

KEMAMPUAN *Ganoderma* sp MENDEGRADASI LIGNIN PADA BEBERAPA KONSENTRASI LINDI HITAM

Atria Martina, Silvera Devi & Sri Marlina
Jurusan Biologi FMIPA Universitas Riau

ABSTRAK

Jamur yang mempunyai aktivitas ligninolitik berpotensi diterapkan pada bidang bioteknologi seperti pada proses biopulping, biobleaching, dekolonisasi dan detoksifikasi senyawa aromatik. *Ganoderma* sp yang diisolasi dari Taman Nasional Bukit Tigapuluh telah diteliti mempunyai aktivitas ligninolitik. Penelitian ini bertujuan mendeteksi kemampuan *Ganoderma* sp dalam mendegradasi lignin pada lindi hitam secara fermentasi di bawah permukaan yang diagitasi. Spora *Ganoderma* sp ($11,7 \times 10^3/\text{ml}$) diinokulasi pada medium N-Limited mengandung lindi hitam dengan konsentrasi 20%, 40% dan 60%. Perlakuan kontrol tanpa diinokulasi *Ganoderma* sp. Kecepatan agitasi diperlambat pada saat idiofase. Hasil penelitian menunjukkan bahwa inokulasi *Ganoderma* sp dapat meningkatkan degradasi lignin dan menekan perubahan pH akhir. Degradasi lignin yang terbesar (65,42%) adalah pada konsentrasi lindi 20% dan yang terendah (4,41%) pada tanpa diinokulasi *Ganoderma* sp dengan konsentrasi lindi hitam 60%. pH akhir medium fermentasi tertinggi sebesar 5,43 diperoleh pada perlakuan tanpa *Ganoderma* sp. dengan konsentrasi lindi hitam 60% dan terendah sebesar 5,07 ditemukan pada perlakuan dengan *Ganoderma* sp dan konsentrasi lindi hitam 20%.

Kata kunci : *Biodegradasi Ganoderma, lindi hitam*

PENDAHULUAN

Lignin merupakan polimer organik dapat diperbarui terbanyak kedua di bumi. Lignin merupakan komponen utama pada kayu. Kayu dan lignoselulosa merupakan sumber utama untuk produksi kertas. Industri pulp dan kertas menghasilkan efluen mengandung derivat lignin dan senyawa fenolik lainnya. Efluen ini sering bersifat toksik dan memiliki karakteristik warna coklat (Singh dan Roymoulik, 1992). Serat selulosa yang digunakan sebagai bahan baku kertas, diperoleh melalui proses pemasakan serpih kayu atau delignifikasi yang menghasilkan lignin terlarut sebagai lindi hitam kraft. Lindi hitam menimbulkan masalah bagi industri kertas karena terlarutnya lignin hasil proses kraft. Senyawa lignin akan mencemari lingkungan karena

lignin merupakan senyawa aromatis berantai panjang yang sulit terurai dan bersifat toksik bagi makhluk.

Kirk (1993) dan Alexopoulos *et al.* (1996) mengemukakan bahwa kelompok Basidiomycota pelapuk putih (*white rot*) merupakan mikroba yang paling baik mendegradasi lignin misalnya penguraian residu lignin dari lindi hitam. Jamur yang mempunyai aktivitas ligninolitik dapat mendegradasi lignin dan senyawa aromatis lainnya. Menurut De Souza *et al.* (1999) aktivitas ligninolitik disebabkan oleh terdapatnya *Lignin Modifying Enzymes* (LMEs) yang terdiri dari 3 kelompok utama yaitu lakase, mangan peroksidase (Mn) dan lignin peroksidase (LiP).

Penelitian yang dilakukan Harjati dalam Martina (1998) menunjukkan bahwa beberapa isolat jamur pelapuk putih (*white rot*) tipe liar, strain lokal dari Jawa Barat mempunyai aktivitas ligninolitik lebih tinggi dari pada *Phanerochaete chrysosporium* ME 446 yang biasanya dipakai dalam menghasilkan ligninase. Martina dan Zul (2003); dan Martina (2003) mendapatkan dari 14 jenis jamur Aphylophorales berasal dari TNBT yang diseleksi pada medium padat mengandung pewarna polimer RBBR dan Poly R-478 - *Ganoderma sp* mempunyai aktivitas ligninolitik tertinggi. *Ganoderma sp* memperlihatkan dekolorisasi ekstensif dan kecepatan pertumbuhan yang tinggi. Saat ini penelitian tentang aktivitas *Ganoderma sp* strain lokal hanya sebatas uji secara kualitatif sehingga perlu dilakukan uji secara kuantitatif. Pada penelitian ini dievaluasi kemampuan isolat *Ganoderma sp* dalam mendegradasi lignin yang terdapat pada lindi hitam dengan beberapa konsentrasi secara kualitatif.

METODOLOGI/KAEDAH EKSPERIMEN

Bahan dan alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah medium *Potato Dextrosa Agar* (PDA), medium N-limited, reagen Folin Fenol dan reagen Karbonat Tartarat. Isolat murni jamur *Ganoderma sp* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi jurusan Biologi FMIPA UNRI dan lindi hitam diperoleh dari Laboratorium Pemindahan Bahan jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik UNRI. Pengukuran lignin menggunakan spektrometri Genesis II, Milton Roy Co.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial dengan 6 perlakuan (2 x 3) dan 3 kali ulangan. Faktor 1 adalah pemberian *Ganoderma sp* dan tanpa *Ganoderma sp*. faktor 2 adalah konsentrasi lindi hitam yaitu 20%, 40% dan 60%.

Penyediaan inokulum. Kultur *Ganoderma sp* diinokulasi pada PDA dan diinkubasi pada suhu kamar selama 20-25 hari. Isolat tersebut digunakan sebagai sumber inokulum.

Pengukuran kurva pertumbuhan. Penentuan kurva pertumbuhan untuk *Ganoderma sp* dilakukan secara gravimetri yang bertujuan untuk

mendapatkan idiofase. Pada fase ini biasanya metabolit sekunder maksimum dihasilkan. Penentuan kurva pertumbuhan dilakukan dengan menginokulasikan $11,7 \times 10^3$ /ml suspensi spora ke dalam erlenmeyer berisi 50 ml medium N-limited (Martina, 1998). Inkubasi dilakukan dalam *orbital shaker* dengan kecepatan 150 rpm pada suhu kamar.

Penentuan degradasi lignin. Pada medium fermentasi menggunakan medium N-limited diberi lindi hitam sebanyak 20%, 40% dan 60%, pH diatur 4,5 lalu diinokulasikan spora *Ganoderma* sp $11,7 \times 10^3$ /ml kecuali pada perlakuan tanpa *Ganoderma* sp. Fermentasi dilakukan dengan cara fermentasi di bawah permukaan yang diinkubasi dalam *orbital shaker* berkecepatan 150 rpm. Pada saat telah memasuki idiofase, kecepatan diturunkan menjadi 115 rpm dan diinkubasi selama 10 hari setelah idiofase tersebut. Pengurangan kadar lignin pada lindi hitam diukur menggunakan metoda Folin Fenol (APHA, 1995). Penentuan degradasi lignin pada medium fermentasi dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut: % degradasi = $[(X_{awal} - X_{akhir})/X_{awal}] \times 100\%$; dengan X_{awal} : konsentrasi lignin sebelum fermentasi, dan X_{akhir} : konsentrasi lignin setelah fermentasi.

Pengukuran pH akhir medium fermentasi. Penentuan pH akhir dari masing-masing medium fermentasi dilakukan menggunakan pH meter 210A, Orion.

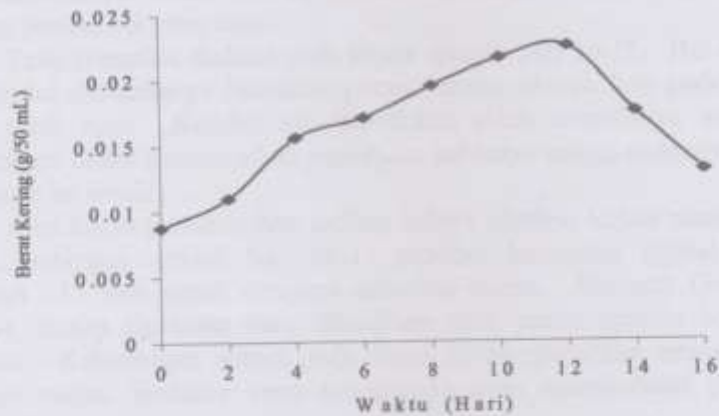
Data dihitung menggunakan analisis keragaman (ANOVA). Apabila pada analisis uji F terdapat adanya perbedaan yang nyata, maka pengujian akan dilanjutkan dengan uji *Duncan New Multiple Range Test* (DNMRT) pada taraf nyata (α) = 5% (Steel & Torrie, 1995).

HASIL DAN PERBINCANGAN

Pertumbuhan Jamur *Ganoderma* sp

Kurva pertumbuhan jamur *Ganoderma* sp berdasarkan hasil penelitian terlihat pada Gambar 1.

Fase lag (adaptasi) terjadi pada hari ke-0 sampai 1, saat ini jamur mulai beradaptasi terhadap media pertumbuhan dan kondisi lingkungan disekitarnya. Pada fase ini sel melakukan adaptasi fisiologi dan metabolisme dalam mempersiapkan diri untuk melakukan reproduksi. Reproduksi terjadi sangat lambat karena mungkin enzim yang dibutuhkan untuk metabolisme masih sedikit atau baru mulai dibentuk. Menurut Caldwell (1995), Fase lag oleh mikroba adalah untuk pengenalan lingkungan baru. Faktor yang mempengaruhi fase lag antara lain nutrisi, pH dan kondisi fisiologi mikroba sendiri. Pada fase ini aktivitas metabolisme tinggi, karena kondisi lingkungan baru berbeda dengan kondisi lingkungan alaminya.



Gambar 1. Kurva pertumbuhan *Ganoderma* sp yang diinkubasi dalam N-limited

Fase logaritmik (eksponensial) dimulai pada hari ke-2, yaitu terjadi pertambahan massa dari sel jamur. Pada fase ini pertumbuhan mencapai kecepatan maksimum. Sel sudah beradaptasi dengan lingkungan barunya dan enzim-enzim yang dibutuhkan untuk pertumbuhan sudah terbentuk. Selama fase ini sel membutuhkan energi lebih banyak dibanding fase lainnya. Menurut Mangunwidjaja & Suryani (1994), pada fase ini komposisi kimia medium berubah akibat terjadinya sintesis produk dan penggunaan substrat. Setelah hari ke-10 pertambahan massa sel jamur mulai menurun, kondisi ini menandakan pertumbuhan jamur mulai menuju ke idiofase yang merupakan awal dari fase stasioner. Pertumbuhan sel jamur yang mulai menurun mungkin disebabkan oleh nutrisi di dalam medium mulai berkurang dan adanya hasil metabolisme yang barangkali dapat menghambat pertumbuhan jamur itu sendiri. Biomassa yang padat menyebabkan terjadinya kompetisi untuk mendapatkan nutrisi, oksigen dan ruang, sehingga metabolisme jamur menjadi rendah dan pertambahan biomassa menjadi sedikit.

Fase stasioner (statis) dialami oleh jamur ini sangat pendek yaitu pada hari ke-12, dimana saat ini pertambahan biomassa jamur mulai terhenti. Pada fase ini jumlah sel yang mati seimbang dengan sel yang tumbuh. Hal ini disebabkan oleh komposisi media yang menurun, metabolit sekunder yang dihasilkan dan perubahan pH medium. Menurut Moat & Foster (1994), mikroba memasuki fase stasioner disebabkan diantaranya kekurangan nutrisi yang penting untuk pertumbuhannya, adanya metabolit yang bersifat toksik, kehabisan oksigen ataupun perubahan pH yang tidak sesuai untuk

pertumbuhannya. Pada fase ini jumlah sel yang dibentuk atau hidup sama dengan jumlah sel yang mati.

Fase kematian dialami oleh jamur setelah hari ke-12. Hal ini terlihat dari mulai menurunnya biomassa jamur karena adanya lisis pada sel jamur yang telah mati. Kondisi ini disebabkan tidak tersedianya nutrisi yang mencukupi untuk pertumbuhan jamur dan habisnya energi cadangan di dalam sel jamur itu sendiri.

Dari kurva pertumbuhan terlihat bahwa idiofase terjadi menjelang hari ke-11, sehingga setelah hari ke-11 tersebut kecepatan agitasi dikurangi menjadi 115 rpm untuk menjaga aktivitas enzim. Menurut Gold & Alic (1993), enzim ligninase baru dihasilkan oleh jamur apabila berada pada idiofase. Kekurangan nutrisi pada tahap ini menyebabkan terakumulasinya inducer enzim ligninase yang selanjutnya akan menginduksi pengeluaran ligninase.

Degradasi Lignin oleh *Ganoderma* sp.

Pengaruh *Ganoderma* sp terhadap degradasi lignin pada beberapa konsentrasi lindi hitam dapat dilihat pada Tabel 1. Penentuan notasi berdasarkan data analisis varian (ANOVA) dan hasil uji lanjut Duncan (DNMRT).

Tabel 1. Hasil uji lanjut Duncan (DNMRT) degradasi lignin pada lindi hitam oleh *Ganoderma* sp

Perlakuan	Konsentrasi Lindi hitam (%)	Degradasi lignin (%)
Tanpa <i>Ganoderma</i> sp	20	29,23 c
	40	13,95 d
	60	4,41 e
<i>Ganoderma</i> sp	20	65,42 a
	40	42,62 b
	60	14,52 d

Keterangan : angka yang diikuti oleh notasi huruf sama, tidak berbeda nyata pada taraf DNMRT 5%.

Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa degradasi lignin dengan pemberian *Ganoderma* sp pada lindi hitam dengan 3 perlakuan konsentrasi sangat berbeda nyata. Pada perlakuan tanpa *Ganoderma* sp. dengan konsentrasi lindi hitam 40% tidak berbeda nyata dengan *Ganoderma* sp. pada konsentrasi 60%, degradasi pada kedua perlakuan tersebut adalah 13,95% dan 14,52%.

Degradasi lignin tertinggi yaitu sebesar 65,42% terjadi pada perlakuan *Ganoderma* sp dengan konsentrasi lindi hitam 20%. Hal ini diduga karena

konsentrasi lindi hitam 20% relatif lebih rendah dari 40% dan 60%, sehingga lebih mudah untuk didegradasi oleh *Ganoderma* sp. Pertumbuhan dan pembentukan produk berkaitan dengan unsur hara (nutrisi). Konsentrasi nutrisi pada pertumbuhan sel memperlihatkan kinetika tipe kejenuhan pada saat konsentrasi nutrisi ditingkatkan.

Degradasi lignin terendah yaitu 14,52% ditemukan pada perlakuan *Ganoderma* sp dengan konsentrasi lindi hitam 60%. Konsentrasi lindi hitam yang tinggi dan kandungan lignin yang lebih banyak mengakibatkan jamur sulit untuk tumbuh dan mendegradasi lignin tersebut. Caldwell (1995) menyatakan bahwa mikroba tidak dapat tumbuh dengan cepat di bawah kondisi nutrisi terbatas ataupun berlebihan.

Kemungkinan lain adalah karena pH akhir medium fermentasi pada konsentrasi lindi hitam 60% dengan *Ganoderma* sp, yakni 5,32, lebih tinggi dibandingkan perlakuan dengan konsentrasi lindi hitam 20% dan 40%. Perubahan pH ini menekan produksi *Lignin Modifying Enzymes* yang dihasilkan, sehingga degradasi lignin semakin kecil. Menurut Tapia dan Vicuna (1995), kenaikan pH medium dapat menekan aktivitas enzim ligninase yaitu mangan peroksidase (MnP) dan menurunkan reaktivitas dan stabilitas ion Mn^{3+} . Menurut Kirk & Fenn dalam Crawford (1981), degradasi lignin sangat dipengaruhi oleh pH, dan pH optimum bagi Basidiomycota pelapuk putih (*white rot*) seperti *Phanerochaete chrysosporium* untuk mendegradasi lignin adalah 4,5.

Pada perlakuan tanpa *Ganoderma* sp, degradasi lignin tertinggi terdapat pada konsentrasi lindi hitam 20%, yaitu 29,23% dan terendah pada konsentrasi lindi hitam 60%, yaitu 4,41%. Kondisi ini disebabkan oleh konsentrasi lindi hitam yang lebih rendah sehingga lebih mudah terdegradasi dibandingkan dengan konsentrasi lindi hitam yang lebih tinggi. Degradasi lignin hanya disebabkan oleh perlakuan fisika dan kimia saja seperti pemanasan pada waktu sterilisasi, perubahan pH dan agitasi yang dilakukan saat inkubasi. Perlakuan-perlakuan tersebut menyebabkan ikatan-ikatan struktur lignin melemah dan bisa terurai. Fengel & Wegener (1995) melaporkan bahwa berdasarkan studi spektroskopi inframerah berbagai sampel lignin yang diisolasi dari *spruce* (*Picea jezoensis*) dan *cypress* (*Chamaecyparis obtusa*), dan dipanaskan dalam kisaran 20-250°C menyebabkan pemutusan ikatan hidrogen dalam struktur lignin pada 60-80°C.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa umumnya degradasi lignin pada lindi hitam dengan pemberian *Ganoderma* sp berlangsung lebih optimum dibandingkan tanpa *Ganoderma* sp. Hal ini mungkin disebabkan oleh adanya aktivitas dari *Ganoderma* sp yang memproduksi *Lignin Modifying Enzymes* di samping perlakuan fisika dan kimianya. D'Souza *et al.* (1999) menyatakan bahwa *Lignin Modifying Enzymes* mampu mendegradasi lignin menjadi senyawa-senyawa aromatik dan alifatik yang selanjutnya didegradasi oleh

enzim melalui pembentukan fenoksi radikal. LiP dan MnP mengoksidasi senyawa aromatik nonfenolik dengan potensial oksidasi reduksi tinggi merupakan komponen utama polimer lignin. Lakase mengoksidasi senyawa nonfenolik dengan potensial oksidasi relatif rendah, tetapi bila terdapat mediator berberat molekul rendah, lakase juga dapat mengoksidasi substrat nonfenolik dengan potensial oksidasi-reduksi tinggi seperti senobiotik tertentu.

pH Akhir Medium Fermentasi

Hasil pengukuran pH akhir medium fermentasi dapat dilihat pada Tabel 2. Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa pemberian *Ganoderma* sp. sangat berpengaruh terhadap pH akhir medium fermentasi yang mengandung lindi hitam, kecuali pada konsentrasi lindi hitam 60%. Pada konsentrasi lindi hitam 60% ini diduga metabolisme jamur *Ganoderma* sp yang diinokulasikan ke dalam medium fermentasi tidak berlangsung baik sehingga lignin yang terkandung dalam medium hanya sedikit terdegradasi, kondisi ini mengakibatkan kenaikan pH medium fermentasi.

pH medium terendah adalah pada perlakuan *Ganoderma* sp dengan konsentrasi lindi hitam 20% yaitu 5,07. Hal ini mungkin karena laju degradasi lignin yang tinggi yaitu 65,42%. Pada perlakuan ini aktivitas dari *Lignin Modifying Enzymes* yang diproduksi oleh *Ganoderma* sp berlangsung optimum sehingga lignin dapat terdegradasi lebih banyak. Hasil penguraian lignin membentuk produk intermediet berupa asam yang akan dapat menekan kenaikan pH. Menurut Zabel (1992) dan Odier *et al cit* Bockle *et al.* (1998), produk intermediet yang dihasilkan antara lain vanillin, siringaldehid, asam vanilat, asam isovanilat dan asam veratrik.

Tabel 2. Hasil uji lanjut Duncan (DNMRT) pH akhir medium fermentasi lindi hitam

Perlakuan	Lindi hitam (%)	pH akhir medium fermentasi
Tanpa <i>Ganoderma</i> sp.	20	5,13 d
	40	5,22 b
	60	5,34 a
<i>Ganoderma</i> sp.	20	5,07 e
	40	5,16 c
	60	5,32 a

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama berarti tidak berbeda nyata menurut uji lanjut Duncan (DNMRT) pada taraf nyata 5%.

Hasil penelitian menunjukkan pH akhir medium fermentasi pada perlakuan dengan *Ganoderma* sp. lebih rendah dibandingkan dengan tanpa *Ganoderma* sp. Hal ini mungkin disebabkan karena keberadaan *Ganoderma* sp. dalam medium fermentasi dapat menguraikan lignin dengan sempurna menjadi CO₂ yang akan menekan kenaikan pH medium fermentasi tersebut. Cowling *cit.* Crawford (1981) menyatakan bahwa pada kondisi lingkungan yang tepat jamur pelapuk putih (*white rot*) Basidiomycota dengan sempurna dapat menguraikan semua komponen lignin dengan membentuk CO₂ dan H₂O.

Secara umum hasil penelitian memperlihatkan terjadinya kenaikan pH medium fermentasi pada akhir inkubasi dari pH awal. Kondisi ini mungkin disebabkan akibat metabolisme nitrogen jamur dari yeast ekstrak sehingga terjadi akumulasi produk alkali karena konsentrasi nitrogen yang tinggi dalam medium.

KESIMPULAN

Pada penelitian ini dapat diambil kesimpulan bahwa kurva pertumbuhan *Ganoderma* sp fase lag terjadi pada hari ke-0 sampai 1, fase log pada hari ke-2 sampai 10, sedangkan idiofase pada hari ke-11 dan dilanjutkan dengan fase stasioner. Fase kematian terjadi setelah hari ke-12. Pemberian *Ganoderma* sp pada lindi hitam sangat berpengaruh pada degradasi lignin dan perubahan pH akhir medium fermentasi. Degradasi lignin tertinggi pada perlakuan *Ganoderma* sp dengan konsentrasi lindi hitam 20%, yaitu 65,42% dan terendah pada perlakuan tanpa *Ganoderma* sp dengan konsentrasi lindi hitam 60%, yaitu 4,41%. pH akhir medium fermentasi tertinggi pada perlakuan tanpa *Ganoderma* sp dengan konsentrasi lindi hitam 60%, yaitu 5,34 dan terendah pada perlakuan dengan *Ganoderma* sp dengan konsentrasi lindi hitam 20% yaitu 5,07.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexopoulos, C.J., C.W. Mims & M. Blackwell. 1996. *Introductory Mycology*. Jhon Wiley and Sons Inc. New York, Chischerster, Brisbane, Toronto, Singapore.
- American Public Health Association (APHA). 1995. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. APHA. Washington.
- Bocle, B., M.J. Martinez, F.Guillen and A.T.Martinez. 1998. Mechanism of peroxidase inactivation in liquid culture of the ligninolytic fungus *Pleurotus pulmonarius*. *Appl. and Env. Microbiol.* 65(3):923-928.
- Caldwell, D.R. 1995. *Microbial Physiology & Metabolism*. Wm. C. Brown Communications Inc. America.

- Crawford, R.L. 1981. *Lignin Biodegradation and Transformation*. Jhon Wiley and Sons Inc. New York.
- D'Souza, T.M., C.S. Merritt & C.A. Reddy. 1999. Lignin modifying enzymes of the white rot basidiomycetes *Ganoderma lucidum*. *Appl. and Env. Microbiol.* 65(12):5307-5313.
- Fengel, D. & G. Wegener. 1995. *Kayu*. Penerjemah Sastrohamidjojo, H. Gajahmada University Press. Yogyakarta.
- Gold, M. H. & M. Alic. 1993. Molecular biology of the lignin degrading basidiomycetes *Phanerochaete chrysosporium*. *Microbiol Review.* 57(3):605-622.
- Kirk. 1993. Lignin Degradation: Basic Research Progress and Application in Soil Remediation and Biopulping. Di dalam: Kennedy, J. F. & P. A. William (eds). *Cellulosic: Pulp, Fibre and Environmental Aspects*. Ellis Horwood. London.
- Martina, A. 1998. Optimasi beberapa faktor fisik yang mempengaruhi degradasi kayu Albasia (*Paraserianthes falcataria* (L) Nielsen) carboxymethylcellulose (CMC) dan indulin oleh enzim yang dihasilkan oleh *Phanerochaete chrysosporium* Burds. [Tesis]. Program Pascasarjana ITB. Bandung.
- Martina, A., & D. Zul. 2003. Aktivitas ligninolitik jamur Aphylloporales strain lokal penghasil Lignin Modifying Enzymes. [Laporan Penelitian]. Jurusan Biologi FMIPA UNRI. Pekanbaru.
- Martina, A. 2003. Aktivitas ligninolitik jamur Aphylloporales strain lokal dengan menggunakan Poly R-478. [Laporan Penelitian]. Jurusan Biologi FMIPA UNRI. Pekanbaru.
- Moat, A.G. & J.W. Foster. 1998. *Microbial Physiology*. Second edition. A. John Wiley & Sons Inc. New York.
- Sing & S.K. Raymoulik. 1992. Role of Biotechnology in the Pulp and Paper Industri. A Review Part I: Biopulping. *IPTTA*. 4(4):53-59.
- Steel, R.G.D. & J.H. Torrie. 1995. *Prinsip dan Prosedur Statistik Suatu Pendekatan Biometrik*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Tapia, J., R. Vicuna. 1995. Synthetic Lignin Mineralization by *Ceriporiopsis subvermispora* is inhibited by an increase in the pH of the Culture Resulting from Fungal Growth. *Appl. and Env. Microbiol.* 61(7):2476-2481.
- Zabel, R.A. and J.J. Morrel. 1992. *Wood Microbiology*. Academic Press. California