

**KAJIAN PENGEKSTRAKAN DAN PENENTUAN
SIFAT PROTEASE DARIPADA LATEKS
*MANGIFERA LAURINA BLUME***

TENG LEH CHIAO

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

**LATIHAN ILMIAH INI DIKEMUKAKAN UNTUK
MEMENUHI SEBAHAGIAN DARIPADA SYARAT
MEMPEROLEHI IJAZAH SARJANA MUDA SAINS
MAKANAN DENGAN KEPUJIAN DALAM BIDANG
TEKNOLOGI MAKANAN DAN BIOPROSES**

**SEKOLAH SAINS MAKANAN DAN PEMAKANAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH
2011**



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS

JUDUL: kajian pengekstrakan dan Penentuan sifat Protease daripada
lateks Mangifera Luvina Blume

IJAZAH: Ijazah sarjana muda sains makanan dengan kejuruan dalam
Teknologi makanan dan bioproses

SESI PENGAJIAN: 07/08

Saya TENG LEH CHIAO

(HURUF BESAR)

mengaku membenarkan tesis (LPS/ Sarjana/ Doktor Falsafah) ini di simpan di Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dengan syarat-syarat kegunaan seperti berikut:

1. Tesis adalah hakmilik Universiti Malaysia Sabah.
2. Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dibenarkan membuat salinan untuk tujuan pengajian sahaja.
3. Perpustakaan dibenarkan membuat salinan tesis ini sebagai bahan pertukaran antara institusi pengajian tinggi.
4. ** Sila tandakan (/)

☐

SULIT

(Mengandungi maklumat yang berdarjah keselamatan atau kepentingan Malaysia seperti yang termaktub di dalam AKTA RAHSIA RASMI 1972)

☐

TERHAD

(Mengandungi maklumat TERHAD yang telah ditentukan oleh organisasi/badan di mana penyelidikan dijalankan)

☒

TIDAK TERHAD

Disahkan oleh

[Signature]
 (TANDATANGAN PENULIS)

[Signature]
 (TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

Alamat Tetap: 6B, Lucky road,

96000, Sibn, Sarawak

A Puan Fan Hui Yin

Nama Penyelia

Tarikh: 8/6/2011

Tarikh: 8/6/2011

CATATAN: * Potong yang tidak berkenaan.

* Jika tesis ini SULIT atau TERHAD, sila lampiran surat daripada pihak berkuasa/organisasi berkenaan dengan menyatakan sekali sebab dan tempoh tesis ini perlu dikelaskan sebagai SULIT dan TERHAD.

* Tesis dimaksudkan sebagai tesis bagi Ijazah Doktor Falsafah dan Sarjana secara penyelidikan, atau disertasi bagi pengajian secara kerja kursus dan penyelidikan, atau Laporan Projek Sarjana Muda (LPSM).



UMS
 UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PENGAKUAN

Karya ini adalah hasil kerja saya sendiri kecuali nukilan, ringkasan dan ringkasan dan rujukan yang tiap-tiap satunya telah saya jelaskan sumber.

30 MEI 2011


TENG LEH CHIAO
BN07110073

PENGESAHAN

NAMA : **TENG LEH CHIAO**

NO. MATRIK : **BN07110073**

TAJUK : **KAJIAN PENGEKSTRAKAN DAN PENENTUAN SIFAT
PROTEASE DARIPADA LATEKS
MANGIFERA LAURINA BLUME**

IJAZAH : **IJAZAH SARJANA MUDA SAINS MAKANAN
DENGAN KEPUJIAN DALAM BIDANG
TEKNOLOGI MAKANAN DAN BIOPROSES**

TARIKH VIVA : **20 MEI 2011**

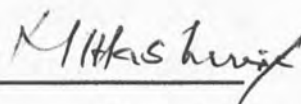
DIPERAKUI OLEH

Tandatangan

1. PENYELIA
(PUAN FAN HUI YIN)



2. PEMERIKSA 1
(DR. MUHAMMAD IQBAL HASHIMI)



3. PEMERIKSA 2
(PROF. MADYA DR. MOHD ISMAIL ABDULLAH)



4. DEKAN
(PROF. MADYA DR. SHARIFUDIN MD SHAARANI)



PENGHARGAAN

Terlebih dahulu saya ingin mengucapkan ribuan terima kasih kepada pihak sekolah Sanis Makanan dan Pemakanan kerana telah member banyak kemudahan dan bantuan kepada saya sepanjang kajian ini. Ribuan terima kasih dan setinggi-tinggi penghargaan ini juga saya tujukkan khas kepada puan Fan Hui Yin, selaku penyelia saya yang banyak member bimbingan, tunjuk ajar, komen, panduan dan nasihat sepanjang tempoh kajian sehinggalah terhasilnya tesis ini.

Penghargaan juga ditujukan kepada semua pensyarah Sekolah Sains Makanan dan Pemakanan, staf-staf, pembantu makmal sekolah kerana telah memberi banyak bantuan dan member tunjuk ajar secara langsung dan tidak langsung sepanjang saya menjalankan kajian ini. Jasa kalian tidak akan saya lupakan.

Untuk rakan-rakan seperjuangan yang dikasihi, terima kasih di atas persahabatan kalian sepanjang kita bersama di Universiti dan kesanggupan untuk berkongsi pengalaman yang amat berharga bagi saya. Begitu juga dengan bantuan-bantuan yang dihulurkan sepanjang kajian ini dijalankan.

Tidak lupa juga ucapan terima kasih disampaikan kepada keluarga tersayang yang banyak member sokongan semangat dan sumbangan kewangan yang amat bernilai bagi saya menyiapkan kajian ini. Tanpa sokongan daripada anda semua tidak mungkin saya dapat menyiapkan kajian ini dalam tempoh yang ditetapkan. Ribuan terima kasih diucapkan sekali lagi kepada anda semua.

ABSTRAK

Kajian ini bertujuan untuk mengkaji aktiviti enzim protease daripada lateks *Mangifera Laurina Blume* dengan suhu dan pH yang berbeza. Suhu optimum dan kestabilan suhu protease dikaji pada julat suhu 10 °C hingga 80 °C dengan menggunakan penimbal yang sama manakala pH optimum dan kestabilan pH protease dikaji dengan pH 1 hingga pH 10 pada suhu 37 °C. Keputusan menunjukkan terdapat perbezaan signifikan ($p < 0.05$) antara faktor suhu dan pH dengan nilai CDU/mg. Didapati protease *Mangifera Laurina Blume* mempunyai aktiviti maksimum pada pH 6 dan pada suhu 60 °C. Protease *Mangifera Laurina Blume* mengalami penyaktifan apabila melebihi pH 6 dan suhu 60 °C kerana perubahan struktur tapak aktif enzim protease berlaku mengakibatkan aktiviti protease menurun. Julat kestabilan protease *Mangifera Laurina Blume* adalah antara pH 4 hingga pH 8 dan protease *Mangifera Laurina Blume* dapat mengekalkan aktivitinya sehingga ke suhu 70 °C. Enzim protease *Mangifera Laurina Blume* akan mengalami penyahaktifan tak berbalik jika tiada dalam julat pH dan suhu ini. Daripada keputusan yang diperolehi, kajian ini menunjukkan enzim protease mempunyai julat pH dan suhu yang luas dan ini membolehkan protease *Mangifera Laurina Blume* sesuai dan berpotensi digunakan untuk industri makanan seperti penggumpalan susu untuk menghasilkan keju tetapi protease ini mungkin tidak sesuai diaplikasikan dalam detergen pencucian kerana enzim detergen pencucian memerlukan protease yang stabil dan aktif pada pH beralkali tetapi protease *Mangifera Laurina Blume* adalah tidak aktif dan stabil pada pH beralkali.

ABSTRACT

RESEARCH ON THE CHARACTERISTIC OF PROTEASE FROM LATEX FROM MANGIFERA LAURINA BLUME

The purpose of this research is to study the activity of protease from latex Mangifera Laurina Blume with different temperature and pH. Optimum temperature and stability temperature of protease was studied in the range from 10 to 80 °C with the same buffer. For stability and optimum pH, the study was conducted in the range from pH 1 to pH 10 at the temperature of 37 °C. Based on the result, there were significant different ($p < 0.05$) between the factor temperature and pH with CDU/mg value. Enzyme protease Mangifera Laurina Blume had the highest activity at pH 6 and 60 °C. Protease Mangifera Laurina Blume has undergone irreversible inactivation when the temperature and pH exceed 60 °C and pH 6. The stability range for protease Mangifera Laurina Blume was between pH 4 to pH 8 and the stability temperature for protease Mangifera Laurina Blume can be stable up to 70 °C. Based on the result, protease Mangifera Laurina Blume had pH and temperature range which was suitable to apply in food industry like for producing cheese but it may not be suitable for application in the detergent for laundry since detergent enzymes must be stable and active at alkaline pH but protease for Mangifera Laurina Blume is deactivated and unstable at alkaline pH.



ISI KANDUNGAN

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
<i>ABSTRACT</i>	vi
SENARAI KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	x
SENARAI RAJAH	xi
SENARAI SINGKATAN	xii
SENARAI SIMBOL	xiii
SENARAI PERSAMAAN	xiv
SENARAI LAMPIRAN	xv
 BAB1 : PENDAHULUAN	
1.1 Pengenalan	1
1.2 Objektif Kajian	3
 BAB 2 : ULASAN PERPUTASKAAN	
2.1 Mangga	4
2.1.1. Ciri-Ciri Morfologi	5
2.1.2. Kematangan dan Penuaian	6
2.1.3 Kegunaan mangga	8
2.1.4 Nilai pemakanan mangga	9
2.1.5 Keluasan dan pengeluaran tanaman mangga Malaysia	10
2.1.7 Nilai eksport mangga Malaysia	11

2.2	Lateks	
2.2.1	Ciri-ciri lateks	11
2.2.2	Lateks mangga	12
2.2.3	Kecederaan buah akibat daripada lateks	13
2.3	Enzim	
2.3.1	Ciri-ciri enzim	13
2.3.2	Pengelasan dan penamaan enzim	14
2.4	Protease	
2.4.1	Pengenalan protease	15
2.4.2	Pengelasan protease	16
2.4.3	Fungsi fisiologi protease	18
2.4.4	Sumber protease	19
2.4.3	Kegunaan protease tumbuhan dalam industri	21
2.5	Faktor yang mempengaruhi keaktifan dan kestabilan protease	
2.5.1	pH	24
2.5.2	Suhu	25
2.5.3	Kestabilan enzim	26
2.7	Penentuan aktiviti proteolitik	28

BAB 3 BAHAN DAN KAEDAH

3.1	Sumber mangga	30
3.2	Senarai Bahan dan radas	30
3.3	Senarai bahan kimia	31
3.4	Pengumpulan lateks	31
3.5	Penyediaan substrate larutan kasein	32
3.6	Penyediaan larutan asid trikloroasetik (TCA)	32
3.7	Penyediaan larutan piawai tyrosine	32
3.8	Kaedah Pengiraan	32
3.9	Pengekstrakan enzim	33
3.10	Penentuan aktiviti proteolitik	33

3.11	Penentuan pH optimum	34
3.12	Penentuan kestabilan pH	34
3.13	Penentuan suhu optimum	35
3.14	Penentuan kestabilan suhu	35
3.15	Analisis statistik	35

BAB 4 KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN

4.1	pH optimum	36
4.2	Kestabilan pH	38
4.3	Suhu optimum	41
4.4	Kestabilan suhu	44

BAB 5 KESIMPULAN DAN CADANGAN

5.1	Kesimpulan	51
5.2	Cadangan	52

RUJUKAN	53
----------------	----

LAMPIRAN	66
-----------------	----

SENARAI JADUAL

	Halaman
Jadual 2.1 Indeks kematangan mangga	8
Jadual 2.2 Nilai pemakanan buah mangga	10
Jadual 2.3 Keluasan dan pengeluaran tanaman mangga Malaysia	11
Jadual 2.4 Nilai (RM ribu) eksport mangga Malaysia tahun 1994-2001	12
Jadual 2.5 Ciri-ciri aminopeptidase dan karboksipeptidase	17
Jadual 2.6 Ciri- ciri kumpulan endopeptidase	18
Jadual 3.1 Senarai bahan dan radas	30
Jadual 3.2 Senarai bahan kimia	31

SENARAI RAJAH

		Halaman
Rajah 2.1	Mekanisme penyahaktifan enzim	29
Rajah 4.1	Unit pencernaan kasein (CDU/mg) bagi enzim protease daripada lateks <i>Mangifera Laurina Blume</i> yang dirawat dengan pH yang berlainan pada suhu 37°C selama 30 minit.	38
Rajah 4.2	Unit pencernaan kasein (CDU/mg) bagi enzim protease daripada lateks <i>Mangifera Laurina Blume</i> yang dirawat dengan pH yang berlainan pada suhu 37°C selama 24 jam.	40
Rajah 4.3	Unit pencernaan kasein (CDU/mg) optimum bagi enzim protease daripada lateks <i>Mangifera Laurina Blume</i> yang dirawat dengan suhu berlainan.	43
Rajah 4.4	Kestabilan unit pencernaan kasein (CDU/mg) bagi enzim protease daripada lateks <i>Mangifera Laurina Blume</i> yang dirawat dengan suhu berlainan.	46

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH



SENARAI SINGKATAN

ASEAN	Association of Southeast Asian Nations
ATP	Adenosina trifosfat
CDU	Casein Digestion Unit
cm	Centimeter
EDTA	Asid Ethylenediaminetetra
FAMA	Federal Agriculture Marketing Authority
HCl	Asid hidroklorik
g	Gram
m	Meter
MARDI	Malaysian Agricultural Research and Development Institute
mg	Miligram
ml	Mililiter
n.a	Tidak diperolehi
N	Normality
nm	Nanometer
RM	Ringgit Malaysia
TCA	Asid trikloroasetik
Tris-HCl	Tris hidroklorida
USDA	United States Food and Drug Administration
Zn	Zink

SENARAI SIMBOL

%	Peratus
e	Anggaran
p	Sementara
°C	Darjah Celsius
H ₂ O	Air
μ	Mikro

SENARAI PERSAMAAN

Halaman

Persamaan 3.1	Unit pencernaan kasein (CDU)	33
---------------	------------------------------	----

SENARAI LAMPIRAN

		Halaman
Lampiran A	Gambarjah untuk <i>Mangifera Laurina Blume</i>	67
Lampiran B	Cara pengumpulan lateks daripada <i>Mangifera Laurina Blume</i>	68
Lampiran C	Carta aliran prosedur pengajian aktiviti proteolitik protease pada suhu dan pH yang berbeza	69
Lampiran D	Lengkungan piawai tyrosine	70
Lampiran D	Aktiviti proteolitik (CDU/mg) enzim protease daripada lateks <i>Mangifera Laurina Blume</i> dirawat dengan berlainan pH pada suhu 37°C selama 30 minit	71
Lampiran E	Aktiviti proteolitik (CDU/mg) enzim protease daripada lateks <i>Mangifera Laurina Blume</i> dirawat dengan berlainan pH pada suhu 37°C selama 24 jam	72
Lampiran F	Aktiviti proteolitik (CDU/mg) optimum enzim protease daripada lateks <i>Mangifera Laurina Blume</i> dirawat dengan suhu 10 °C hingga 80 °C.	73
Lampiran G	Kestabilan aktiviti proteolitik (CDU/mg) enzim protease daripada lateks <i>Mangifera Laurina Blume</i> dirawat dengan suhu 10 °C hingga 80 °C.	74

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Pengenalan

Definisi pengguna untuk buah ialah hasil tumbuhan yang berperisa aromatik, iaitu sama ada mempunyai rasa manis semula jadi atau dijadikan manis sebelum dimakan pada asasnya ia adalah makanan manis (Wills *et al.*, 1998). Mangga merupakan buah-buahan tanaman utama pada kawasan tropika dan kawasan subtropika terutamanya di kawasan Asia yang mengelarkan mangga sebagai raja buah-buahan (John *et al.*, 1999). Mangga tergolong dalam buah-buahan klimakterik kerana peningkatan yang nyata dalam respirasi dan penghasilan etilena yang lebih banyak semasa perenuman (Wills *et al.*, 1998). Di Sabah sahaja, pengeluaran mangga adalah sebanyak 2005 tan dengan keluasan sebanyak 1019 hektar pada tahun 2007 (Jabatan Pertanian Malaysia, 2007).

Mangifera Laurina Blume merupakan salah sejenis buah mangga dalam keluarga Anacardiaceae. Buah ini juga dipanggil mangga ayer atau mangga parih oleh orang tempatan. Buah *Mangifera Laurina Blume* sering dianggap sebagai *Mangifera Indica* kerana serupa dari segi pokok dan daun (Verheij dan Coronel, 1992). Buah ini banyak terdapat di kawasan hutan tropikal yang bertanah rendah. Buah *Mangifera Laurina Blume* boleh dianggap sebagai buah tropikal yang kurang dipergunakan. Sifat bagi buah yang kurang dipergunakan adalah buahnya banyak terdapat di pasaran tetapi jarang terdapat di seluruh dunia dan maklumat saintifik atau pengetahuan tentang buah ini adalah terhad (Khoo dan Ismail, 2008). Kepotensian ekonomi mereka masih tidak diterokai (Ibrahim *et al.*, 2010). *Mangifera laurina Blume* tidak menerima banyak perhatian berbanding dengan buah komersial seperti betik dan nanas. Hal ini mungkin disebabkan kurang dikenali oleh orang tempatan, kekurangan maklumat tentang komposisi nutrisi dan kualiti



fizikal dan kekurangan kempen promosi untuk buah-buahan tersebut (Emmy *et al.*, 2009).

Seperti buah mangga lain, buah *Mangifera Laurina Blume* juga mengandungi lateks yang bercecair. Apabila buahnya dipetik, lateks yang terdapat dalam saluran buah memancut keluar. Lateks ini adalah sangat likat dan apabila bersentuhan dengan buah boleh mengakibatkan kerosakan permukaan buah dengan berlaku kehitaman pada kulit buah dan kawasan yang cedera mejadi mudah diserang patogen (John *et al.*, 1999). Walaubagaimanapun, lateks merupakan sumber protease yang baik. Protease merupakan salah satu enzim yang penting dalam industri dan menduduki sebanyak 60% daripada jumlah pasaran enzim (Sharma *et al.*, 2009). Protease yang berasal daripada tumbuhan telah digunakan secara meluas pada industri terutamanya industri harian dan industri detegen. Sebagai contohnya, protease tumbuhan bromelain, fisin dan papain adalah digunakan secara meluas pada industri harian dan makanan. Papain digunakan pada pelembutan daging, ficin dan bromelain untuk penghasilan bir kerana mempunyai fungsi untuk melarutkan bijian protein dan menstabilkan bir.

Selain itu, protease tumbuhan juga diberikan perhatian dalam industri farmasi dan bioteknologi. Hal ini disebabkan protease tumbuh-tumbuhan mempunyai keterlarutan yang baik, substrat yang khusus, julat aktiviti pH dan suhu yang luas serta stabil pada keadaan yang melampau. Dengan itu, penyelidikan untuk protease baru yang bernilai sentiasa dijalankan untuk membolehkannya dapat diaplikasi dalam industri dengan berkesan (Yadav *et al.*, 2006). Peningkatan permintaan protease yang bersifat khusus terutamanya permintaan industri ke atas enzim proteolitik yang khusus, stabil terhadap pH, suhu dan ion logam merupakan satu dorongan untuk menerokai sumber protease yang baru (Savitha *et al.*, 2011).

Kajian menunjukkan kulit mangga yang biasanya dianggap sebagai sampah dilaporkan mengandungi protease membolehkannya menjadi sumber media untuk

menghasilkan enzim semula jadi (Mehrnoush *et al.*, 2010). Lateks mangga juga mengandungi protease pada jenis mangga yang berbeza (John *et al.*, 2003). Namun, setakat ini kebanyakan kajian terhadap lateks mangga adalah tertumpu terhadap komponen antitoxin, komponen aroma dan aktiviti antibakteria. John *et al.* (1999) menyatakan lateks mangga berpontesi menjadi sumber aroma makanan yang semula jadi dan enzim mungkin boleh dianggap sebagai produk sampingan pertanian yang bernilai.

Sifat-sifat protease daripada lateks buah mangga jarang dikaji. Suhu, pH, kepekatan substrat, tekanan dan masa tindak balas merupakan faktor-faktor yang akan mempengaruhi keaktifan enzim. Julat kestabilan bagi pH dan suhu yang luas dapat menjadikan sebagai enzim berpotensi diaplikasi dalam industri makanan dan industri farmasi (Dubey dan Jagannadham, 2003). Contohnya, parameter protease untuk digunakan industri detergen adalah pada julat pH yang luas (Yandri *et al.*, 2008). Dengan itu, pengkajian ini memberi tumpuan kepada faktor suhu dan pH yang dapat mempengaruhi aktiviti protease. Pengetahuan tentang faktor yang mempengaruhi aktiviti enzim adalah sangat penting untuk mengawal dan memanipulasikan tindak balas berenzim. Suhu optimum, pH optimum, kestabilan suhu dan kestabilan pH protease daripada lateks buah *Mangifera Laurina Blume* dikaji untuk menerokai kepotensian protease daripada lateks *Mangifera Laurina Blume* supaya lateks buah ini tidak dianggap bahan sampingan yang tidak berguna malah meningkatkan penggunaan bahan sampingan serta meningkat nilai buah *Mangifera Laurina Blume*.

1.2 Objektif Kajian

1. Menentukan pH optimum dan kestabilan pH bagi protease hasil pengekstrakan daripada lateks *Mangisfera Laurina Blume*.
2. Menentukan suhu optimum dan kestabilan suhu bagi protease hasil pengekstrakan daripada lateks *Mangisfera Laurina Blume*.

BAB 2

ULASAN PERPUSTAKAAN

2.1 Mangga

Buah *Mangifera* berasal daripada famili Anacardiaceae dan terdiri daripada tujuh puluh spesies. Genus *mangifera* adalah dibahagikan kepada dua subgenera bergantung kepada ciri-ciri morfologikal. Dua subgenera tersebut adalah *Limus* (Marchand) Kosterm dan *mangifera* spesies dengan subgenus *Limus* adalah lebih primitif berbanding dengan subgenus *mangifera* (Litz and Gómez Lim, 2005). Subgenus *Limus* (Marchand) Kosterm mempunyai satu cakera yang lebih sempit daripada tapak ovari seperti tangkai manakala subgenus *Mangifera* Kosterm mempunyai satu cakera lebih luas daripada tapak ovary dan selalu dibahagikan kepada empat atau lima lobus (Litz, 2009).

Subgenus *Limus* dibahagikan kepada dua seksyen iaitu seksyen *Deciduae* yang termasuk *M. casesia*, *M. kemanga*, *M. pajang*, *M. superb* untuk pokok daun deciduous. Seksyen *Perennes* untuk spesies bukan deciduous seperti *M. foetida*, *M. leschenaultia*, *M. macrocarpa* dan *M. odorata*. Subgenus *Mangifera* mengandungi paling banyak spesies dan dibahagikan kepada empat seksyen iaitu seksyen *Marchandora* Pierre, seksyen *Euantherae* Pierre, seksyen *Rawa* Kosterm dan seksyen *Mangifea* Ding Hou (Litz, 2009). Seksyen *Marchandora* Pierre hanya mempunyai satu speseies iaitu *M.gedebe* Miquel dan seksyen *Euantherae* Pierre pula mempunyai tiga spesies iaitu *M. caloneura* Kurz, *M. cochinchinensis* Engler dan *M. pentanda* Hook f. Bagi seksyen *Rawa* Kosterm, ia mempunyai sembilan spesies termasuk *M. andamanica*, *M.nicobarica* dan sebagainya. Seksyen *Mangifera* Ding Hou mempunyai paling banyak spesies kerana melebihi 30 spesies. *M. Indica* dan *M. laurina* adalah tergolong dalam seksyen ini (Litz, 2009).



Sebanyak dua puluh lima jenis *Mangifera* spesies terjumpa di semenanjung Malaysia dan enam belas spesies daripadanya dapat dimakan sebagai buah-buahan. Antara spesies yang dapat dimakan, *M. caesia*, *M. foetida*, *M. odorata* dan *M. indica* adalah paling terkenal di pasaran tempatan semenanjung Malaysia (Yamanaka *et al.*, 2006). Lapan jenis buah *Mangifera* berasal daripada kawasan Asia Tenggara adalah *Mangifera caesia* yang lebih dikenali sebagai beluno orang Sabah, *M. foetida* atau nama lain ialah bacang, *M. horsefieldia* (hambawang), *M. indica* (chokanan, maha), *M. Iagenifera* (machang), *M. odaorata* (kuini), *M. pajang* (bambangan) dan *M. torquenda* (buah loam, kemantan) (Khoo dan Ismail, 2008).

2.1.1 Ciri-Ciri Morfologi *Mangifera Laurina Blume*

Pokok *Mangifera Laurina Blume* adalah tinggi iaitu sebanyak 25 m hingga 30 m tinggi. Diameter batang pokok adalah 40 cm hingga 90 cm. Daun *Mangifera laurina blume* adalah berbentuk elips lanseolat kepada lanseolat, kerkertasannya adalah 6-24 cm × 2-6 cm dan kepanjangan dengan 2-8 cm. Buah *Mangifera laurina blume* hampir sama seperti mangga biasa yang kecil iaitu sebanyak 6-10 cm × 4-5 cm. Tangkai buah ini adalah panjang dan menyebabkan buah ini juga dipanggil sebagai *Mangifera longipes Griffith*. Warna *Mangifera laurina blume* buah akan berubah daripada warna hijau kepada warna kuning pucat apabila kematangan buah. Selain itu, daging buah adalah berwarna kuning, lembut, berserat dan berjus semasa matang (Verheij dan Coronel, 1992).

Bunga *Mangifera laurina blume* terdapat dalam jambak panikel yang glabrus dengan kepanjangan sebanyak 10 hingga 40 cm. Bunga *Mangifera laurina blume* adalah kecil, berwarna kuning keputihan kepada kuning pucat serta berbau harum wangi. Sepal bunga mangga ini adalah lima dan berbentuk ovat-lanseolat (Verheij dan Coronel, 1992). Buah ini sangat mirip kepada *Mangifera indica* tetapi pulpanya menjadi cecair semasa masak. Daging buah yang masak adalah berwarna kuning. Kulit buah adalah licin dan berwarna hijau hingga kuning kehijauan. Buah ini biasanya dimakan sebelum masak iaitu menjadi jeruk atau acar. Hal ini kerana buah yang masak berdaging nipis berbanding dengan mangga lain

mengakibatkannya tidak banyak yang mengemarinya kecuali kanak-kanak. Buah mangga yang belum masak mempunyai lateks yang boleh mengakibat kulit menyepuh jika dipetik (Rukayah Aman, 2001).

Biji mangga adalah terdiri daripada dua bahagian iaitu kulit dan biji yang dipanggil endocarp dan endosperma. Kulit biji bagi mangga adalah tebal, keras dan berserabut. Endosperma adalah berbentuk seperti buah pinggang dan diselaputi oleh kulit ari yang berwarna perang. Biji mangga boleh dikategorikan kepada dua kumpulan mengikut bilangan embrio yang terdapat di dalamnya. Kumpulan pertama adalah mengandungi hanya satu embrio sahaja yang menghasilkan sepokok anak benih apabila bercambah. Kumpulan ini biasanya bertumbuh di Asia Tenggara, Africa Selatan, Amerika Syarikat, Australia. Manakala bagi kumpulan kedua pula melibatkan lebih daripada satu embrio dan boleh menghasilkan lebih daripada sepokok anak benih dan biasanya bertumbuh di kawasan India, Amerika Selatan, Africa dan Florida (Litz, 2009). Didapati kernel biji mangga boleh dimakan terutamanya di kawasan yang kekurangan bekalan kacang dan bijirin. Minyak daripada kernel biji mangga boleh dimakan dan menunjukkan ciri lemak koko yang boleh digunakan sebagai pengganti lemak konfeksioneri. Oleh itu, ia berpotensi dijadikan sebagai lemak konfeksionel yang berharga tinggi (Haron dan Mamot, 2004).

2.1.3 Kematangan dan Penuaian

Buah mangga harus dipetik pada peringkat kematangan yang sesuai mengikut kegunaannya. Biasanya, buah yang dimakan segar akan dipetik setelah masak manakala mangga diproses akan dipetik pada peringkat muda ketika empulurnya belum berserabut. Buah untuk diekspot atau untuk pasaran jauh perlu dipetik pada peringkat kematangan paling awal iaitu buah boleh masak sempurna dengan kualiti yang boleh diterima. Indeks kematangan buah mangga dapat ditentukan pada rupa bentuk buah, pembentukan debu putih, ketumpatan atau graviti buah dan melalui pengiraan umur buah (MARDI, 2005). Ketumpatan buah ditentukan dengan megapungkan buah di dalam air dan buah yang belum matang akan timbul kerana

ketumpatan kurang daripada satu manakala buah yang sudah masak akan tenggelam kerana ketumpatannya lebih daripada satu. Buah yang matang boleh diasingkan mengikut darjah kematangan dengan menggunakan garam biasa (natrium klorida) pada kepekatan yang berbeza. Debu putih terbentuk pada permukaan buah apabila buah mencapai kematangan dan buah boleh dipetik seminggu selepas debu putih terbentuk. Kebanyakan buah mangga yang matang akan berbentuk penuh dengan kulit yang tegang dan isinya berwarna kuning-kekuningan. Cara pengiraan umur buah telah diterima oleh kebanyakan penanam mangga di negara ASEAN. Umur buah yang sesuai untuk dipetik dikira sama ada dari peringkat bunga mekar atau pembentukan putik buah (MARDI ,2005).

Jadual 2.1: Indeks kematangan mangga:

Indeks	Ciri-ciri
1	Belum matang. Kulit berwarna hijau dan kusam. Belum sesuai untuk dituai bagi kegunaan segar.
2	Buah matang. Kulit berwarna hijau muda dan berkilat. Sudah sesuai dituai untuk penghantaran jauh menggunakan kapal laut. Perlu diaruh untuk pemasakan.
3	Buah mulai masak. Kulit berwarna hijau kekuningan. Masih sesuai dituai untuk penghantaran jauh menggunakan udara.
4	Buah hampir masak. Kulit berwarna kuning kehijauan. Tidak sesuai untuk penghantaran jauh. Hanya sesuai untuk penghantaran jauh. Hanya sesuai untuk pasaran tempatan.
5	Buah masak. Kulit berwarna kuning keseluruhan. Hanya sesuai untuk pasaran tempatan. Peringkat terbaik untuk dimakan segar.
6	Buah terlalu masak. Kulit berwarna kuning dengan sedikit oren. Hanya sesuai untuk pasaran tempatan dan jangkahayat amat singkat.

Sumber: Federal Agriculture Marketing Authority (2008)

Demi menjaga kualiti buah, buah mangga harus dipetik dengan memotong tangkai buah serapat mungkin dengan daun terakhir menggunakan gunting pemotong untuk mengelakkan daripada kecederaan. Kaedah ini sesuai digunakan untuk pokok yang rendah atau pokok yang buahnya boleh dicapai dengan tangan apabila menggunakan tangga (MARDI, 2005). Di samping itu, adalah digalakkan memetik buah pada waktu yang paling sejuk iaitu pada awal pagi atau petang tetapi elakkan daripada memetik buah semasa masih basah yang disebabkan oleh embun atau hujan kerana buah akan mudah menjadi busuk dan reput. Alat khas bergelung besi atau rotan yang dilengkapi perangkap jaring atau kanvas dipasang pada hujung galah panjang diperlukan untuk memetik mangga yang mempunyai pokok yang tinggi. Selepas tuai, elakkan buah daripada tersentuh dengan minyak atau bahan kimia yang tidak digunakan dalam rawatan (MARDI, 2005).

2.1.4 Kegunaan mangga

Buah mangga muda atau belum masak dapat digunakan untuk menyediakan acar, *chutneys* dan *amchoor*. Buah yang masak digunakan untuk menyediakan skuasy, nektar, jem, bijian emping, serbuk kastard, makanan bayi, *ampaper* yang sangat terkenal di India. Daun mangga yang lembut dijadikan sebagai sayur di Java dan Filipina, abu daun yang dibakarkan digunakan sebagai ubat melecur dan ubat bakar, asap daun yang dibakar boleh berasa lega selepas disedut. Bunga kering yang mempunyai sifat penyembuhan telah digunakan untuk merawat diarea dan disentri yang teruk serta menghasilkan tanin. Kulit pokok dapat menghasilkan tanin dan mangiferin yang berguna terhadap difteria dan penyakit sengal-sengal tulang. Kayu pokok boleh dijadikan perabot, kotak bungkusan, bot, kotak mancis api dan sebagainya (Bose, 1985). Kulit mangga didapati mengandungi aktiviti anti-pengoksidaan yang baik dan merupakan agen anti-proliferatif yang berpotensi atas tindakan sinergi daripada sebatian bioaktif yang terdapat padanya. Kulit mangga juga berpotensi menjadi makanan berfungsi atau bahan yang bernilai (Kim *et al.*, 2010).

RUJUKAN

- Aehle, W. 2004. *Enzyme in industry: production and application* (2nd Edition). Weinheim : Wiley-VCH.
- Ahmed, I. A., Morishima Isao, Babiker E., Mori N., 2009. Dubiumin, a chymotrypsin-like serine protease from the seeds of *Solanum dubium* Fresen. *Phytochemistry*. **70**: 483-491.
- Agrawal Anurag and Konno Kotaro. 2009. Latex: A Model for Understanding Mechanisms, Ecology, and Evolution of Plant Defense Against Herbivory. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*. **40**:311–319.
- Akolkar, A. and Desai, A. J. 2010. Catalytic and thermodynamic characterization of protease from *Halobacterium* sp. SP1 (1). *Research In Microbiology*. **161** (5): 355-362.
- Amin, M., Aman Ullah Malik, Muhammad Sohail Mazhar, Islam Ud. Din. Muhammad Sharique Khalidi and Saeed Ahmad. 2008. Mango fruit desapping in relation to time of harvesting. *Pakistan Journal of Botany*. **40**(4): 1587-1593.
- Antao, C. M., Malcata, F. X. 2005. Plant serine proteases: biochemical, physiological and molecular features. *Plant Physiology. Biochemistry*. **43**: 637–650.
- Apenten, R. K. O. 1998. The effect of protein unfolding stability on their rates of irreversible denaturation. *Food Hydrocolloids*. **12**: 1-8.
- Bandyopadhyay, C., Gholap, A. S., Mamdapur, V.R. 1985. Characterization of Alkenylresorcinol in Mango (*Mangifera indica*) latex. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **33** (3).
- Banerjee, U., Sani, R., Azmi, W., Soni, R. 1999. Thermostable alkaline protease from *Bacillus brevis* and it characterization as a laundry detergent additive. *Process Biochemistry*. **35**:213-219.



- Banink Rathindra and Prakash Monika. 2004. Laundry detergent compatibility of the alkaline protease from *Bacillus cereus*. *Microbiological Research*. **159**: 135-140.
- Battestin, V., Macedo, G. A. 2007. Effects of temperature, pH and additives on the activity of tannase produced by *Paecilomyces variotii*. *Electronic Journal of Biotechnology*. **10** (2).
- Bayindirh, A., 2010. Enzymes in Fruit and Vegetable Processing: *Chemistry and Engineering Applications*. Taylor and Francis group.
- Belitz, H. D., Grosch, W. Schieberle, P. 2005. *Food Chemistry* (3th Edition). New York: Springer Berlin, Heidelberg.
- Beltagy, A. E., Adawy, T.A., Rahma, E.H and Bedwey, A. A. 2004. Purification and characterization of an acidic protease from the viscera of boliti fish (*Tilapia nilotica*). *Food Chemistry*. **86**: 33-39.
- Bisswanger, H. 2002. *Enzyme kinetics. Principle and methods*. Weinheim : Wiley-VCH.
- Bombara, N., Anon, M. C., Pilosof, A. M. R. 1997. Functional properties of protease modified wheat flours. *Lebensmittel Wissenschaft and Technologie*. **30**: 442-447.
- Bose, T. K. 1985. *Fruit of India Tropical and Subtropical*. Culcatta, India: B. Mitra Naya Prokash.
- Jabatan pertanian Malaysia 2008. Kementerian Pertanian Dan Industri Asas Tani Malaysia. Unit Pengurusan Maklumat dan Statistik, Bahagian Perancangan Strategik dan Antarabangsa.
- Caffini, N. O., Lopez, L. M. I., Natalucci, C. L. & Priolo, N. S. 1988. Proteases of higher plants. General features, physiological roles and applications. *Acta Farmaceutica Bonaerense*. **7**: 195-213.

- Dapeau, G.R., 1976. *Methods in Enzymology*. Lorand, L., (ed.) Vol. XLV. New York: Academic Press
- Daniel, R. M. and Danson, M. J. 2010. A new understanding of how temperature affects the catalytic activity of enzymes. *Trends in Biochemical Sciences*. **35**: 584-591.
- Demir, Y., Gungor, A. A., Duran, E. D., Demir, N. Cysteine protease (capparin) from Capsules of Caper (*Capparis spinosa*). *Food Technology Biotechnology*. **46** (3):286-291.
- Devaraj, K. B., Gowda, L.R., Praksah, V. 2008. An unusual thermostable aspartic protease from the latex of *Ficus racemosa*. *Photochemistry*. **69**: 647:655.
- Devara, K. B., Kumar, P.R., Prakash, V. 2008. Purification, characterization and solvent induced thermal stabilization of ficin from *Ficus carica*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **56**: 11417-11423.
- Dubey, V. K. and Jagannadham M. V. 2003. Procerain, a stable cysteine protease from the latex of *Calotropis procera*. *Phytochemistry*. **62** : 1057–1071.
- Duarte, A. R., Duarte, D. M., Moreira, K. A. Cavalcanti, M. T., Lima-Filho, J. L. and Porto A. L. F. 2009. *Jacaratia corumbensis* O. Kuntze a new vegetable source for milk clotting enzyme. *Brazilian archives of biology and technology*. **52** (1): 1-9.
- Emmy Hainida Khairul Ikram, Khoo H. E., Abbe Maleyki Mhd Jalil, Amin Ismail, Salma Idris, Azrina Azlan, Halimatul Saadiah Mohd Nazri, Norzatol Akmar Mat Diton, Ruzaidi Azli Mohd Mokhtar. 2009. Antioxidant capacity and total phenolic content of Malaysian underutilized fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*. **22**: 388–393.
- Fahmy Afat. S., Ali Ahmed A., Mohamed Saleh. 2004. Characterization of a cysteine protease from wheat *Triticum aestivum* (cv. Giza 164). *Bioresource Technology*. **91**: 297-304.

Federal Agriculture Marketing Authority (FAMA). 2008. Siri panduan kualiti mangga. <http://www.famaxchange.org>. Retrived 4 April 2011.

Fellows, P. J. 2000. *Food processing technology* (2nd edition). Boca Raton: CRC Press.

Freitas, C. D., Jefferson, S. O., Maria, R. A. M., Ni' vea Maria R. Macedo, Mauri'cio P. S., Laurival, A. V., Ma'rcio, V. R. 2007. Enzymatic activities and protein profile of latex from *Calotropis procera*. *Plant Physiology and Biochemistry*. **45**: 781-789.

Fonseca, K. C., Morais, N. C. G., Queiroz, M. R., Silva, M. C., Gomes, M. S., Costa, J. O., Mamede, C.C.N., Torres, F.S. Penha- Silva, N., Beletti, M. E., Canabrava, H.A., Oliveira, F. 2010. Purification and biochemical characterization of Eumiliin from *Euphorbia milii* var. *hislopilii* latex. *Photochemistry*. **71**(7): 708-715.

Grzonka, Z., Kasprzykowski, F. and Wiczak, W. 2007. *Cysteine protease- Industrial Enzymes*. Poland: University of Gdansk.

Haron Hasnah and Mamot Said, 2004. Penentuan Kandungan Nutrien dan Antinutrien dalam Kernel Biji *Mangifera pajang* Kostermans. *Jurnal Sains Kesihatan Malaysia*. **2**(2): 1-11.

Hashim Muhammad Malik, Dong, M. S. Muhammad Farooq, Chen, X. H. 2011. Ginger rhizome as a potential source of milk coagulating cysteine protease. *Phytochemistry*. **72**: 458: 464.

Hmidet Noomen, Nedra El Hadj Ali, Anissa Haddar, Safia Kanoun, Sellami Kamoun, Moncef Nasri, 2009. Alkaline protease and thermostable alpha-amylase co-produced by *Bacillus Licheniformis*. *Biochemical Engineering Journal*. **47**:71-19.

Hong, B. S. and Kuo C. C. 2009. *Identification of proteases and their types*. *Analytical Biochemistry*. **385** (1):153-160.

- Ibrahim Muhammad, Prasad Nagendra, Amin Ismail, Azrina Azlan, and Azizah Abd Hamid, 2010. Physiochemical composition and antioxidant activities of underutilized *Mangifera pajang* fruit. *African Journal of Biotechnology*. **9**(28):4392-4397.
- Iyer, Padma V., Ananthanarayan, L., 2008. Enzyme stability and stabilization—Aqueous and non-aqueous environment. *Process Biochemistry* .**43**: 1019–1032.
- Jabatan Perangkaan Malaysia, 2002. Nilai (RM ribu) eksport mangga Malaysia tahun 1994-2001.
- Jabatan Pertanian Malaysia, 2007. Keluasan hektar dan pengeluaran tanaman buah-buahan mengikut jenis, Sabah.
- John, S. K., Bhat S.G, Prasada Rao, U. J. S. 2003. Biochemical characterization of sap (latex) of a few Indian mango varieties. *Phytochemistry*. **62**:13–19.
- John, S. K., Jagan Mohan Rao, Bhat S. G. and Prasada Rao U.J.S. 1999. *Characterisation of aroma components of sap from different Indian mango varieties*. *Phytochemistry* . **52** :891–894.
- John, S. K. Bhat S.G. and Prasada Rao U.J.S. 2002. Involvement of peroxidase and polyphenol oxidase in mango sap injury. *Journal of Food Biochemistry*. **26**: 403–414.
- Kamsagara, B. D., Kumar, P. R. and Prakash, V. 2008. Purification, Characterization, and Solvent-Induced Thermal Stabilization of Ficin from *Ficus carica*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **56** (23): 11417–11423.
- Ketnawa, S. Sai-Ut, S., Theppakorn, T., Chaiwut, P. and Saroot Rawdkuen, 2009. Partitioning of bromelain from pineapple peel (*Nang Lae* cultiv.) by aqueous two phase system, *Asian Journal of Food Agro-Industry*. **2**(04): 457-468.
- Khan, H., Subhan, M., Mehmood, S., Durrani, M. F., Abbas, S. and Khan, S. 2008. Purification and characterization of serine protease from seeds of *Holarrhena antidysenterica*. *Biotechnology*. **7**(1): 94-99.

- Khaparde, S., S. and Singhal, R. S. 2001. Chemically modified papain for application in detergent formulations. *Biosource Technology*. **78**: 1-4.
- Khoo, H. E. and Ismail Amin. 2008. Carotenoid Content of Underutilized Tropical Fruits. *Plant Foods for Human Nutrition*. **63**:170–175
- Kim, H., Moon J.Y. , Kim H.J. , Lee D.S. , Moonjae Cho, Choi H.K. , Kim Y.S , Ashik Mosaddik, Cho S. K. 2010. Antioxidant and antiproliferative activities of mango (*Mangifera indica* L.) flesh and peel. *Food Chemistry*. **121**: 429–436.
- Kumar, C. G. and Takagi, H. 1999. Microbial alkaline protease: From a bioindustrial viewpoint. *Biotechnology Advances*. **17**: 561-594.
- Kumari Moni, Sharma, A. and Jagannadham M. V. 2010. Decolorization of Crude Latex by Activated Charcoal, Purification and Physico-Chemical Characterization of Religiosin, a Milk-Clotting Serine Protease from the Latex of *Ficus religiosa*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **58** (13):8027–8034.
- Kundu, S., Sundd, M., Jagannadham, M. V. 2000. Purification and characterization of a stable cysteine protease Ervatamin B, with two disulfide bridges, from the latex of *Ervatamia coronaria*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **48**(2): 171-179.
- Kocabiyik Semra and Ozel Hatice. 2007. An extracellular-pepstatin insensitive acid protease produced by *Thermoplasma volcanium*. *Bioresource Technology*. **98**: 112-117.
- Li, W.F., Zhou, X.X. and Lu, P. 2005. Structural features of thermozymes. *Biotechnology Advances*. **23**:271–281.
- Liggieri, C., Obrego, W., Trejo, S. and Priolo, N. 2009. Biochemical analysis of a papain-like protease isolated from the latex of *Asclepias curassavica* L. *Acta Biochimica Biophysica Sinica*. **41**(2): 154–162.
- Litz, R. E. and Gomez-Lim. M.A. 2005. *Biotechnology of fruit and Nut Crop* Oxfordshire: CABI Publishing.

- Litz, R. E. 2009. *The mango, Botany, production and use*. (2nd edition). London: CABI Publishing.
- Loveys, B. R., Robinson, S.P., Brophy, J.J., Chako, E.K. 1999. Mango sap burn: components of fruit sap and their role in causing skin damage. *Australian Journal of Plant Physiology*. **19**: 449–457.
- Mahajan, R. T., Badgujar, S. B. 2010. Biological aspects of proteolytic enzyme: A Review. *Journal of Pharmacy Research*. **3** (9): 2048-2068.
- MARDI, 2005. Anggaran kos pengeluaran dan pendapatan bagi buah-buahan. Kuala Lumpur: Institut Penyelidikan dan Kemajuan Pertanian Malaysia.
- Mantell, S. H., Mathews, J. A., McKee, R. A. 1985. Principles of Plant Biotechnology; Blackwell. Oxford: 207-212.
- Mathews, H. and Litz, R. E. 1992. Mango. In: *Biotechnology of Perennial Fruit Crops, Biotechnology in Agriculture*. Hammerschlag, F. A. and Litz, R.E (Eds). University Press, Cambridge .
- Maurer, H. R. 2001. Bromelain: biochemistry, pharmacology and medical use. *Cellular and Molecular Life Science* .**58**(9):1234–45.
- Menezes, J.B., Alves, R. E., Freire, F.D.C.O. 1995. Mango sapburn-A postharvest injury. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*. **7**(2):181-184.
- Menon, M., Vithayathil, P. J., Raju, S. M., Ramadoss, C.S. 2002. Isolation and characterization of proteolytic enzymes from the latexs of *Synadenium grantii* Hook, 'f'. *Plant Science*. **163**: 131-139.
- Mehnouch, A., Chin P. T., Hamed Mirhosseini, Norashikin A.A., Tau C.L. 2010. Optimisation of serine protease extraction from mango peel. (*Mangifera Indica* Cv. Chokanan). *Food Chemistry* .**124**:666–671.

- Misset, O., Van, D. A. Diagnosing the inactivating process of enzymes. *Progress in Biotechnology*. **15**: 3-18.
- Morcelle, S. R., Caffini, N. O. and Priolo, N. 2004. Proteolytic properties of *Funarium clausum* latex. *Fitoterapia*. **75** (5): 480-493.
- Nallamsetty, S., Kundu, S., Jagannadham, M. V. 2003. Purification and biochemical characterization of a highly active cysteine protease ervatamin A from the latex of *Ervatamia coronaria*. *Journal Protochemistry*. **22**: 1-13.
- Nitisewojo, P. 1999. *Enzimologi Makanan*. Kota Kinabalu: Universiti Malaysia Sabah.
- O'Hare, Ian, T. J., Bally, S. E., Janelle, M. D., Yolanta Saks, Steven, J. R. Underhill. 1999. Characterisation and induction of 'etch' browning in the skin of mango fruit. *Postharvest Biology and Technology*. **16**: 269-277.
- Pandel, M., Dubey, V. K. Yadav, S. C., Jagannadham, M. V. 2006. A novel Serine protease cryptolepain from *Cryptolepis buehneri*: Purification and Biochemical characterization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **54** (26): 10141-10150.
- Panesar, P., Marwaha, S., Chopra, H. 2010. *Enzyme in food processing: fundamentals and potential application*. New Delhi: International Publishing House Pvt. Ltd.
- Patnaik, P. R. 2002. Temperature optima of enzymes: sifting fact from fiction. *Enzyme and microbial technology*. **31**: 198-200.
- Patel, A. K., Singh, V. K., Jagannafham, M. V. 2007. Carnein, a serine protease from noxious plant weed *Ipomoea carnes* (Morning Glory). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **55**(14): 5809-5818.
- Patel, B. K. and Jagannadham, M. 2003. A high cysteine containing thiol proteinase from latex of *Ervatamia heyneana*: Purification and comparison with Ervatamin B and C from *Ervatamia Coronaria*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **51**: 6326-6334.

- Rajesh, R., Gowda, C. D. R., Nataraju, A. 2005. Procoagulant activity of *Calotropis gigantea* latex associated with fibrin (ogen)olytic activity. *Toxicology*. **46**:84–92.
- Rajesh, R., Nataraju, A., Gowda, C. D. R., Freyb, B. M., Frey, F. J., Vishwanath, B. S. 2008. Purification and characterization of a 34-kDa, heat stable glycoprotein from *Synadenium grantii* latex: action on human fibrinogen and fibrin clot. *Biochimie*. **88**:1313–1322.
- Raphael D. Teixeira, Henrique A.L. Ribeiro, Marco-Túlio R. Gomes, Miriam T.P. Lopes and Carlos E. Salas. 2008. The proteolytic activities in latex from *Carica candamarcensis*. *Plant Physiology and Biochemistry*. **46**(11) : 956-961.
- Rastell, R., 2007. *Novel enzyme technology for food application*. New York: Woodhead Publishing Limited.
- Rao, M. B., Tanksale, A. M., Ghage, M. S. and Deshpande, V. V. 1998. Molecular and biotechnological aspects of microbial protease. *Microbiology and molecular biology reviews*. **62** (3): 597-634.
- Ronald, E. W., Deker, E. A., Schwartz, S. J., Sporns, P. 2005. *Handbook of Food Analytical Chemistry, water, protein, Enzymes, Lipids and Carbohydrates*. Hoboken: John Wiley & Son.
- Rowlings, N. D. and Barrett, A. J., 1994. *Methods in enzymology*. pp 19–61. New York: Academic Press.
- Rukayah Aman. 2001. *Buah-buah Nadir Semananjung Malaysia*. Kuala Lumpur: Dewan Bahasa dan Pustaka.
- Salvador, M. C.O., Lian, Z. R., Laursen, R. A., Garcia, V. M. 2011. Biochemical chracterisation of MX-4, a plant cysteine protease of broad specificity and high stabily. *Food Chemistry*. **126**: 543-552.
- Sathish, H. A., Kumar, P. R. and Prakash, V. 2007. Mechanism solvent induced thermal stabilization of papain. *International Journal of Biological Macromolecules*. **41**: 383-390.

- Savitha, S., Sadhasivam, S., Swaminathan, K., Feng H. L. 2011. Fungal protease: Production, purification and compatibility with laundry detergents and their wash performance. *Journal of the Taiwan Institute of chemical Engineers*.**42**:298-304.
- Schaller Andreas. 2004. A cut above the rest: the regulatory function of plant proteases. *Planta* . **220**: 183–197.
- Schagger, H. and Jagow, G. V. 1987. Tricine-sodium dodecyl sulfate–polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa. *Analytical biochemistry*. **166** : 368–37.
- Sequeiros, C., Lopez, L., Caffini, N. O. and Natalucci, C. L. 2003. Proteolytic activity in some Patagonian plants from Argentina. *Filtoterapia*. **74**: 570-577.
- Shankar, S., Rao, M., Laxman, R. S. 2010. Purification and characterization of an alkaline protease by an alkaline protease by a new strain of *Beauveria* sp. *Process Biochemistry*.**46**: 579-585.
- Sharma, A., Moni Kumari and Jagannadham M. V. 2009. Benghalensin, a Highly Stable Serine Protease from the Latex of Medicinal Plant *Ficus benghalensis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* . **57** (23): 11120–11126.
- Singh, K. A., Kumar, R., Rao, G. R. K. Jagannadham, M. V. 2010. Crinumin, a chymotrypsin like but glycoslated serine protease from *Crinum asiaticum*: Purification and physicochemical characterization. *Food Chemistry*.**119**: 1352-1358.
- Singh, V. K., Patel, A.K., Moir, A.J. Jagannadham, M. V. 2008. Indicain, a dimeric serine protease from *Morus indica* cv. K2. *Phytochemistry*. **69**: 2110-2119.
- Sivasankar, B. 2007. *Food processing and preservation*. New Delhi: Prentice Hall of India.

- Sumantha, A., Larraoche, C., Pandey, A. Microbiology and industrial biotechnology of food grade protease: A perspective. *Food Grade Protease, Food Technology Biotechnology*. **44** (2): 211-220.
- Susana, R., Morcelle, Sebastián A. Trejo, Francesc Canals, Francesc X. Avilés, and Nora S. Priolo. 2004. Funastrain c II: A Cysteine Endopeptidase Purified from the Latex of *Funastrum clausum*. *The Protein Journal*. **23**(3).
- Soepadmo, E., Wong K. M. and Saw L. G. 1996. *Tree Flora of Sabah and Sarawak*. Volume 2. Kuala Lumpur. Joint Publication of Sabah Forestry Department, Forest Research Institute Malaysia & Sarawak Forestry Malaysia.
- Tee, E. S., Noor, M. I., Azudin, M. N. and Idris, K. 1997. *Nutrient composition of Malaysian Foods. 4th edition*. Malaysian Food Composition Database Programme Institute of Medical Research, Kuala Lumpur.
- Teixeira, R. D., Ribeiro, H., Gomes, M., Lopes, M. and Salas, C. 2008. The proteolytic activities in latex from *Carica candamarcensis*. *Plant Physiology and Biochemistry*. **46**(11): 956-961.
- Tomar, R., Kumar, R. and Jagannadham M.V. 2008. A stable serine protease, wrightin, from the latex of the plant *Wrightia tinctoria* (Roxb.) R. Br.: purification and biochemical properties. *Journal of agriculture and food chemistry*. **56**:1479-87.
- Tripathi, P., Tomar, R., Jagannadham, M.V. 2011. Purification and biochemical characterisation of a novel protease streblin. *Food Chemistry*. **125**: 1005-1012.
- Tunga, R., Shrivastava, B., Banerjee, R. 2003. Purification and characterization of a protease from solid state cultures of *Aspergillus parasiticus*. *Process Biochemistry*. **28**: 1553-1558.
- Tucker, G.A. L.F. and Woods, J. 1995. *Enzymes in food processing*. London: Blackie Academic and Professional.

- Verheij, E.W.M. and Coronel, R.E. 1992. Plant Resources of South-East Asia: 2 Edible fruits and nuts. Bogor: Prosea Foudation.
- Wang, J., Wang X.j., Jiang S., Lin, P., Zhang J., Lu Y.R., Wang Q. , Xiong Z.J. , Wu Y. Y., Ren J.J. , Yang H.L. 2008. Cytotoxicity of fig fruit latex against human cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*. **46**:1025–1033.
- Whitaker, J. R. 1994. *Principles of Enzymology for the Food Sciences* (2nd ed.). New York: Marcel Dekker.
- Whitaker, J. R., Voragen, A. G. J., Wong, W. S. 2003. *Handbook of food enzymology*. New York: Marcel Dekker.
- Wills, R. B. H., McGlasson, W.B., Graham, D., Lee, T.H. dan Hall, E.G. 1998. *Lepas tuai suatu pengenalan fisiologi dan pengendalian buah-buahan dan sayur-sayuran*. Pulau Pinang: Universiti Sains Malaysia.
- Yada, R. V., 2004. *Proteins in food processing*. Boca Raton: CRC Press.
- Yadav, S. C., Monu Pande, Jagannadham M.V. 2006. Highly stable glycosylated serine protease from the medicinal plant *Euphorbia milii*. *Phytochemistry*. **67**:1414–1426.
- Yamanaka, N., Hasran, M., Xu, D.H., Tsunematsu, H., Salma Idris and Ban T. 2006. Genetic relationship and diversity of four *Mangifera* species revealed through AFLP analysis. *Genetic Resources and Crop Evolution*.**53**: 949–954.
- Yandri, Tati Suhartati, Dian Herasari and Sutopo Hadi. 2008. The chemical modification of protease enzyme isolated from locale bacteria isolate, bacillus Subtilis ITBCCB148 with Ctanuric Chloride-polyethylenglycol. *European Journal of Scientific Research*. **23**: 177-186.
- Zamost, B. L., Nielsen, H. K. and Starnes, R. L. 1991. Thermostable enzyme for industrial applications. *Journal of Industrial Microbiology*. **8**: 71-82.

Zhuo, R. E., Feng, H. E., Liu, L. J. and Xu, M. Y. 1998. Thermal activation of immobilized papain. *Chinese Journal of Polymer Science*. **16** (2):142-145.