

**OPTIMALISASI MEDIA DAN JUMLAH INOKULUM *Ganoderma* sp BTA1 ISOLAT
LOKAL TERHADAP BIODEGRADASI PEWARNA AZO MORDANT BLACK 17**

Atria Martina dan Rodesia Mustika Roza

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Riau, Jl. H.R. Soebrantas, Km 12,5. Pekanbaru. Email :

Tria_mt05@yahoo.com

ABSTRAK

Degradasi dan dekolorisasi bahan pewarna melalui pendekatan secara bioteknologi merupakan teknik yang sangat menarik dan potensial. Mordant Black 17 adalah salah satu pewarna azo yang sukar didegradasi dan bersifat karsinogenik. *Ganoderma* sp. BTA1 telah diketahui mempunyai aktivitas ligninolitik sehingga mampu mendegradasi senyawa-senyawa aromatik. Kemampuan *Ganoderma* sp. BTA1 dalam mendegradasi pewarna azo Mordant Black 17 masih membutuhkan waktu relatif lama sehingga perlu dilakukan optimalisasi medium, jumlah inokulum dan waktu inkubasi untuk mempersingkat waktu inkubasi. Penelitian ini dilakukan secara fermentasi bawah permukaan yang diagitasi dan menggunakan Rancangan Acak Lengkap yang terdiri dari dua tahap. Tahap pertama adalah optimalisasi medium yang terdiri dari medium Basal, Minimal dan N-Limited dengan pemberian Mordant Black 17 sebanyak 150 mg/l dengan masa inkubasi 17 hari. Medium yang terbaik pada penelitian tahap pertama akan digunakan untuk penelitian tahap kedua dengan variasi jumlah inokulum dan waktu inkubasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa medium terbaik untuk degradasi pewarna Mordant Black 17 oleh *Ganoderma* sp. BTA1 adalah medium basal. Interaksi antara jumlah inokulum dan lama inkubasi menunjukkan bahwa kondisi optimal untuk degradasi pewarna Mordant Black 17 adalah pada 10^4 sel/ml *Ganoderma* sp. BTA1 dalam waktu 12 hari.

Kata kunci : *Ganoderma* sp, pewarna azo, Mordant Black 17, biodegradasi.

PENDAHULUAN

Bahan kimia banyak dipergunakan sebagai pewarna sintesis yang dipergunakan dalam bidang industri tekstil, farmasi, kosmetik, percetakan, fotografi, mainan dan makanan. Pewarna sintesis memiliki banyak jenis antara lain : azo, antraquinon, pewarna polymeric, heterosiklik, tripylmetana, indigo dan pewarna reaktif (Dias *et al.*, 2003 ; Almansa *et al.*, 2004; Zille *et al.*, 2005 dan Machado *et al.*, 2006). Pewarna azo merupakan bahan kimia terbesar yang digunakan dalam industri dan makanan, salah satu diantaranya adalah Mordan Black 17.

Penggunaan pewarna azo berkontribusi bahan pencemar ke lingkungan. Sekitar 10-15 % bahan pewarna yang digunakan akan tersisa dan terbuang ke lingkungan. Pewarna azo tersebut bersifat organik yang sulit untuk diuraikan karena gugus fungsi azo berikatan dengan cincin aromatis, bersifat karsinogenik, larut dalam air dan mudah diserap oleh tubuh. (Ali *et al.*, 2001; Dias *et al.*, 2003).

Kemampuan jamur dalam mendegradasi pewarna dipengaruhi antara lain oleh ketersediaan nutrisi, derajat keasaman, suhu dan ketersediaan oksigen. Kemampuan dalam mendegradasi pewarna bergantung pada enzim ekstraseluler yang dihasilkan seperti lignin peroksidase (LiP), manganase peroksidase (MnP) dan lakase (lac) (<http://www.genome.igi-psf.orgwhiterot/Whiterot.home.html>, 2007)

Beberapa penelitian telah dilakukan terhadap kelompok jamur yang mampu mendegradasi pewarna dengan kemampuan dekolorisasi melalui penyerapan warna yang digunakan sebagai substrat. Jamur yang mampu mendegradasi pewarna azo antara lain *Ganoderma lucidum* (D'Souza *et al.*, 1999),

Issatchenkia occidentalis, *Phanerochaete chrysosporium* (Dias *et al.*, 2003), *Pleurotus ostreatus* (Mansur *et al.*, 2003), *Trametes hirsuta* (Abadulla *et al.* 2000; Almansa *et al.* 2004), *Trametes modesta* (Kandelbauer *et al.* 2004; Tauber *et al.* 2005), *Trametes villosa* (Zille *et al.* 2005), dan *Ganoderma* sp. BTA1 (Yanti, 2006).

Martina (2002) telah meneliti aktivitas ligninolitik Aphyllophorales lokal yang berasal dari Taman Nasional Bukit Tigapuluh (TNBT) dan mendapatkan *Ganoderma* sp BTA1 mempunyai aktivitas ligninolitik yang paling tinggi. Pada penelitian Martina *et al.* (2005), *Ganoderma* sp BTA1 mampu mengurangi konsentrasi lignin pada lindi hitam limbah pembuatan pulp sebanyak 64,42%. Kemampuan Jamur *Ganoderma* sp. BTA1 dalam mendegradasi pewarna Mordan Black 17 terutama faktor kimia, fisika dan biologisnya masih belum banyak diteliti. Penelitian yang digunakan untuk menguji aktivitas ligninolitik dalam mendegradasi pewarna azo antara lain menggunakan medium Basal (Steffen *et al.*, 2004), medium minimal (Alves *et al.*, 2004) dan medium N-Limited yang telah dimodifikasi (Martina, 1998).

Yanti (2006) telah meneliti kemampuan *Ganoderma* sp. BTA1 dalam mendegradasi pewarna Mordan Black 17 menggunakan medium N-limited yang mampu mengurangi jumlah pewarna Mordan Black 17, tetapi waktu yang dibutuhkan relatif lama yaitu 17 hari. Pada penelitian ini dilakukan variasi medium, jumlah inokulum dan waktu inkubasi *Ganoderma* sp. BTA1 dalam mendegradasi pewarna azo Mordan Black 17, sehingga diharapkan dapat mempersingkat waktu inkubasi

BAHAN DAN METODE

Bahan dan alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah medium Potato Dextrosa Agar (PDA) untuk biakan isolat jamur, medium N-Limited, medium Basal, medium Minimal, pewarna Mordant Black 17, dan isolat murni jamur *Ganoderma* sp. BTA1 yang diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA UNRI. Pengukuran kadar pewarna azo menggunakan spektrofotometer (20 Genesys--TM).

Rancangan penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang dilaksanakan dalam dua tahap. Tahap pertama adalah melihat kemampuan biodegradasi *Ganoderma* sp. BTA1 terhadap Mordant Black 17 dengan menggunakan beberapa medium yaitu medium Basal, medium Minimal dan Medium N-Limited. Hasil yang terbaik pada penelitian tahap pertama akan digunakan untuk penelitian tahap kedua dengan variasi jumlah inokulum yaitu tanpa pemberian inokulum, inokulum 10^5 /ml, inokulum 10^7 /ml dan inokulum 10^9 /ml dan waktu inkubasi yang terdiri dari 0 hari, 14 hari, 17 hari dan 20 hari.

Penyediaan inokulum

Inokulum diperoleh dengan mengkultur *Ganoderma* sp BTA1 pada medium PDA dan diinkubasi pada suhu kamar selama 20-25 hari. Isolat tersebut digunakan sebagai sumber inokulum.

Optimalisasi medium

Optimalisasi medium bertujuan untuk mencari medium optimal bagi jamur dalam menghilangkan pewarna. Uji optimalisasi medium dilakukan dengan menambahkan pewarna Mordant Black 17 sebanyak 150 mg/l ke dalam 3 medium yang berbeda yaitu medium N-Limited (Martina, 1998), medium Basal (Steffen *et al.*, 2004) dan medium Minimal (Alves *et al.*, 2004). Kemudian diinokulasikan 10^4 sel/ml spora *Ganoderma* sp. BTA1 ke dalam masing-masing 100 ml medium dalam erlenmeyer 250 ml

dan diinkubasi selama 17 hari pada suhu kamar. Pengurangan warna diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 490 nm. Medium yang menunjukkan hasil pengurangan warna yang optimal akan digunakan pada tahap ke-2.

Optimalisasi jumlah inokulum dan waktu

Spora *Ganoderma* sp. BTA1 diinokulasi pada 100 ml medium terbaik yang telah diberi pewarna Mordant Black 17 sebanyak 150 mg/l masing-masing sebanyak 10^2 sel/ml, 10^4 sel/ml dan 10^6 sel/ml dalam erlenmeyer 250 ml. Kultur diinkubasi dalam *orbital shaker* dengan kecepatan 200 rpm. Pengurangan warna diukur pada hari ke-0, ke-14, ke-17 dan ke-20 hari. Kemampuan penghilangan warna dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 490 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

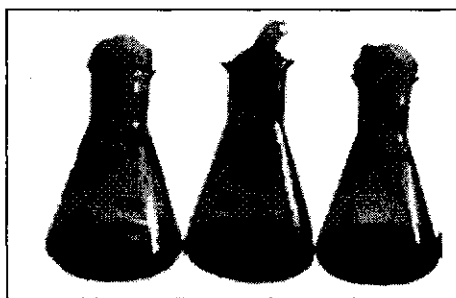
Kemampuan *Ganoderma* sp. BTA1 dalam mendegradasi MB17 terhadap medium yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Konsentrasi sisa MB17 oleh *Ganoderma* sp. BTA1 pada beberapa medium pada inkubasi 17 hari

Perlakuan	Konsentrasi MB17 (mg/l)
Basal	16,630 ^a
N-Limited	121,776 ^b
Minimal	144,394 ^b

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama berarti berbeda tidak nyata menurut uji Duncan (DMRT) pada taraf $p < 0,05$

Kemampuan *Ganoderma* sp. BTA1 mendegradasi warna MB17 pada medium basal sangat berbeda nyata dengan medium lain. Kemampuan ini terlihat dari pengukuran konsentrasi MB17 yang tersisa dalam medium dan terlihat secara visual melalui perubahan warna (Gambar 1.)



Gambar 1. Hasil degradasi Mordant Black 17 oleh *Ganoderma* sp. BTA1 pada inkubasi 17 hari pada medium basal(A), N-Limited(B) dan Minimal(C)

Kemampuan degradasi secara optimal terjadi pada medium basal. *Ganoderma* sp. BTA1 pada medium ini, optimal merombak warna MB17 yang merupakan sumber energi dalam memenuhi kebutuhan hidupnya. Hasil ini berbeda sangat nyata dengan medium N-Limited dan minimal. Hal ini mungkin disebabkan masing-masing medium memiliki kandungan nutrisi yang berbeda. Medium

basal mengandung glukosa yang cukup untuk pertumbuhan jamur sebagai sumber karbon sedangkan N-Limited hanya mengandung sedikit glukosa. Pada medium basal tidak terdapat Mn sehingga aktivitas ligninolitik tidak terhambat. Jeffries *et al.* (1981) menyatakan bahwa penggunaan Mn dapat menghambat aktivitas ligninolitik.

Pada medium N-Limited dan medium basal menggunakan glukosa sebagai sumber karbon, sedangkan medium minimal mengandung maltosa. Menurut Darwis dan Sukara(1990), jamur akan terlebih dahulu menguraikan senyawa monosakarida yang akan diikuti dengan menguraian senyawa disakarida dalam pertumbuhannya dengan menggunakan enzim ekstraseluler yang diproduksi.

Optimalisasi Waktu Inkubasi dan Jumlah Inokulum

Kemampuan *Ganoderma* sp. BTA1 dalam mendegradasi MB17 pada medium basal dengan variasi waktu dan jumlah inokulum dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 2. Konsentrasi sisa MB17 (mg/l) oleh *Ganoderma* sp. BTA1 terhadap variasi jumlah inokulum dan lama inkubasi

Waktu Inkubasi (hari)	Jumlah Inokulum (sel/ml)				Rerata Waktu Inkubasi
	0	10 ²	10 ⁴	10 ⁶	
0	129,028 ^f	126,630 ^{ef}	125,573 ^{ef}	124,069 ^{def}	126,325 ^c
7	128,825 ^f	107,850 ^{cd}	50,208 ^{ab}	119,394 ^{cdef}	101,569 ^b
12	116,882 ^{cdef}	104,638 ^c	48,175 ^a	109,882 ^{cde}	92,516 ^b
17	113,297 ^{cdef}	38,582 ^a	39,069 ^a	63,947 ^b	68,134 ^a
Rerata Jumlah Inokulum	122,008 ^c	94,425 ^b	65,756 ^a	104,323 ^b	-

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf dan kolom yang sama berarti berbeda tidak nyata menurut uji Duncan (DMRT) pada taraf $p < 0,05$

Kemampuan mendegradasi warna MB17 oleh *Ganoderma* sp. BTA1 untuk masing-masing perlakuan sangat bervariasi. Kemampuan pengurangan warna optimal terlihat dari pengukuran konsentrasi MB17 yang tersisa dalam medium untuk setiap perlakuan dan terlihat secara visual melalui perubahan warna Berdasarkan interaksi antara jumlah inokulum dan lama inkubasi, perlakuan yang optimal dalam menguraikan pewarna MB17 adalah perlakuan 10⁴ sel/ml *Ganoderma* sp. BTA1 pada hari ke-12 sebesar 48,175 mg/l. Perlakuan ini berbeda tidak nyata dengan perlakuan 10² sel/ml *Ganoderma* sp. BTA1 pada hari ke-17 sebesar 38,582 mg/l sebagai hasil terbaik. Kedua perlakuan tersebut berbeda sangat nyata dengan kontrol. Perlakuan 10⁴ sel/ml *Ganoderma* sp. BTA1 pada hari ke-12 sebagai hasil optimal didasarkan pada efisiensi waktu sesuai dengan tujuan penelitian ini.

Perlakuan 10⁴ sel/ml *Ganoderma* sp. BTA1 pada hari ke-7 mengalami pengurangan warna yang jauh lebih cepat dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini mungkin disebabkan fase adaptasi yang berbeda pada ketiga perlakuan jumlah inokulum. Jumlah *Ganoderma* sp. BTA1 yang sedikit ataupun terlalu banyak mengakibatkan adaptasi lambat. Perlakuan 10⁴ sel/ml *Ganoderma* sp. BTA1 mengalami fase eksponensial yang lebih cepat dibandingkan dengan perlakuan lainnya, sehingga terjadi pengurangan warna lebih awal.

Pengurangan warna yang terjadi diduga karena adanya aktivitas enzim ligninolitik yang optimal seperti enzim lakase. Enzim lakase diduga lebih dominan bekerja dalam menguraikan pewarna pada penelitian ini daripada enzim manganase peroksidase dan lignin peroksidase karena berbagai penelitian dalam hal degradasi (Almansa *et al.*,2004; Tauber *et al.*,2005; Ali *et al.*,2001; Zille *et al.*,2005) dan

dekolorisasi (Abadulla *et al.*, 2000; Camarero *et al.*, 2004; Dias *et al.*, 2003; Kandelbauer *et al.*,^{a,b} 2004; Zille *et al.*, 2003) pewarna azo banyak menggunakan enzim lakase. Enzim lakase dapat dikarakterisasi (Alves *et al.*, 2004; Bollag dan Leonowicz, 1984; D'Souza *et al.*, 1999; Saparrat *et al.*, 2002; Mansur *et al.*, 2003) dari jamur yang berbeda (Facello dan Cruz, 2007).

Berdasarkan faktor tunggal jumlah inokulum, kemampuan degradasi warna terlihat optimal pada jumlah inokulum 10^4 sel/ml sebesar 65,756 mg/l dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Pengurangan warna mungkin disebabkan oleh aktivitas enzim lakase. Hal ini didukung dengan adanya pelet pada medium. Bollag dan Leonowicz (1984) menyatakan bahwa aktivitas enzim lakase dapat dilihat melalui terbentuknya butiran miselia.

Berdasarkan faktor tunggal waktu inkubasi, kemampuan degradasi warna terbaik dapat dilihat pada hari ke-17 sebesar 68,134 mg/l dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Hal ini diduga bahwa *Ganoderma* sp. BTA1 dalam penelitian ini pada hari ke-17 telah mengalami fase stasioner sehingga jamur merombak pewarna secara optimal untuk mendapatkan energi yang digunakan untuk kelangsungan hidupnya. Pada penelitian Yanti (2007), pengurangan warna yang optimal terlihat pada hari ke-17. Pada fase stasioner nutrisi pada medium pertumbuhan telah habis digunakan dan terjadi akumulasi hasil metabolisme (Darwis dan Sukara, 1990; Mardigan *et al.*, 2003). Pada media terjadi penguraian warna. Hal ini mungkin disebabkan oleh aktivitas enzim lakase. Levin (2002) berpendapat bahwa aktivitas enzim lakase terdeteksi pada fase stasioner. Menurut Facello dan Cruz (2007), lakase diproduksi mulai hari ke-3 dan terus meningkat pada hari ke-20 pada *Trametes pubescens* dengan menggunakan kulit pisang sebagai sumber karbon.

Pada akhir inkubasi yaitu hari ke-17 terjadi perubahan warna. Hal ini mungkin disebabkan oleh aktivitas lakase yang dihasilkan oleh *Ganoderma* sp. BTA1. Menurut Ramalho (2004), aktivitas dekolorisasi terjadi pada fase stasioner yang menggunakan substrat hingga habis yang selanjutnya menggunakan pewarna sebagai sumber karbon dan nitrogen. Mansur *et al.* (2003) berpendapat bahwa sumber karbon dalam kultur akan digunakan selama pertumbuhan eksponensial. Proses dekolorisasi bisa berbeda-beda terhadap berbagai penelitian bergantung pada jenis jamur, medium pertumbuhan dan teknik yang digunakan.

Kandelbauer *et al.*,^a 2004 menyatakan bahwa proses dekolorisasi optimal untuk Mordant Black 9 pada pH 5. Menurut Kandelbauer *et al.*,^b 2004, dekolorisasi bisa saja terjadi pada pH 3-6 pada Diamond Fast Brown baik dengan menggunakan lakase saja atau dikombinasikan dengan berbagai zat tambahan dalam konsentrasi yang sama. Hal ini terjadi pula pada penelitian ini, bahwa pH 17 hari adalah 4 untuk masing-masing perlakuan. Perubahan pH tersebut kemungkinan disebabkan oleh adanya aktivitas isozim lakase yang dihasilkan oleh *Ganoderma* sp. BTA1. Penelitian Mansur *et al.* (2003) menemukan empat isozim lakase yang dimurnikan dan dikarakterisasi dari *Pleurotus ostreatus* strain V-184. Produksi isozim dipengaruhi oleh usia kultur (Levin, 2002).

Degradasi ataupun dekolorisasi dapat terjadi bergantung pada struktur kimia yang dikandung oleh pewarna (Riva, 2006). Gugus hidroksi pada posisi orto atau para ikatan azo adalah bagian yang mudah diserang oleh enzim dan dekolorisasi lebih sempurna (Almansa *et al.*, 2004), namun posisi meta justru tidak dapat terjadi proses dekolorisasi (Kandelbauer *et al.*,^b 2004). Sistem mediator lakase pernah digunakan untuk meneliti kemampuan degradasi berbagai pewarna, salah satunya adalah Mordant Black 9. Degradasi yang terjadi diakibatkan oleh pemutusan struktur pewarna oleh mediator lakase seperti ABTS (2,2-azonobis(3-ethylbenz-thiazoline-6-sulfonic acid) (Almansa *et al.*, 2004).

Dari berbagai penelitian tentang biodegradasi pewarna azo, hasil pengurai pewarna bergantung pada pewarna yang digunakan menjadi molekul yang lebih sederhana (Kandelbauer *et al.*,^a 2004; Zille

et al., 2005). Pewarna azo seperti 3-(4-dimethylamino-1-phenil azo) benzenesulfonic acid dan 3-(2-hydroxy-1-naphthylazo) benzenesulfonic acid pernah diuji kemampuan degradasinya dengan menggunakan lakase dari *Trametes villosa*. Hasil penguraian yang teridentifikasi adalah benzenesulfonic acid, hydroxyl-benzenesulfonic acid, 3-diazenyl-benzenesulfonic acid, poly(catechol), 1,2-naphthoquinone dan 1,2-naphthodiol. Sampai saat ini, kebanyakan hasil degradasi tersebut masih belum dapat diidentifikasi (Zille *et al.*, 2005).

KESIMPULAN

Medium terbaik untuk degradasi pewarna Mordant Black 17 oleh *Ganoderma* sp. BTA1 adalah medium basal. Interaksi antara jumlah inokulum dan lama inkubasi menunjukkan kondisi optimal *Ganoderma* sp. untuk degradasi pewarna Mordant Black 17 adalah pada jumlah inokulum BTA1 10^4 sel/ml dalam waktu inkubasi 12 hari

DAFTAR PUSTAKA

- Abadulla E, Tzanov T, Costa S, Robra K, Cavaco-Paulo A, Gubitz GM. 2000. Decolorization and Detoxification of Textile Dyes with a Laccase from *Trametes hirsuta*. *Applied and Environmental Microbiology* 66(8): 3357-3362.
- Almansa E, Kandelbauer A, Pereira L, Cavaco-Paulo A, Gubitz GM. 2004. Influence of Structure on Dyes Degradation with Laccase Mediator Systems. *Biocatalysis and Biotransformation* 22(5/6): 315-324.
- Alves AMCR, Record E, Lomascolo A, Scholtmeijer K, Asther M, Wessels JGH, Wösten HAB. 2004. Highly Efficient of Production Laccase by the Basidiomycete *Pycnoporus cinnabarinus*. *Applied and Environmental Microbiology* 70(11): 6379-6084.
- Ali R, Bakar WAWA, Aris A, Yan MP. 2001. Degradasi Larutan Pewarna Azo Tekstil menggunakan Sistem Heterogenan O_3 , O_3 /UL, O_3 /TiO₂/UL dan O_3 /H₂O₂/UL. *Jurnal Teknologi* 35(C): 45-60.
- Anonim. 2007^a. *Phanerochaete chrysosporium*. <http://www.genome.jgi-psf.org/whiterot1/whiterot1.home.html>. [Accessed date: 02 Juni 2007].
- Bollag JM, Leonowicz A. 1984. Comparative Studies of Extracellular Fungal Laccases. *Applied and Environmental Microbiology* 48(4): 849-854.
- Camarero S, Ibarra D, Martínez MJ, Martínez ÁT. 2004. Lignin-Derived Compounds as Efficient Laccase Mediators for Decolorization of Different Types of Recalcitrant Dyes. *Applied and Environmental Microbiology* 71(4): 1775-1784.
- Darwis AA, Sukara E. 1990. Penuntun Praktikum: Isolasi, Purifikasi dan Karakterisasi Enzim. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor.
- Dias AA, Bezerra RM, Lemos PM, Pereira AN. 2003. In vivo and Laccase-catalysed Decolourization of Xenobiotic Azo Dyes by a Basidiomycetous Fungus: Characterization of Its Ligninolytic System. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 19:969-975.
- D'Souza TM, Merritt CS, Reddy A. 1999. Lignin-Modifying Enzymes of the White Rot Basidiomycete *Ganoderma lucidum*. *Applied and Environmental Microbiology* 65(12): 5307-5313.
- Facello J, Cruz O. 2007. Banana Skin: a Novel Material for a Low-Cost Production of Laccase. [Thesis]. Revira Ivirgiloi University. Graduate Studies in Chemical, Environmental and Process Engineering Master.

- Jeffries TW, Choi S, Kirk TK. 1981. Nutritional Regulation of Lignin Degradation by *Phanerochaete chrysosporium*. *Applied and Environmental Microbiology* 42(2): 290-296.
- Kandelbauer A^a, Erlacher A, Cavaco-Paulo A, Gubitz GM. 2004. Laccase-catalyzed Decolorization of the Synthetic Azo-dye Diamond Black PV 200 and of some Structurally Related Derivatives. *Biocatalysis and Biotransformation* 22(5/6): 331-339.
- Kandelbauer A^b, Maute O, Kessler RW, Erlacher A, Gubitz GM. 2004. Study of Dye Decolorization in an Immobilized Laccase Enzyme-Reactor Using Online Spectroscopy. Wiley Interscience.
- Levin L, Forchiassin F, Ramos AM. 2002. Copper Induction of Lignin-Modifying Enzymes in the White-Rot Fungus *Trametes trogii*. *The Mycological Society of America* 94(3): 377-383.
- Machado KMG, Compant LCA, Morais RO, Rosa LH, Santos MH. 2006. Biodegradation of Reactive Textile Dyes by Basidiomycetous Fungi from Brazilian Ecosystems. *Brazilian Journal of Microbiology* 37(4): 1517-8382.
- Mansur M, Arias ME, Copa-Patino JL, Flärdh M, González AE. 2003. The White-rot Fungus *Pleurotus ostreatus* Secretes Laccase Isozymes with Different Substrate Specificities. *Mycologia* 95(6): 1013-1020.
- Mardigan MT, Martinko JM, Parker J. 2003. *Brock Biology of Microorganisms*. Edisi ke-10. Prentice Hall. New Jersey.
- Martina A. 2005. Kemampuan *Ganoderma* sp. Strain Lokal mendegradasi lignin pada beberapa konsentrasi lindi hitam. Prosiding seminar UNRI-UKM ke 3. Pekanbaru.
- Martina A. 1998. Optimasi Beberapa Faktor Fisik yang Mempengaruhi Degradasi Kayu Albasia [*Paraserianthes falcataria* (L.) Nielsen], Karboksimetilselulosa (CMC) dan Indulin Secara Enzim oleh Jamur *Phanerochaete chrysosporium* Burds. [Tesis]. Institut Teknologi Bandung. Program Pasca Sarjana.
- Ramalho PA, Cardoso MH, Cavaco-Paulo A, Ramalho MT. 2004. Characterization of Azo Reduction Activity in a Novel Ascomycete Yeast Strain. *Applied and Environmental Microbiology* 70(4): 2279-2288.
- Riva S. 2006. Laccases: Blue Enzymes for Green Chemistry. *TRENDS in Biotechnology*. 24(5).
- Steffen KT, Hatakka A, Hofrichter M. 2003. Degradation of Benzo[a]pyrene by the Litter-Decomposing Basidiomycete *Stropharia coronilla*: Role of Manganese Peroxidase. *Applied and Environmental Microbiology* 69(7): 3957-3964.
- Tauber MM, Guebitz GM, Rehorek R. 2005. Degradation of Azo Dyes by Laccase and Ultrasound Treatment. *Applied and Environmental Microbiology* 71(5): 2600-2607.
- Yanti F. 2007. Degradasi Pewarna Azo Mordant Black 17 oleh *Ganoderma* sp. Strain Lokal Riau. [Skripsi]. Universitas Riau. Jurusan Biologi FMIPA.
- Zille A, Tzanov T, Guebitz GM, Cavaco-Paulo A. 2003. Immobilized Laccase for Decolourization of Reactive Black 5 Dyeing Effluent. *Biotechnology Letters* 25: 1473-1477.
- Zille A, Gornacka B, Rehorek A, Cavaco-Paulo A. 2005. Degradation of Azo Dyes by *Trametes villosa* Laccase over Long Periods of Oxidative Conditions. *Applied and Environmental Microbiology* 71(11): 6711-6718.