi 1 μ mol mannososa dalam satu menit.

Analisis kandungan protein dilakukan dengan pembacaan spektrofotometer pada $\lambda = 280$ nm. Sebagai standar digunakan *Bovine Serum Albumin* (BSA).

2.5. Preparasi Mannan Kasar Secara Enzymatik

Mikroba mannolitik ditumbuhkan ke dalam media pengayaan cair. Inokulan diinkubasi dalam *shaker incubator* pada suhu ruang selama 4 hari. Selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 6000 rpm, 4°C selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh adalah sediaan yang akan dianalisis aktivitas enzim, kandungan proteinnya serta diidentifikasi senyawa yang terbentuk dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Optimasi kondisi fermentasi dengan substrat bungkil kelapa sawit dilakukan pada berbagai kondisi dengan menentukan: jumlah substrat, pH, suhu, waktu fermentasi, dan kecepatan shaker.

Pada proses KLT, sebanyak 4 μ l sampel dan standar ditetaskan dengan

menggunakan pipet efendorf diatas plat KLT, kemudian dikeringkan dengan menggunakan *hair dryer*. Selanjutnya pelat KLT dimasukkan kedalam *chamber glass* yang sebelumnya telah diisi dengan eluen/pelarut. Plat KLT diangkat apabila jarak eluen terhadap batas atas akhir plat KLT sekitar 0.5 cm. Selanjutnya plat KLT dikeringkan dengan *hair dryer*. Spot yang terbentuk diamati dibawah cahaya lampu UV pada $\lambda = 254$ nm. Selanjutnya plat KLT disemprot dengan pelarut pembangkit untuk melihat spot yang terbentuk (mendeteksi senyawa). Identifikasi senyawa yang terbentuk, dilakukan dengan mengukur bilangan RF (RF, jarak antara titik awal dan pusat spot yang dihasilkan dibagi dengan jarak antara titik awal dari garis depan/jarak yang ditempuh eluen mengembang).

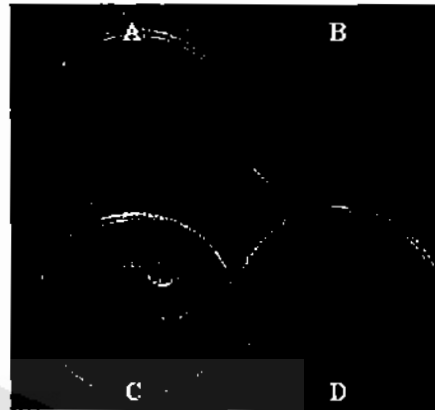
3. Hasil dan Diskusi

3. 1. Preparasi dan Analisis Substrat

Bungkil inti dari hasil olah industri (Indofeed, Bogor) berwarna coklat karena dalam pengolahan tidak dibuang kulit luarnya (Gambar 1B). Bungkil ini diperoleh setelah proses pemerasan untuk mendapat minyak inti, sehingga kandungan lemak dari bungkil inti ini tidak begitu tinggi. Dari biji kelapa sawit (Gambar 1A), setelah dikuliti (Gambar 1D) akan diperoleh daging biji (Gambar 1C). Hasil analisis bungkil inti (Gambar 1B) dan daging inti (Gambar 1C) menunjukkan kandungan serat sekitar 42% untuk bungkil inti dan sekitar 12% untuk daging inti. Kandungan mannan (hemiselulosa) dalam serat bungkil inti sekitar 22% (Tabel 1), ini sesuai dengan referensi menunjukkan bahwa kandungan mannan ini bervariasi mulai 20 ~ 40% dari berat total.

Kandungan biji inti kelapa sawit yang rendah kualitasnya sangat berpengaruh pada produksi mannan dengan sistem fermentasi. Hasil analisa kandungan mannan dari sample tidak terlalu rendah. Karena itu untuk tahap selanjutnya,

direkomendasikan penggunaan sampel bungkil hasil olahan industri pada proses fermentasi.



Gambar 1
Beberapa Sediaan Bungkil Kelapa Sawit, A. Biji Inti Kelapa Sawit; B. Bungkil Inti Kelapa Sawit; C. Biji Setelah Dikuliti; D. dan Kulit Dari Biji

3.2. Preparasi Mannan Kasar Secara Kimia Fisika

Proses preparasi substrat dilakukan melalui proses pemanasan dengan menggunakan katalisis asam. Perlakuan pemanasan 150 g/L larutan bungkil kelapa sawit pada suhu 110°C selama 1 jam dengan menggunakan katalis asam cuka sebesar 2% menghasilkan *yield* maksimum sebesar 27.3% dalam bentuk endapan dari hasil produk *supernatant* proses hidrolisis menggunakan aseton 1:1 (Tabel 2).

Hasil analisa kandungan mannan berikut oligosakarida lainnya (mannan kasar) pada larutan endapan sebesar 530 ppm dari hasil hidrolisis 250 g/L dengan menggunakan katalis asam cuka 2% dan pemanasan selama 1.5 jam pada suhu 90°C tersaji pada Gambar 2.

Hasil analisa produk endapan proses hidrolisis menunjukkan luas dibawah kurva analisa sebesar 0.624 μ RIU. Fraksi oligomer pada hasil analisa produk endapan proses hidrolisis menunjukkan jumlah sekitar 42.5 persen dari luasan produk endapannya. Dengan referensi hasil analisa mannan

murni yang kerapatan massa sebesar 598 ppm dan menunjukkan nilai sebesar 1.572 μ RIU, diperoleh prediksi kandungan mannan kasar pada produk proses hidrolisis bungkil kelapa sebesar:

$$\frac{0.624 \mu\text{RIU}}{1.572 \mu\text{RIU}} \cdot 598 \text{ ppm} \cdot 0.425 = 101 \text{ ppm}$$

Sehingga persentase mannan kasar yang terkandung dalam endapan hasil hidrolisis dengan perlakuan pemanasan menggunakan katalis asam cuka adalah:

$$\frac{101 \text{ ppm}}{530 \text{ ppm}} \cdot 100\% = 19.1\%$$

Tabel 1.

Hasil Analisis Kandungan Senyawa Dalam Bungkil Kelapa Sawit*

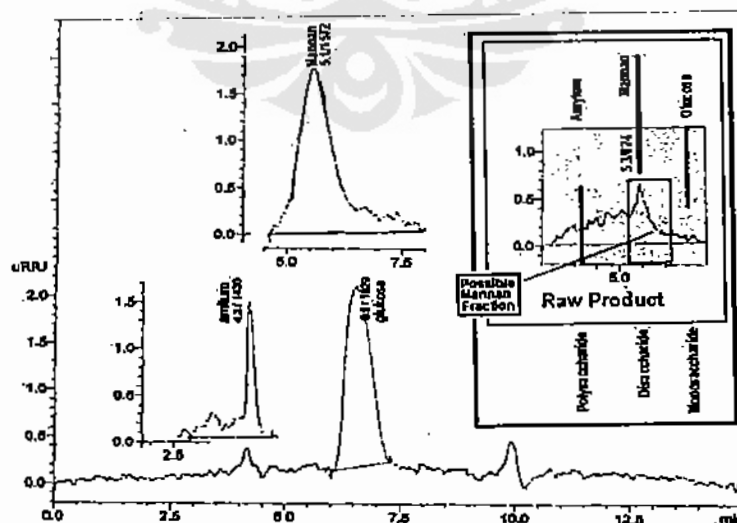
	Jenis Sampel	
	Bungkil inti	Daging inti
Air (%)**	10.07	9.58
Protein (%)***	3.98	4.27
Lemak (%)****	15.29	70.68
Serat (%)	42.72	12.25
Karbohidrat (%)	27.94	3.22
Selulosa (%)	22.16	10.52
Hemiselulosa (%)	22.08	2.19

* : analisis dilakukan oleh Balai besar Pasca Panen-Deptan
 ** : analisis dilakukan dengan metode Oven
 *** : analisis dilakukan dengan metode Kjeldahl-Mikro
 **** : analisis dilakukan dengan metode ekstraksi Soxhlet

Tabel 2

Yield Hidrolisis Katalis Asam Cuka Pada Perlakuan Pemanasan (2% Katalis 1 Jam Pemanasan)

τ - % Kat.	Kerapatan Bungkil	Yield (%)			
		80 °C	90 °C	100°C	110 °C
1 jam - 2% (10 mL sampel)	100 g/L	1.36	0.71	1.72	18.5
	150 g/L	-	-	-	27.3
	200 g/L	-	-	-	10.6
	250 g/L	-	-	-	18.8



Gambar 2.

Hasil Keluaran HPLC Mannan Kasar Proses Hidrolisis Menggunakan Katalis Asam Cuka 2% dan Pemanasan Selama 1.5 jam Pada Suhu 90°C

3.3. Bioassay Enzim Mannanase Dari Mikroba Mannolitik Lokal dan Preparasi Mannan Kasar Secara Enzymatik

Aktivitas dari mikroba mannolitik terpilih dilakukan dengan fermentasi menggunakan bungkil inti sebagai substrat. Mikroba yang digunakan adalah mikroba referensi *Aspergillus niger* NRRL 337 dan mikroba koleksi Balai Penelitian Ternak *Eupenicillum javanicum* BS4, serta bakteri mannolitik hasil isolasi dari koleksi milik BTCC terdiri dari 2 jenis spesies yaitu *Streptomyces* dan *Saccharopolyspora*. Mikroba-mikroba tersebut ditumbuhkan ke dalam media cair dan diinkubasi selama 4 hari dengan *shaker incubator*. Disini terlihat perbedaan dari jenis warna cairan hasil fermentasi. Setelah disentrifugasi, dari supernatannya dilakukan analisis aktivitas enzim dan kandungan proteinnya. Hasilnya ditunjukkan pada Tabel 3. Strain *Saccharopolyspora* dijadikan sebagai isolat selektif untuk penelitian lebih lanjut karena memiliki aktivitas yang lebih tinggi dibanding dengan mikroba pembanding.

Tabel 3
Aktivitas Spesifik Enzim Mannanase Berbagai Mikroba Uji dan Pembanding

Isolat	Aktivitas (U/ml)	Protein (mg/ml)	Aktivitas Spesifik (U/mg)
<i>Aspergillus niger</i> NRRL 337	0.102	0.214	0.450
<i>Eupenicillum javanicum</i> BS4	0.088	0.202	0.436
<i>Streptomyces lipmanii</i>	0.032	0.155	0.208
<i>Saccharopolyspora flava</i>	0.133	0.238	0.555

Konsentrasi bungkil kelapa sawit 1, 2, 3, 4, dan 5% (b/v) digunakan sebagai substrat pertumbuhan untuk menentukan besar konsentrasi bungkil kelapa sawit optimum. Hasil analisa aktivitas, protein, serta aktivitas spesifiknya ditampilkan pada Tabel 4.

Dari Tabel 4 terlihat adanya kecenderungan peningkatan aktivitas

spesifik enzim *mannanase* isolat *Saccharopolyspora* seiring meningkatnya konsentrasi bungkil kelapa sawit yang digunakan sebagai substrat. Untuk itu, perlu dilakukan observasi pada konsentrasi bungkil hingga 10%.

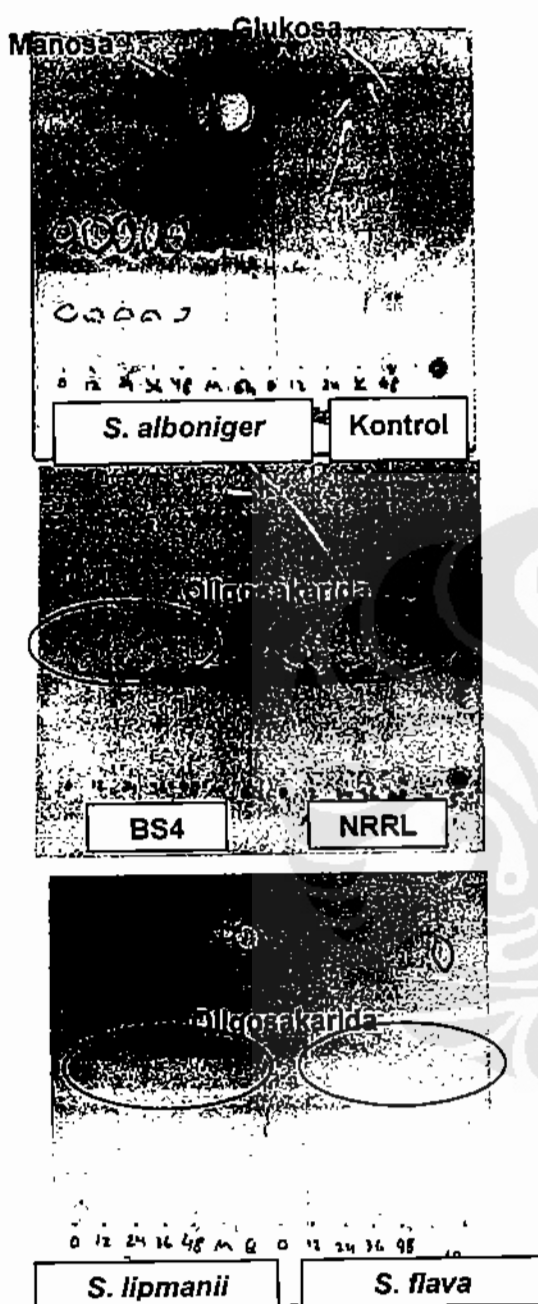
Untuk mengidentifikasi senyawa yang terbentuk pada hasil fermentasi dilakukan KLT menggunakan eluen MeOH : Aquades : HCl : Pyridine dengan perbandingan 40:65:1:25. Hasil KLT ditampilkan pada Gambar 3. Disini terlihat fermentasi (hidrolisis) bungkil kelapa sawit menggunakan beberapa isolate *Streptomyces* dan *Saccharopolyspora* secara kualitatif menghasilkan manno - oligosakarida.

Tabel 4
Aktivitas, Protein, dan Aktivitas Spesifik Enzim Mannanase Mikroba *Saccharopolyspora* Pada Berbagai Konsentrasi Bungkil

Konsentrasi (%)	Aktivitas (U/ml)	Protein (mg/ml)	Aktivitas Spesifik (U/mg)
1	0.0685	0.4996	0.1372
2	0.1124	0.6194	0.1814
3	0.3061	0.8689	0.3522
4	0.2640	1.099	0.2402
5	0.7260	1.2927	0.5615



Gambar 3.
Hasil KLT Kultur Mikroba Isolat Isolat NRRL (1), BS4 (2), *Saccharopolyspora* (7), *Streptomyces* sp(3) ~ (6) dan(8). Standar Manosa (M), dan Standar Glukosa (GS). Eluen yang Digunakan ialah MeOH:Aquades:HCl:Pyridine Pada Perbandingan 40:65:1:25



Gambar 4.
Hasil TLC Dari Hidrolisis Bungkil Kelapa Sawit dengan Menggunakan Enzim Kasar Mannanase Dari Berbagai Isolat (*Streptomyces Alboniger*, BS4, NRRL, *Streptomyces Lipmanii* dan *Saccharopolyspora flava*) selama 48 jam Inkubasi Shaker Pada Suhu Ruang.

Hidrolisis 0.5 g bungkil kelapa sawit menggunakan 50 ml enzim kasar mannanase dari beberapa mikroba yang dilakukan dengan menginkubasi selama 48

jam, dengan perlakuan sampling setiap 12 jam (jam ke- 0, 12, 24, 36, & 48). Hasil KLT produk hidrolisis ditunjukkan secara kualitatif pada Gambar 4. Analisa aktivitas enzim dari enzim penghidrolisis bungkil inti kelapa sawit tersaji pada Tabel 5

Gambar 4 menunjukkan adanya spot KLT yang keluar kecuali pada kontrol (bungkil kelapa sawit tanpa enzim). Spot ini menunjukkan bahwa senyawa oligosakarida terbentuk pada hidrolisis menggunakan enzim kasar mannanase dari beberapa mikroba.

Tabel 5
Aktivitas Enzim Mannanase dari Berbagai Mikroba Penghidrolisis Bungkil Kelapa Sawit

Waktu (jam)	Aktivitas (U/ml)				
	BS4	NRRL	76	70	26
0	0.0157	0.1513	0.0176	0.0137	0.0145
12	0.1509	0.07279	0.1010	0.0391	0.0302
24	0.0957	0.0216	0.1948	0.0838	0.0724
36	0.0551	0.0510	0.0950	0.1256	0.0353
48	0.1156	0.0795	0.0945	0.1267	0.0280

NRRL, *Aspergillus niger* NRRL 337; BS4, *Eupentcillum javanicum* BS4; 76, *Saccharopolyspora Flava* 76; 70, *Streptomyces lipmanii* 70; 26, *Streptomyces alboniger* 26

4. Kesimpulan

Kesimpulan yang bisa ditarik pada observasi preparasi mannan kasar dari bungkil kelapa sawit adalah:

- Disebabkan kandungan biji inti kelapa sawit yang fluktuatif kualitasnya sangat berpengaruh pada produksi mannan dengan sistem fermentasi, maka untuk proses fermentasi, direkomendasikan penggunaan sampel bungkil hasil olahan industri.
- Kondisi optimum preparasi awal dengan hidrolisis katalisis bungkil kelapa sawit adalah pada penggunaan larutan substrat (bungkil kelapa sawit) sebesar 150 g/L, 2% katalis, suhu

- 110°C yang dilakukan selama 1 jam menghasilkan yield sebesar 27.3%.
- Proses hidrolisis 250 g/L larutan bungkil kelapa sawit dalam air dengan 2% massa katalis dan pemanasan hingga 90°C selama 1.5 jam diikuti proses pengendapan dengan aseton 1:1 menghasilkan sampel dengan konsentrasi mannan 19,1% massa.
 - Perlu dilakukan optimisasi konsentrasi bungkil inti kelapa sawit pada proses fermentasi dengan konsentrasi lebih dari 5 %
 - Hasil TLC dari hidrolisis bungkil inti kelapa sawit dengan menggunakan enzim kasar *mannanase* dari berbagai isolat menghasilkan senyawa oligosakarida.
 - Proses fermentasi dapat dilakukan dengan menggunakan bakteri lokal seperti strain *Streptomyces limanii* atau *Saccharopolyspora flava*.

Daftar Acuan

- [1]. Puls J. and J. Scuseill, *In hemicellulose and hemicellulases* (Coughlan, M.P. and Hazlewood, G. P., eds) Portland Press, New York: 1993, pp. 1-27
- [2]. McCleary B. V., *Galactosidase from Lucerne and guar seed*. *Methods Enzymology*, 160 (1988) 627-632
- [3]. Toeda K., *Mannanase, microorganism capable for producing and methods of producing*. Japan Patent, 2002, No.2002-65257
- [4]. Sachslehner A., G. Foidl, N. Foidl, G. Gubitz, and D. Haltrich, *Hydrolysis of isolated coffee mannan and coffee extract by mannanases of Sclerotium rolfsii*. *J Biotechnol.* 80 (2000) 2, 127-134.
- [5]. Jalaluddin S., *Integrated Animal Production in the Oil Palm Plantation*, Hasil Riset Universiti Pertanian Malaysia, Serdang- Selangor, 2001
- [6]. Purwadaria T., *Synergistic activity of enzymes produced by eupenicillium Javanicum and Aspergillus niger NRRL 337 on palm oil factory wastes*. *Biotropia*, 20 (2003) 1 – 10
- [7]. Purwadaria T., A.P. Sinurat, T. Haryati, I. Sutikno dan J. Darma (1998). *Korelasi antara aktivitas enzim mannanase dan selulase terhadap kadar serat Lumpur sawit hasil fermentasi dengan aspergillus niger*. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*, 3 (1998) 4, 230-236
- [8]. Purwadari T., T. Haryati dan J. Darma, *Isolasi dan seleksi kapang mesofilik penghasil mananase*. *Majalah Jurnal dan Peternakan*, 1994, Edisi Maret, 26 - 29