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

**Sumardi*, Vivin Stevani, Jeni Ayu Maulika, Salman Farisi, Kusuma Handayani, Gregorius
Nugroho Susanto**

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

Corresponding author: Jl. Sumatri Brojonegoro No. 1 Gedong Meneng , Kota Bandar Lampung,
Lampung, 35141, Indonesia.

*E-mail korespondensi: sumardi.1965@fmipa.unila.ac.id

ABSTRAK

Bakteri probiotik adalah mikroba hidup yang bermanfaat. Bakteri probiotik dapat menyeimbangkan jumlah mikroba dalam saluran pencernaan dan menekan jumlah patogen. Probiotik dapat meningkatkan respon imun terhadap inangnya. Penelitian ini bertujuan untuk menyeleksi dan mengkarakterisasi enzim selulase dan mananase dari bakteri *Bacillus* sp. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *Bacillus* sp. dengan kode IBK 3 mampu menghasilkan enzim selulase dan enzim mananase. Aktivitas enzim selulase dan enzim mananase secara kuantitatif ditentukan dengan metode DNS. Aktivitas enzim selulase dan mananase diuji dalam rentang suhu 30 °C, 40 °C, 50 °C dan 60 °C serta rentang pH 4, 5, 6, 7, 8, dan 9. Aktivitas enzim selulase dan enzim mananase yang diproduksi oleh *Bacillus* sp. memiliki karakteristik yang sama yaitu pada suhu 50 °C dan pH 5. Bakteri probiotik memiliki aktivitas enzim selulase sebesar 0,028 U/ml dan enzim mananase sebesar 0,225 U/ml. Hal ini menandakan bahwa setiap mL larutan enzim mampu mengubah 0,028 mikromol substrat per menit pada enzim selulase dan 0.225 mikromol pada enzim mananase.

Kata kunci : *Bacillus* sp. Enzim Selulase, Enzim Mananase, Probiotik , Suhu dan pH

PENDAHULUAN

Probiotik adalah mikroorganisme hidup, terutama bakteri baik, yang memiliki kemampuan untuk menyeimbangkan populasi mikroba dalam usus. Probiotik dapat berfungsi untuk mengatur keseimbangan mikroba pada saluran pencernaan dan menghambat pertumbuhan mikroba patogen dalam saluran pencernaan (Dewi et al., 2023). *Bacillus* sp. merupakan salah satu bakteri probiotik yang digunakan pada penelitian kali ini.

Bakteri *Bacillus* merupakan kelompok bakteri gram positif berbentuk batang yang memiliki kemampuan membentuk endospora, sehingga memungkinkan mereka bertahan dalam kondisi lingkungan yang ekstrem seperti kekeringan, suhu tinggi, dan paparan bahan kimia. Endospora ini merupakan struktur dorman yang memungkinkan kelangsungan hidup bakteri dalam jangka waktu lama hingga kondisi lingkungan kembali mendukung pertumbuhan (Setiawan et al. 2019). Selain itu, *Bacillus* memiliki kemampuan metabolik yang beragam, termasuk kemampuan aerob dan fakultatif anaerob, yang memungkinkan adaptasi pada berbagai kondisi lingkungan (Prasetyo et al. 2020)

Bacillus memiliki peran penting dalam bioteknologi, terutama dalam produksi enzim industri seperti protease, amilase, dan lipase yang digunakan dalam berbagai aplikasi industri mulai dari makanan hingga farmasi (Rahman et al. 2022). Bakteri *Bacillus* sebagai probiotik telah banyak diteliti karena kemampuannya memberikan manfaat kesehatan bagi inang melalui modulasi mikrobiota usus dan peningkatan sistem pencernaan (Kurniawan et al. 2020). Selain itu, *Bacillus* probiotik mampu menghasilkan enzim pencernaan, vitamin, dan senyawa antimikroba yang membantu menekan pertumbuhan patogen di saluran pencernaan, sehingga meningkatkan kesehatan usus dan pencernaan (Sari et al. 2021). Probiotik dari bakteri *Bacillus* sp. idealnya memiliki kemampuan selulolitik dan mananolitik (Ratnayani et al., 2021). Oleh karena itu perlu diteliti *Bacillus* sp. yang mampu menghasilkan enzim selulase dan enzim mananase.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi, jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung pada bulan Februari sampai Juli 2025. Metode yang digunakan pada penelitian ini deskriptif kuantitatif.

Pembuatan Media Sea Water Complate (SWC). Ditimbang bahan-bahan media (*bacto peptone* 5 g/L, ekstrak *yeast* 1 g/L, *griserol* 3 ml/L, agar 15 g/L, air laut 750 ml, akuades 250 ml). Bahan-bahan dimasukkan media kedalam erlemeyer, dipanaskan diatas *hotplate*, dihomogenkan dengan *magnetic stirrer*. Setelah itu, media SWC disterilakan di autoklaf selama 20 menit dengan suhu 121 °C (Sumardi. 2019).

Seleksi Bakteri Selulolitik dan Mananolitik. *Bacillus* sp. ditumbuhkan dalam media SWC dengan ditambahkan 1 % CMC (*Carboxmethyl cellulose*) untuk mendeteksi selulase dan LBG (*Locust Bean Gum*) 0,5 % untuk mendeteksi mananase. *Bacillus* sp. diinkubasi selama 24 jam [8] (Sumardi. 2019). Untuk mendeteksi keberadaan enzim tersebut, bakteri dihitung indeks enzimatisnya. *Bacillus* sp. dituangi dengan Congo red 0.5 % selama 15 menit dan dibilas dengan NaCl 1 M. Indeks enzim yang terbentuk dihitung dengan rumus luas koloni bakteri (Permatasari dan Muliasari. 2022).

$$\text{Indeks enzimatik} = \frac{\text{Diameter Zona Bening}}{\text{Diameter Koloni Bakteri}}$$

Persiapan Starter Bakteri. *Bacillus* sp. yang telah diremajakan pada media SWC diambil sebanyak 1 ose dan diinokulasikan ke dalam erlenmeyer 250 ml yang berisi 50 ml media SWC cair. Kemudian kultur diinkubasi selama 24 jam pada shaker inkubator.

Produksi Enzim. Starter bakteri, diambil sebanyak 10 % dan diinokulasikan ke dalam media SWC cair sebanyak 45 ml yang telah ditambahkan substrat CMC untuk enzim selulase dan LBG untuk enzim mananase. Kultur diinkubasi pada suhu ruang selama 12 jam, 24 jam, 36 jam, 48 jam, 60 jam, 72 jam dan 96 jam. Setelah diinkubasi, selanjutnya kultur disentrifuse 7500 rpm suhu 4 °C selama 15 menit untuk mendapatkan supernatan. Supernatan yang diambil merupakan ekstrak kasar enzim dari *Bacillus* sp. Ekstrak kasar tersebut diuji aktivitas enzimnya (Sumardi. 2019).

Uji Aktivitas Enzim pada berbagai macam Suhu. Pada penentuan suhu optimum dilakukan dengan menyediakan 20 tabung reaksi yang berbeda. Setiap tabung dimasukkan dengan CMC 1 % . Pada setiap tabung ditambahkan dengan 1 mL ekstrak kasar enzim selulase dan diinkubasi pada suhu berbeda 30 °C, 40 °C, 50 °C, dan 60 °C selama 60 menit untuk masing-masing perlakuan suhu ada 5 tabung reaksi, perlakuan kontrol juga dibuat untuk setiap perlakuan. Reaksi dihentikan dengan menambah 1 ml reagen DNS dalam campuran reaksi. Kemudian dipanaskan dalam air pada suhu 100 °C selama 15 menit. Gula reduksi diukur dengan menggunakan spektrofotometer 575 nm. Aktivitas enzim selulase mengacu pada jumlah enzim yang melepaskan 1 µM glukosa per ml sampel per menit dalam kondisi pengujian. Uji yang sama juga dilakukan untuk enzim mananase, substrat yang digunakan LBG 0,5%.

Uji Aktivitas Enzim pada berbagai macam pH. Pada penentuan pH optimum dilakukan dengan menyediakan 30 tabung reaksi yang berbeda. Setiap tabung dimasukkan dengan CMC 1 % enzim selulase, sebanyak 1 ml substrat tersebut ditambahkan dengan buffer (buffer asetat untuk pH 4, 5 dan buffer fosfat untuk pH 6, 7, 8, dan 9). Pada setiap tabung ditambahkan dengan 1 ml ekstrak kasar enzim selulase dan diinkubasi pada suhu 50 °C selama 30 menit. Reaksi dihentikan dengan menambah 1 ml reagen DNS dalam campuran reaksi. Kemudian dipanaskan dalam air pada suhu 100 °C selama 15 menit. Gula reduksi diukur dengan menggunakan spektrofotometer 575 nm. Aktivitas enzim selulase mengacu pada jumlah enzim yang melepaskan 1 µM glukosa per ml sampel per menit dalam kondisi pengujian. Uji yang sama juga dilakukan untuk enzim mananase, substrat yang digunakan LBG 0,5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Seleksi dimulai dari 18 isolat bakteri probiotik *Bacillus* sp. dengan menggunakan substrat selulosa untuk enzim selulase dan manosa untuk enzim mananase. 18 isolat kemudian diseleksi kembali dan diambil 4 isolat terbaik dalam menghasilkan zona bening (Tabel 1)

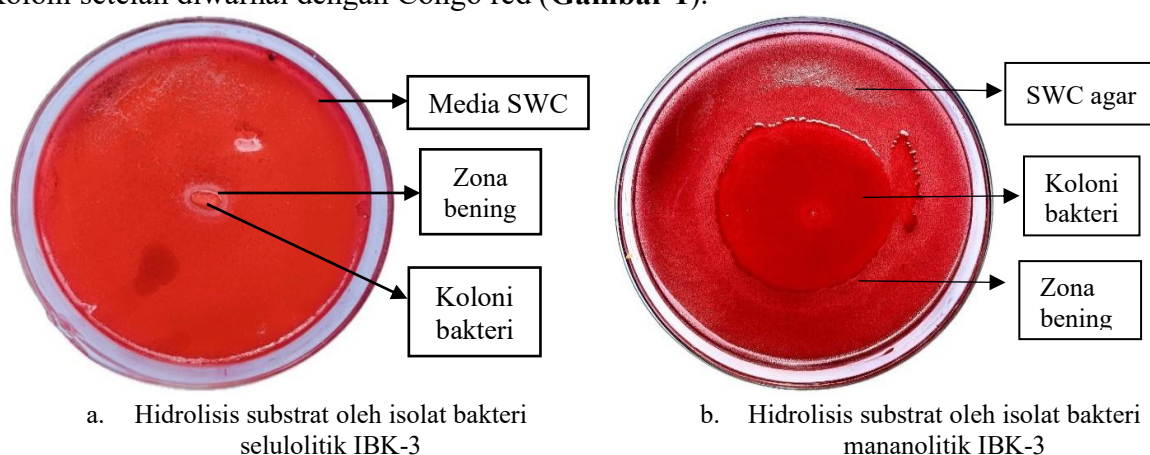
Tabel 1. Hasil seleksi enzim selulase dan enzim mananase dengan berbagai kode.

No	Kode <i>Bacillus</i> sp	Indeks Selulolitik	Indeks Mananolitik
1	A53	1.41	-
2	BI	1.60	-
3	KCN	1.75	-
4	IP	-	1
5	KB	-	1.2
6	RZK	-	1
7	IBK 3	2.33	1.22
8	RIK	1.13	-
9	KC11	1.22	-
10	B1	-	-
11	B2	1.22	-
12	BS	-	-
13	IP 1	-	-

No	Kode <i>Bacillus</i> sp	Indeks Selulolitik	Indeks Mananolitik
14	KP	-	-
15	KT	1.38	-
16	KCL	-	-
17	KZK	-	-
18	L22	-	-

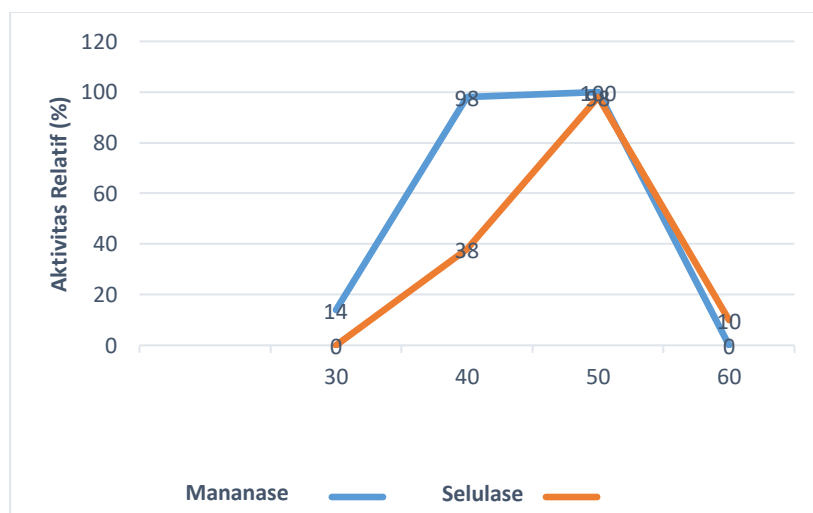
Keterangan : (-) tidak ada aktivitas enzim

Berdasarkan tabel diatas maka menunjukkan bahwa isolat IBK-3 memiliki kemampuan selulolitik dan mananolitik. Bakteri tersebut mempunyai indeks selulolitik 2,33 dan indeks mananolitik 1,22. Kemampuan aktivitas selulolitik dan mananolitik dengan menghidrolisis selulosa dan manan. Hal ini terlihat ketika terbentuknya zona bening yang berada disekitar koloni setelah diwarnai dengan Congo red (**Gambar 1**).



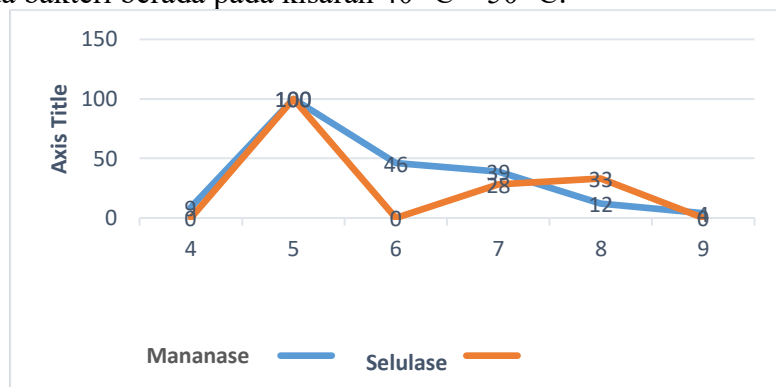
Gambar 1. Hasil Seleksi Selulolitik (a) dan Mananolitik (b) Isolat *Bacillus* sp IBK-3

Setelah dilakukan seleksi selulolitik dan mananolitik pada isolat *Bacillus* sp IBK-3, maka dilanjutkan dengan menguji aktivitas enzim pada suhu dan pH optimum. Pengaruh suhu yang digunakan dimulai dari rentang 30 sampai 60 °C (**Gambar 2**). Kemudian untuk rentang pH, dimulai dari 4 sampai 5 (**Gambar 3**). Dari hasil tersebut diketahui bahwa kedua enzim memiliki nilai suhu dan pH optimum yang sama yaitu suhu optimum sebesar 50 °C dan pH optimum berkisar 5.



Gambar 2. Pengaruh Suhu pada Aktivitas Selulase (kuning) dan Mananase (biru)

Aktivitas enzim selulase pada suhu 30 °C hingga 50 °C berturut-turut sebesar 0 %; 38 %; 100 % dan mengalami penurunan pada suhu 60 °C dengan aktivitas relatifnya sebesar 0 %. Aktivitas enzim mananase terjadi peningkatan dari suhu 40 °C hingga 50 °C dan mengalami penurunan pada suhu 60 °C dengan aktivitas relatif mananase sebesar 0 %. Aktivitas optimum mananase pada bakteri berada pada kisaran 40 °C – 50 °C.



Gambar 3. Pengaruh pH pada Aktivitas Selulase (kuning) dan Mananase (biru)

Pada selulase pH 4 tidak ada aktivitas enzim, kemudian kenaikan puncak aktivitas enzim pada pH 5, dan terjadi penurunan pada pH 6 dengan ditandai tidak ada aktivitas. Pada pH 7 dan 8 mengalami kenaikan dan pH 9 mengalami penurunan. Aktivitas relatif enzim dengan presentase berturut-turut 0 %; 100 %; 0 %; 28 %; 33 %; dan 0 %. Pada mananase juga didapati aktivitas paling optimal berada pada pH 5, dengan aktivitas relatif mananase 100 % kemudian terjadi penurunan pada pH 6 hingga 9 berturut-turut menjadi 46 %; 39 %; 12% dan 4%.

Pembahasan

Seleksi bakteri *Bacillus* sp. yang memiliki kemampuan selulolitik dan mananase dilakukan dengan kualitatif dimana dengan melihat zona bening yang terbentuk. Terbentuknya zona bening yang mengandung substrat selulosa dan manan disekitar koloni menandakan bahwa adanya proses degradasi selulosa menjadi glukosa dan manan menjadi manosa. Visualisasi zona bening dapat dibantu oleh pewarna indikator *Congo red*. Congo red akan bewarna merah ketika berdifusi dengan ikatan 1,4 glikosida pada selulosa [10] (Majidah *et al.* 2023) dan ikatan β -1,4-D-manopiranosil pada manosa. Zona bening pada media agar yang mengandung manan menunjukkan bahwa substrat manan dihidrolisis oleh enzim mananase yang dibuat oleh isolat bakteri (Majidah *et al.* 2023).

Penentuan aktivitas enzim dengan pengaruh suhu dan pH optimum dapat dilihat pada **Gambar 2** dan **Gambar 3**. Aktivitas optimum mananase pada bakteri berada pada kisaran 40 °C – 50 °C (Sigres dan Sutrisno, 2015). Beberapa penelitian juga memperoleh mananase dengan suhu optimal 50 °C pada bakteri *Streptomyces cyaneus* (Chauhan *et al.* 2012). Hal yang sama terjadi pada *Streptomyces lipmanii* dengan suhu 50 °C (Purnawan, 2013) dan juga pada *Bacillus subtilis* (Sasongko *et al.*, 2015. Enzim mananase tergolong mesofilik, karena memiliki stabilitas suhu kisaran 30 °C – 50 °C (Nugraha, 2013). Aktivitas enzim selulase yang optimum pada suhu 50 °C dikarenakan *bacillus* sp mampu menghasilkan enzim ekstraseluler yang bersifat termotabil (Lestari *et al.*, 2024). Beberapa mikroba lain juga menghasilkan enzim selulase dan mananase (**Tabel 2**).

Tabel 2. Perbandingan Aktivitas Enzim Mananase dari Berbagai Mikroorganisme di Indonesia

No	Mikroorganisme	Aktivitas Selulase	Aktivitas Mananase	Literatur
1	<i>Bacillus subtilis</i>	-	25.37	Annisa, 2021
2	<i>Bacillus subtilis</i>	-	20.978	Ramadana, 2014
3	<i>Streptomyces cyaeus</i>	-	0.702	Purnawan, 2013
4	<i>Streptomyces violascens</i>	-	0.981	Safitri, 2014
5	<i>Bacillus subtilis</i> 4K3	8.94	-	Ukit dkk., 2022
6	<i>Bacillus subtilis</i> 4K1	3.33	-	Ukit dkk., 2022
7	<i>Aspergillus niger</i>	0.617	-	Fahdillah dkk., 2025
8	<i>Bacillus</i> sp.	0.498	-	Putri & Wardani.,2018
9	<i>Serratia mercesens</i>	0.2748	-	Budi dkk., 2018
10	<i>Bacillus</i> sp. IBK	0.028	0.225	Yang diteliti

Keterangan : (-) tidak ada aktivitas enzim

Tabel 2 telah menunjukkan bahwa aktivitas unit enzim selulase 0.028 U/mL dan enzim mananase sebesar 0.225 U/mL. Hal ini menandakan bahwa setiap mL larutan enzim mampu mengubah 0.028 mikromol substrat per menit pada selulase dan 0.225 mikromol substrat per menit pada mananase.

Kemampuan aktivitas enzim akan terus meningkat ketika suhu mencapai optimum. Kecepatan pada rekasi enzim dipengaruhi dengan peningkatan energi kinetik. Peningkatan energi kinetik akan mempercepat gerak vibrasi, translasi dan rotasi substrat maupun enzim, sehingga akan memperbesar peluang substrat dan enzim untuk bereaksi (Putri dan Wardani, 2018). Kestabilan enzim dalam pengaruh suhu disebabkan oleh beberapa faktor seperti struktur tiga dimensi, komposisi asam amino, jembatan sulfida dan senyawa penstabil lain. Pada suhu yang lebih tinggi dibandingkan dengan suhu optimumnya, sehingga akan mengalami perubahan konformasi yang bersifat detrimental. Suhu yang melebihi optimum juga dapat berpengaruh terhadap substrat, sehingga sisi reaktifnya tidak dapat lagi bekerja (Lestari *et al*, 2024).

Selain pengaruh suhu, pH juga mempengaruhi aktivitas suatu enzim. Jika pH lebih tinggi (basa) atau lebih rendah (asam), aktivitas enzim cepat menurun dan bahkan kehilangan aktivitas katalitiknya. Hal ini terjadi karena struktur tiga dimensi enzim mulai berubah. Akibatnya, substrat tidak dapat berikatan dengan sisi aktif enzim, yang menghentikan proses katalis. Pada penelitian ini didapati pH paling optimal yaitu pada pH 5, dengan aktivitas relatif mananase 100 % kemudian pH 6 menurun menjadi 46 %, pada pH 7 menjadi 39 % selanjutnya pada pH 8 menjadi 12 % dan pada pH 9 aktivitas relatif mananase menjadi 4 %. Sebagai perbandingan, pada penelitian (Meryadini *et al.*, 2008). *Streptomyces costaricanus* juga memperoleh aktivitas optimal mananase pada pH 5.

Pada selulase terdapat peningkatan pada pH 7. Peningkatan aktivitas dimulai pada pH 7 dan pH 8. Sehingga terdapat dua puncak dalam enzim selulase yang sama yaitu pada pH 5 dan pH 8. Kedua puncak aktivitas enzim tersebut kemungkinan dihasilkan oleh dua jenis molekul enzim selulase. Kemungkinan lain terjadi karena enzim selulase memiliki kompleks enzim yang terdiri dari Endo β -(1-4) glucanase, Ekso β -(1-4) glucanase, dan β -Glukosidase, masing-masing dari kompleks enzim ini memiliki pH optimum yang berbeda walau dalam cakupan enzim selulase. Ketika kompleks enzim diuji dan masuk dalam grafik yang sama, maka akan menghasilkan dua puncak aktivitas yang berbeda. Pada kompleks enzim Endo β -(1-4) glucanase (CMCase) memiliki pH optimum pada pH 5, sedangkan pada Ekso β -(1-4) glucanase (Avilase) memiliki pH optimum dengan rentang pH 4-9, karena itu kemungkinan terjadi dua puncak (Meryadini *et al*, 2009).

Aktivitas unit enzim selulase dan mananase didapatkan setelah mengetahui pH optimum dan suhu optimum. Pada **tabel 2** telah dijelaskan bahwa aktivitas unit enzim selulase sebesar

0.028 U/mL dan enzim mananase sebesar 0.225 U/mL. Aktivitas enzim selulase dengan nilai < 0,1 U/mL masih tergolong rendah (Astuti *et al.*, 2022). Enzim selulase menghidrolisis selulosa secara bertahap dengan memotong panjang rantai selulosa menjadi disakarida dan mengubahnya menjadi monomer-monomer glukosa (Ali *et al.*, 2014). Kerja enzim yang tidak optimal akan menghasilkan glukosa, disakarida dengan kadar yang rendah. Berdasarkan hal tersebut, enzim selulase yang dihasilkan isolat *Bacillus* sp. mungkin belum bekerja secara optimal akibat suhu atau pH (Astuti *et al.*, 2022). Pada enzim mananase aktivitas unit sebesar 0.225 U/mL juga masih tergolong rendah. Penggunaan bakteri tersebut sebagai probiotik dapat lebih efektif karena bakteri tersebut menghasilkan 2 jenis enzim yakni selulase dan mananase.

KESIMPULAN

Simpulan yang didapatkan pada penelitian ini adalah isolat *Bacillus* sp. IBK -3 dapat menghasilkan enzim selulase dan mananase. Aktivitas enzim selulase yang dihasilkan sebesar 0.028 U/mL dan enzim mananase sebesar 0.225 U/mL. Karakteristik yang didapatkan dari enzim selulase dan mananase terhadap suhu dan pH adalah sama, yaitu suhu optimum adalah 50 °C dan pH 5.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali N, Ting Z, Khan YH, Athar MA, Long M . 2014. "Enzymatic Hydrolysis Of Cellulosic Biomass For The Production Of Biofuels, A Review". *International Journal of Engineering and Technical Research*, vol. 2, no. 12, 89–96
- Astuti R I., Y. B. P. Saju., D. Aribah., & A. T. Wahyudi. 2022. "Skrining dan Identifikasi Bakteri Laut Penghasil Enzim Selulase yang Berasosiasi dengan Spons". *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, vol. 27, no. 1, 70-75. 2022
- 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,
- Dewi.I C, S. Subariyanto., E. Ernawati, 2023. "Pengaruh Pemberian Probiotik *Lactobacillus* sp. dan *Bacillus* sp. dengan Dosis yang Berbeda Pada Media Pemeliharaan Terhadap Pertumbuhan dan Kelangsungan Hidup Udang Vaname (*Litopenaeus Vannamei*)". *Nekton*, vol. 3, no. 1, 37-50,
- Lestari R S., H. S. Nur., dan W. Imaningsih, 2024. "Karakterisasi Selulase termostabil Asal isolat Bakteri tanah Pertanian Pasang Surut". *Bioscientiae*, vol. 21, no. 1, 41-56.
- Meryadini A., R. Anggreandari., N. Rachmania. 2008.. "Isolasi Bakteri Mananolitik dan Karakterisasi Mananasenya". *Jurnal Biota*. 13 (2): 82-88,
- Meryadini A., W. Widosari., B. Maranatha., T. C. Sunarti., N. Rachmania., & H. Satria, 2009. "Isolasi Bakteri Selulolitik dan Karakterisasinya". *Makara Journal Sains*. vol. 13 no. 1, 33-38.
- Nugraha I P. 2013 "Hidrolisis Karbohidrat manan (bungkil inti kelapa sawit) dengan enzim mananase dari *Streptomyces cyaenus* untuk menghasilkan oligosakarida". Tesis.. IPB, Bogor.
- Kurniawan A., Prasetyo, E., & Wulandari, S. 2020. "Ketahanan Endospora *Bacillus* sebagai Probiotik dalam Saluran Pencernaan". *Jurnal Mikrobiologi Terapan*, 15(3), 120-128,
- Majidah R., S. S. Lubis., dan D. Harahap. 2023 " Efektivitas Enzim Selulase dari Bakteri Termofilik Di Kawasan Wisata IE SUUm Kabupaten Aceh Besar". *Journal of Biological Sciences and Applied Biology*, vol. 3, no. 1, pp, 25-34,
- Permatasari L, dan H. Muliasari. 2022 " Kecambah: Agen Penghidrolisis Pati yang Potensial". *Sasambo Journal of Pharmacy*, vol. 3, no. 2, 11-114.

- Purnawan A. 2013. Hidrolisis karbohidrat manan (bungkil inti kelapa sawit) dengan enzim mananase dari *Streptomyces cyaenus* untuk menghasilkan oligosakarida. Tesis.. IPB, Bogor.
- Putri R.A.C., dan Wardani, A. K, 2018 “Isolasi dan Karakterisasi Parsial Enzim Selulase Bakteri Selulolitik hasil daari Limbah Padat Tapioka (Onggok)”, *Agroindustrial Technology Journal*, vol. 2, no. 2, 98-106.
- Prasetyo E, Hidayat, S., & Santoso, D. 2020.. “Adaptasi Metabolik *Bacillus* spp. pada Berbagai Kondisi Lingkungan. *Jurnal Biologi Tropis*, 21(1), 45-53,
- Rahman M A., Islam, M. T., & Hasan, M. M. 2022. “Potensi Produksi Enzim Industri oleh *Bacillus* spp. dan Aplikasinya”. *Jurnal Bioteknologi Indonesia*, 17(1), 30-39, 2022
- Ratnayani O., P. E. Yulianthi., dan I. N. Wirajana, 2021. “Fraksinasi Selulase Mikroba Selulolitik Dengan Amonium Sulfat dan Amobilisasi Pada Agar-Agar Komersial”. *Indonesian E-Journal of Applied Chemistry*, vol. 8, no. 1, 1-9.
- Sari D P., Hadi, R., & Santoso, B. 2021. “Peran *Bacillus* Probiotik dalam Meningkatkan Kesehatan Saluran Pencernaan”. *Jurnal Ilmu Kesehatan Masyarakat*, 19(2), 75-83,
- 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,
- Setiawan A., Nugroho, R., & Wulandari, D. 2019. Karakteristik dan Potensi Bakteri *Bacillus* sebagai Agen Pengendali Hayati. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*, 14(2), 85-92,
- 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. 2019” The Activity Assay Of Protease, Cellulase, Amylase, Xylanase And Mannanase From *Bacillus* Sp. As A Candidate Of Probiotics”. *World Journal of Pharmaceutical and Life Sciences*, vol. 5, no. 3, 88-93.