

Aktivitas Lakase Isolat Jamur *Auricularia* sp., *Trametes* sp., dan *Pholiota* sp. pada Pewarna Remazol Brilliant Blue R dengan Variasi pH

Agung Wiriati Putra Pratama Hadi¹, Ratna Stia Dewi¹, Ajeng Arum Sari²

¹Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman

²Pusat Penelitian Kimia, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI)

*email : agungwiriati44@gmail.com

Rekam Jejak Artikel:

Diterima : 28/08/2019

Disetujui : 05/03/2020

Abstract

Synthetic dyes Remazol Brilliant Blue R (RBBR) waste from the textile industries can cause environmental pollution due to the toxicous compound content and difficult to decompose . Isolate Auricularia sp., Trametes sp., and Pholiota sp. have enzymes that are able to decolorize the RBBR compound. Lignolytic enzyme activity such as laccase produced by fungi can oxidize textile dyes. Laccase enzyme activity is influenced by the type of fungus , pH, temperature, and incubation time. This research has a purpose to determine the activity of laccase enzymes from fungi Auricularia sp., Trametes sp., and Pholiota sp. in RBBR at different pH values, and to know isolates at optimum pH which have laccase enzyme activity in RBBR. The research method used a Completely Randomized Design (CRD). The independent variables observed were isolate type and pH conditions (4, 8, and 12), while the dependent variable was the ability of isolates to produce enzymes. The main parameter observed was laccase enzyme activity. Supporting parameters consist of the mycelium dry weight value. The results showed that the three isolates had laccase enzyme activity in RBBR with different pH. The highest activity was found in Trametes sp. in RBBR with pH 4 which is 101.9 U / mL. The lowest activity was found in Aricularia sp. in RBBR with pH 4 of 48.6 U / mL.

Keywords: Laccase enzyme, Fungus Remazol Brilliant Blue R.

Abstrak

Limbah dari industri tekstil berupa zat warna sintetik seperti *Remazol Brilliant Blue R* (RBBR) dapat menimbulkan pencemaran lingkungan akibat sifat zat warna RBBR yang toksik dan sulit terurai. Isolat *Auricularia* sp., *Trametes* sp., dan *Pholiota* sp. memiliki enzim yang mampu mendekolorisasi komponen pewarna RBBR. Aktivitas enzim lignolitik seperti lakase yang dimiliki jamur mampu mengoksidasi pewarna tekstil. Aktivitas enzim lakase dipengaruhi oleh jenis jamur yang digunakan, pH, suhu, dan waktu inkubasi. Penelitian bertujuan untuk mengetahui aktivitas enzim lakase dari isolat jamur *Auricularia* sp., *Trametes* sp., dan *Pholiota* sp. dalam pewarna RBBR pada nilai pH berbeda, serta mengetahui isolat pada pH optimum yang memiliki aktivitas enzim lakase dalam pewarna RBBR. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Variabel bebas yang diamati adalah jenis isolat dan kondisi pH (4, 8, dan 12), sedangkan variabel tergantungnya adalah kemampuan isolat dalam menghasilkan enzim. Parameter utama yang diamati adalah aktivitas enzim Lakase. Parameter pendukung terdiri atas nilai bobot kering miselium. Hasil menunjukkan ketiga isolat memiliki aktivitas enzim lakase dalam RBBR dengan pH berbeda. Aktivitas tertinggi terdapat pada *Trametes* sp. dalam RBBR dengan pH 4 yaitu sebesar 101,9 U/mL. Aktivitas terendah terdapat pada *Aricularia* sp. dalam RBBR dengan pH 4 sebesar 48,6 U/mL.

Kata kunci: Enzim lakase, Jamur, *Remazol Brilliant Blue R*.

PENDAHULUAN

Penggunaan pewarna sintetik pada produksi tekstil di Indonesia dapat menimbulkan pencemaran lingkungan (Muslimah & Kuswyatasi, 2013). Salah satu pewarna sintetik yang umum digunakan dalam industri tekstil adalah *Remazol Brilliant Blue R* (RBRR) (Legerska *et al.*, 2016). Zat warna ini digunakan karena dapat memberikan warna cerah dan tidak mudah luntur (Pelegrini *et al.*, 1999). Zat warna RBRR merupakan senyawa heterosiklis,

terdiri dari cincin benzene dengan gugus hidroksil yang disebut fenol (Murugesan *et al.*, 2007). Sisa pewarna sintetik seperti RBRR yang digunakan dalam industri tekstil menghasilkan air limbah pewarna yang sulit terurai sehingga menganggu lingkungan.

Pengolahan limbah pewarna dalam industri tekstil telah banyak dilakukan menggunakan metode fisika misalnya filtrasi membran, adsorbsi, pertukaran ion, dan ozonasi, maupun dengan metode kimia misalnya flokulasi-koagulasi, dan oksidasi

(Ngieng *et al.*, 2013). Metode ini memerlukan biaya yang mahal dan dapat menimbulkan limbah baru karena menggunakan bahan-bahan kimia dalam prosesnya (Turhan *et al.*, 2012). Pengolahan limbah yang aman dan murah bagi lingkungan salah satunya adalah dengan menggunakan metode biologi. Metode biologi yang efektif dalam mendekolorisasi pewarna yaitu menggunakan jamur (Jarosz *et al.*, 2002).

Jamur Pelapuk Putih (JPP) merupakan kelompok jamur penghasil enzim lignolitik ekstraseluler yang mampu digunakan untuk merombak berbagai macam senyawa hidrokarbon poliaromatik dan mendekolorisasi zat warna (Hakala, 2007). Jamur *Auricularia* sp., *Trametes* sp., dan *Pholiota* sp. merupakan jenis jamur Basidiomycota yang termasuk golongan Jamur Pelapuk Putih (JPP), hidup pada substrat kayu dan dapat mendegradasi komponen lignin pada kayu menjadi selulosa (Jarosz *et al.*, 2002; Mfombep *et al.*, 2013). *Auricularia* sp. memiliki tubuh buah menyerupai telinga, dan memiliki tekstur seperti jeli. *Trametes* sp. memiliki ciri tidak bertangkai, permukaan berbulu dan terlihat zonasi pertumbuhan. *Pholiota* sp. memiliki tubuh buah seperti payung, bertangkai dan permukaan basah dan licin berwarna cokelat (Cummins & Hiratsuka, 2001).

JPP menghasilkan enzim lignolitik salah satunya adalah lakase (Lac). Enzim ini bersifat non spesifik sehingga mampu bekerja pada spektrum luas sehingga dapat digunakan dalam dekolorisasi zat warna. Dekolorisasi zat warna oleh enzim lignolitik diawali dari oksidasi enzim lignolitik oleh oksigen dan selanjutnya enzim lignolitik dalam keadaan teroksidasi tersebut mengoksidasi zat warna tekstil (Yesilada *et al.*, 2006). Pewarna dapat terdegradasi oleh enzim ligninolitik, termasuk lakase. Dengan aktivitas Lakase dari JPP *Pleurotus ostreatus* sebesar 200,43 U/l, enzim lignolitik dapat digunakan untuk mendekolorisasi pewarna RBBR hingga 75,88% pada kondisi statis, dan sebesar 68,09% pada kondisi agitasi (Dewi *et al.*, 2019a).

Husna & Ummas (2017) menyatakan, dekolorisasi limbah tekstil menggunakan JPP dipengaruhi oleh jenis jamur yang digunakan serta kondisi lingkungan seperti pH, suhu, dan waktu inkubasi. Derajat keasaman sangat penting dalam mengatur metabolisme dan sistem-sistem enzim, bila terjadi penyimpangan pH yang ideal bagi pertumbuhan jamur maka proses metabolisme jamur dapat terhenti (Supriyanto, 2009). Sun *et al.* (2011) menyatakan bahwa enzim memiliki pH optimum yang khas, yaitu pH yang menyebabkan aktivitas maksimal. Setiap spesies jamur dapat ditemukan tumbuh pada kayu mati yang berbeda dan pada berbagai kondisi lingkungan yang beragam sebagai dekomposer (Sari *et al.*, 2015).

Sari & Dewi (2019), meneliti isolat jamur *Auricularia* sp., *Trametes* sp., dan *Pholiota* sp. yang diketahui merupakan agen biologi yang efektif

untuk mendekolorisasi pewarna RBBR. Pada penelitian tersebut belum dilakukan pengujian pH optimum dengan aktivitas enzim lignolitik tertinggi. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian aktivitas enzim lignolitik dengan variasi pH (4, 8, dan 12) yang dihasilkan ketiga jamur tersebut dalam mendekolorisasi pewarna RBBR.

Berdasarkan uraian latar belakang, maka permasalahan yang muncul adalah apakah isolat *Auricularia* sp., *Trametes* sp., dan *Pholiota* sp. memiliki aktivitas enzimatis pada zat warna RBBR dalam konsentrasi pH berbeda, isolat pada pH optimum manakah yang memiliki aktivitas enzim tertinggi dalam mendekolorisasi zat warna RBBR.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Pusat Penelitian Kimia LIPI, Serpong. Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni-Agustus 2019. Obyek yang diteliti adalah isolat *Auricularia* sp., *Trametes* sp., dan *Pholiota* sp.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah medium *Potato Dextrose Agar* (PDA) OXOID. medium *Malt Extract Broth* (MEB) OXOID, *crude enzyme*, larutan buffer NaH₂PO₄, *syringaldazin*, Pewarna *Remazol Brilliant Blue R* (RBBR), air destilasi, *alumunium foil*, *spiritus*, alkohol 70%, kapas.

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Variabel bebas yang diamati adalah jenis isolat dan kondisi pH (4, 8, dan 12), sedangkan variabel tergantungnya adalah kemampuan isolat dalam menghasilkan enzim. Parameter utama yang diamati adalah aktivitas enzim Lakase. Parameter pendukung terdiri atas nilai bobot kering miselium.

Pembuatan Medium Pertumbuhan dan Sterilisasi Alat (Wuryanti, 2008)

Pembuatan medium pertumbuhan dilakukan dengan melarutkan medium *malt ekstrak broth* instan dengan air destilasi. Larutan medium kemudian dihomogenkan dan dimasukan kedalam labu Erlenmeyer. Alat-alat gelas dan medium pertumbuhan (PDA dan MEB) disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C pada tekanan 2 atm selama 15 menit untuk medium dan 20 menit untuk alat.

Peremajaan Isolat *Auricularia* sp., *Trametes* sp., dan *Pholiota* sp. pada PDA

Isolat *Auricularia* sp., *Trametes* sp., dan *Pholiota* sp. dalam medium tabung miring dilakukan peremajaan pada medium PDA cawan. Isolat diambil sebanyak satu ose dan diletakan ditengah medium. Isolat diinkubasi selama 7 hari.

Kultivasi Isolat *Auricularia* sp., *Trametes* sp., dan *Pholiota* sp. pada MEB (Sari *et al.*, 2012)

Medium MEB disiapkan 90 mL pada labu Erlenmeyer. Sebanyak 6 plug dengan diameter sebesar 5 mm dari koloni miselium isolat jamur *Auricularia* sp., *Trametes* sp., dan *Pholiota* sp. diinokulasikan kedalam medium MEB. Medium yang telah diinokulasikan diinkubasi dengan kondisi agitasi pada shaker dengan kecepatan 100 rpm selama 7 hari.

Uji Aktivitas Enzimatis (Muslimah & Kusywitasari, 2013)

Isolat jamur yang telah diinkubasi pada medium MEB ditambahkan pewarna RBBR 1000 ppm sebanyak 10 ml sampai dengan konsentrasi 100 ppm. Kontrol dibuat dengan menambahkan 10 ml akuades tanpa RBBR. kemudian diatur kondisi pH 4, 8, dan 12 menggunakan NaOH 0,1 M dan HCl 0,1 M, kemudian diinkubasi dengan kondisi agitasi pada shaker orbital dengan kecepatan 100 rpm selama 24 jam. Larutan yang sudah diinkubasi diambil 1000 μ l sebagai crude enzim.

Uji Aktivitas Enzim Lakase (Lac) (Zavarzina *et al.*, 2006; Zahra, 2017)

Aktivitas enzim lakase diukur dengan mencampurkan shiringal arudajin 100 μ l, buffer sodium asetat 0,1 M 750 μ l, dan crude enzim 1000 μ l ke dalam kuvet kemudian ditunggu sampai 60 detik dan diukur absorbansinya menggunakan UV-vis spektrofotometri. Air destilasi digunakan sebagai blanko. Preparasi shiringal arudajin dan buffer

sodium asetat 0,1 M. Kemudian hasil absorbansi dimasukkan dalam rumus.

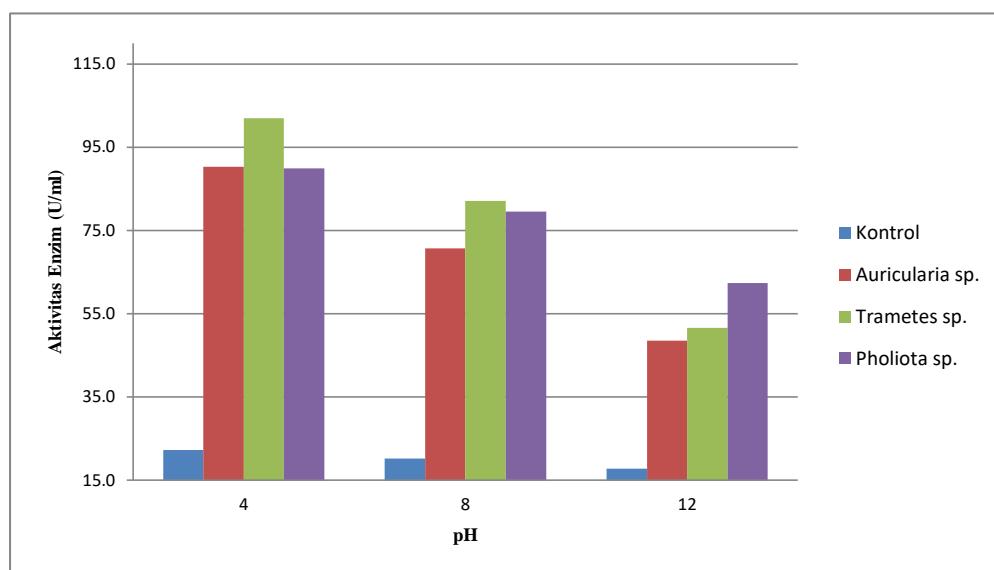
$$\text{Aktivitas enzim} = \frac{(A_{\text{Abs}}/6500) \times (V_{\text{campuran}}/10^6) \times 10^6 \times (60/t)}{(V_{\text{enzim}}/10^3)}$$

Pengukuran Bobot Kering Miselium Isolat *Auricularia* sp., *Trametes* sp., dan *Pholiota* sp. (Sulistyaningtyas & Suprihadi, 2017)

Miselium jamur disaring menggunakan kertas saring yang sudah ditimbang. Miselium dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 60°C hingga mencapai bobot konstan. Bobot kering miselium diperoleh dari selisih bobot kering miselium dalam kertas saring dengan berat kertas saring.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengukuran aktivitas enzimatik isolat jamur *Auricularia* sp., *Trametes* sp., dan *Pholiota* sp. dalam pewarna *Remazol Brilliant Blue R* (RBBR) dengan variasi pH menggunakan metode spektrofotometer. Aktivitas enzim lakase dapat diukur dengan mengamati oksidasi syringalarudajin menjadi quinone dalam larutan buffer sodium asetat 0,1 M dan crude enzim pada panjang gelombang 525 nm. Hasil pengukuran aktivitas enzimatik ketiga isolat tersebut disajikan dengan histogram pada Gambar 1.



Gambar 1. Histogram Aktivitas Enzimatik Isolat Jamur *Auricularia* sp., *Trametes* sp., dan *Pholiota* sp. dalam RBBR dengan Variasi pH.

Berdasarkan histogram pada Gambar 1. diketahui bahwa rata-rata aktivitas enzim isolat *Auricularia* sp. pada pH 4, 8, dan 12 berturut-turut adalah 90,3; 70,7; 48,6, isolat *Trametes* sp. pada pH 4, 8, dan 12 berturut-turut adalah 101,9; 82,1; 51,7. isolat *Pholiota* sp. pada pH 4, 8, dan 12 berturut-turut adalah 89,8; 79,1; 62,4, sedangkan untuk

kontrol pada pH 4, 8, dan 12 berturut-turut yaitu 22,3; 20,3, 17,7.

Hasil menunjukkan bahwa ada pengaruh yang signifikan terhadap aktivitas enzim pada perlakuan isolat jamur *Auricularia* sp., *Trametes* sp., dan *Pholiota* sp. dalam pewarna *Remazol Brilliant Blue R* (RBBR) dengan variasi pH. Perbedaan

antar perlakuan diperoleh menggunakan uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ). Data Uji BNJ disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji BNJ Aktivitas Enzim

Perlakuan	Rerata Aktivitas Enzim (U/mL)
K4	22,33 b
K8	20,27 ab
K12	17,74 a
A4R	90,34 f
A8R	70,69 d
A12R	48,56 c
T4R	101,91 g
T8R	82,06 e
T12R	51,65 c
P4R	89,84 f
P8R	79,57 e
P12R	72,39 d

Keterangan: angka yang diikuti notasi huruf yang sama tidak berbeda nyata terhadap aktivitas enzim

Berdasarkan Tabel 2, aktivitas enzim untuk isolat tertinggi dalam RBBR dengan variasi pH adalah T4R dengan nilai 101,9 U/mL, sedangkan aktivitas terendah adalah A12R dengan nilai 48,6 U/mL. Hasil tersebut membuktikan bahwa T4R merupakan perlakuan yang paling efektif untuk aktivitas enzim lakase jamur dalam RBBR. Hal ini sesuai dengan penelitian Nyanhongo *et al.* (2002) bahwa enzim lakase yang dihasilkan *Trametes* sp. memiliki aktivitas optimum pada pH 4 dan akan terhambat pada pH 3 dan diatas pH 5. Hal ini didukung pernyataan Madzak *et al.* (2005), bahwa aktivitas enzim lakase optimum pada pH 4 dan akan mengalami penurunan aktivitas pada pH lebih dari 4,5. Pada penelitian Yang *et al.* (2009), enzim lakase yang dihasilkan *Trametes* sp. mampu bekerja optimum pada pH 4,5 yang dibuktikan dengan peningkatan dekolorisasi zat warna RBBR. Persentase dekolorisasi yang awalnya 80%, setelah diatur pH menjadi 4 kemudian dekolorisasinya meningkat menjadi 85%.

Trametes sp. merupakan jamur yang sering digunakan dalam dekolorisasi zat warna. Jarosz *et al.* (2002) menyatakan bahwa *Trametes* sp. menghasilkan enzim-enzim lignolitik diantaranya adalah Lakase (Lac). Enzim lakase yang dihasilkan *Trametes* sp. dapat digunakan untuk mendekolorisasi berbagai zat warna dengan waktu yang lebih cepat dibanding jamur lainnya.

Pada kontrol maupun perlakuan pemberian RBBR menunjukkan bahwa aktivitas enzim cenderung optimum berada pada pH 4 dan mengalami penurunan seiring dengan peningkatan

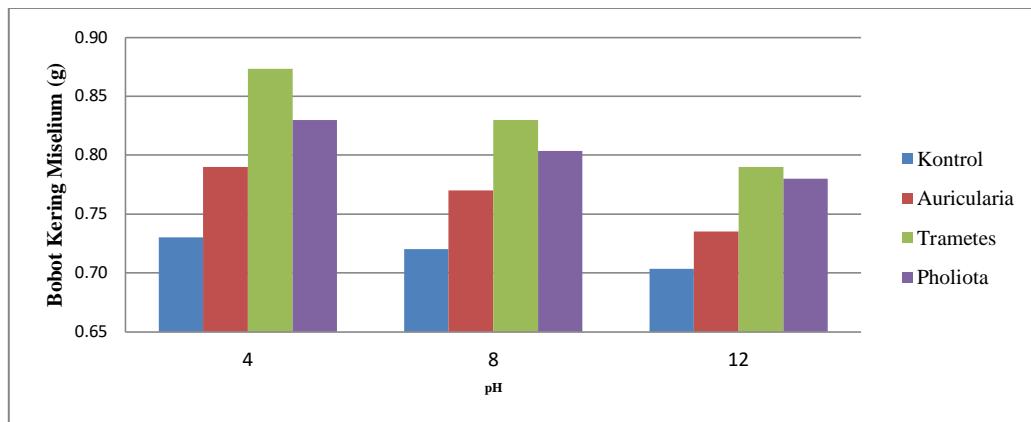
nilai pH. Hal ini sesuai dengan penelitian Asih (2016) bahwa aktivitas enzim lakase optimum pada pH 4. Hasil ini didukung pernyataan Dinatha (2013) bahwa enzim lignolitik akan bekerja optimum pada pH 3-4 dan terus menurun seiring dengan kenaikan nilai pH. Penelitian Dewi *et al.* (2019b) mendukung hasil penelitian ini yaitu pH optimal untuk dekolorisasi pewarna Indigosol Blue 04B yang sangat dipengaruhi aktivitas enzim lignolitik oleh fungi adalah pada kondisi asam.

Enzim dapat bekerja dengan baik pada pH yang sesuai. Menurut Poedjiadi (2012) penurunan aktivitas enzim pada pH tinggi dapat terjadi karena peningkatan konsentrasi OH⁻ kemudian menyebabkan aktivator terganggu dan mempengaruhi aktivitas katalitik sisi aktif enzim, sehingga enzim tidak dapat mendegradasi zat warna dengan sempurna. Kondisi pH yang terlalu rendah atau terlalu tinggi juga dapat menyebabkan denaturasi enzim dan mengakibatkan penurunan aktivitas enzim.

Enzim sangat rentan terhadap kondisi lingkungan. Perubahan pH lingkungan akan mengakibatkan aktivitas enzim mengalami perubahan. Setiap enzim yang mempunyai pH tertentu sehingga aktivitasnya mencapai keadaan optimum. Kondisi pH optimum akan mendukung enzim dalam melakukan katalisis suatu reaksi dengan baik, sedangkan kondisi lingkungan yang kurang sesuai mengakibatkan kerusakan atau tidak aktifnya protein dalam suatu enzim sehingga menyebabkan fungsi dan aktivitas dari enzim tersebut berkurang (Albar, 2009).

Pada kontrol tanpa penambahan RBBR menunjukkan aktivitas enzim lebih rendah dibandingkan perlakuan penambahan RBBR. Perbedaan aktivitas enzim lakase dengan dan tanpa adanya penambahan RBBR dikarenakan adanya induser. Menurut Nyanhongo *et al.* (2002) aktivitas enzim lakase dapat distimulasi dengan menambahkan induser. Diketahui bahwa induser paling efektif untuk meningkatkan aktivitas lakase adalah senyawa aromatik seperti asam, alkohol dan aldehid. Menurut Bertrand *et al.* (2013) lakase yang dihasilkan secara induktif memerlukan induser seperti senyawa aromatik atau senyawa yang memiliki struktur yang mirip dengan lignin. Murugesan *et al.* (2007) menyatakan bahwa RBBR memiliki kesamaan struktur dengan beberapa senyawa aromatik. Hal ini menjelaskan bahwa penambahan zat warna RBBR dapat meningkatkan aktivitas enzim lakase.

Miselium hasil perlakuan dan kontrol kemudian dikeringkan menggunakan oven dan ditimbang lalu dikurangi bobot kertas saring untuk memperoleh data bobot kering miselium. Data bobot miselium disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Bobot Kering Miselium Pada Pengukuran Aktivitas Enzim

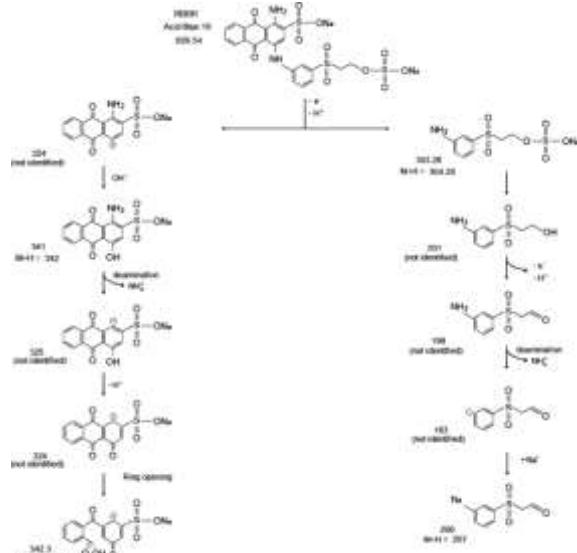
Berdasarkan data bobot miselium diketahui bahwa bobot tertinggi adalah T4R dan bobot terendah adalah A12R. Pada kontrol bobot miselium lebih rendah dibandingkan perlakuan. Bobot miselium perlakuan tiap isolat jamur maupun kontrol tertinggi pada pH 4 dan mengalami penurunan seiring dengan peningkatan nilai pH.

Aktivitas enzim tertinggi diketahui terdapat pada perlakuan T4R. Hal ini didukung oleh bobot kering miselium yang diperoleh T4R menunjukkan hasil terbesar. Perlakuan A12R yang memiliki aktivitas enzim terendah didukung oleh hasil bobot kering miselium A12R yang memiliki bobot terendah. Seluruh perlakuan menunjukkan hasil bobot kering miselium terbesar pada pH 4 dan terkecil pada pH 12. Perbedaan bobot kering miselium diakibatkan oleh perbedaan pertumbuhan jamur pada pH yang berbeda. Hal ini didukung dengan pernyataan Supriyanto (2009) bahwa pH berperan dalam metabolisme dan sistem kerja enzim, apabila kondisi pH tidak sesuai maka pertumbuhan jamur terhambat.

Hasil degradasi pewarna oleh enzim merupakan nutrisi bagi pertumbuhan jamur. Jamur mampu menggunakan zat warna sebagai sumber karbon yang menyebabkan zat warna berkurang (Amiruddin *et al.*, 2018). Pertumbuhan miselium jamur dapat mempengaruhi penyerapan zat warna, semakin luas permukaan miselium maka semakin efisien.

Proses degradasi RBBR oleh enzim lakase disajikan pada Gambar 3. Lakase akan memecah struktur RBBR menjadi dua sub produk dan merusak kromofor (Osma *et al.*, 2010). Menurut Hatakka (2001) reaksi pemecahan zat warna oleh lakase merupakan reaksi oksidasi.

Astina *et al.* (2017) menyatakan lakase mengkonversi senyawa fenol menjadi quinin radikal kemudian merubahnya menjadi quinon dengan bantuan oksigen. Lakase menggunakan oksigen sebagai elektron untuk menghapus proton dari gugus hidroksil fenolik. Reaksi ini menghasilkan radikal secara spontan kemudian dapat menyebabkan fisi ikatan C-C atau C-O rantai samping alkil atau pemutusan cincin aromatik.



Gambar 3. Mekanisme Pemecahan RBBR Menggunakan Enzim Lakase

SIMPULAN

Isolat jamur *Auricularia* sp., *Trametes* sp., dan *Pholiota* sp. memiliki aktivitas enzim lakase dalam pewarna RBBR pada nilai pH berbeda, dengan aktivitas 48,6 - 101,9 U/mL . Isolat *Trametes* sp dalam RBBR dengan pH 4 merupakan perlakuan dengan Aktivitas enzim lakase tertinggi.

DAFTAR REFERENSI

- Albar, Budiman, 2009. Pengaruh Konsentrasi Substrat, Lama Inkubasi dan pH dalam Proses Isolasi Enzim Xylanase dengan Menggunakan Media Jerami Padi. *Skripsi*. Teknik Kimia Universitas Diponegoro, Semarang.
- Amiruddin, A., Hasri, H. and Sudding, S., 2018. Biodegradasi Zat Warna Acid Orange 7 Menggunakan Enzim Jamur Tiram Putih (*Pleurotus Ostreatus*). *Jurnal Kimia Riset*, 3(1), pp. 47-51.
- Astina, D., Nugroho, T.T., Linggawati, A., 2017. Penentuan Aktivitas Enzim Laccase *Rhus Vernicifera* Menggunakan Guaiacol Sebagai Substrat. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, 5(2), pp. 55-62.
- Bertrand, B., Martínez-Morales, F. and Trejo-Hernandez, M.R., 2013. Fungal laccases: induction and production. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 12(3), pp. 473-488.
- Cummins, G.B. & Hiratsuka, Y., 2003. *Illustrated genera of rust fungi*. American Phytopathological Society: APS Press.
- Dewi, R.S., Ilyas, M. and Sari, A.A., 2019a. Ligninolitic Enzyme Immobilization from *Pleurotus ostreatus* for Dye and Batik Wastewater Decolorization. *Jurnal Pendidikan IPA Indonesia*, 8(2), pp.220-229.
- Dewi, R.S., Kasiamdari, R.S., Martani, E. and Purwestri, Y.A., 2019b. Optimization of the conditions for the decolorization of batik wastewater by *Aspergillus* sp. 3. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 2094, No. 1, p. 020036). AIP Publishing LLC..
- Dinatha, Ngurah Mahendra., James Sibarani., I. G. Mahardika. 2013. Degradasi Limbah Tekstil Menggunakan Jamur Lapuk Putih *Daedaleopsis eff. Confragosa*. *Jurnal Bumi Lestari*. 1(2), pp. 124–131
- Hakala, T., 2007. Characterization of lignin-modifying enzymes of the selective white-rot fungus *Physisporinus rivulosus*. *Thesis*. Finlandia: University of Helsinki
- Husna, N.R. & Ummas, H., 2017. Pengaruh pH terhadap Degradasi Pewarna Direct Blue menggunakan Jamur Pelapuk Kayu *Pleurotus flabellatus*. *Jurnal Kimia Riset*, 2(2), pp. 140-146.
- Jarosz-Wilkołazka, A., Kochmańska-Rdest, J., Malarczyk, E., Wardas, W. & Leonowicz, A., 2002. Fungi and their ability to decolourize azo and anthraquinonic dyes. *Enzyme and Microbial Technology*, 30(4), pp. 566-572.
- Madzak, C., Mimmi, M.C., Caminade, E., Brault, A., Baumberger, S., Briozzo, P., Mougin, C. and Jolivalt, C., 2005. Shifting the optimal pH of activity for a laccase from the fungus *Trametes versicolor* by structure-based mutagenesis. *Protein Engineering Design and Selection*, 19(2), pp.77-84.
- Mfombep, P.M., Senwo, Z.N. & Isikhuemhen, O.S., 2013. Enzymatic activities and kinetic properties of β -glucosidase from selected white rot fungi. *Advances in Biological Chemistry*, 3(02), pp. 198-203
- Murugesan, K., Nam, I.H., Kim, Y.M., Chang, Y.S., 2007. Decolorization of reactive dyes by a thermostable laccase produced by *Ganoderma lucidum* in solid state culture. *Enzyme and Microbial Technology*, 40(7), pp. 1662-1672.
- Muslimah, S. & Kuswytasari, N.D., 2013. Potensi Basidiomycota Koleksi Biologi ITS sebagai Agen Biodekolorisasi Zat Warna RBBR. *Jurnal sains dan senipomits*, 2(1), pp. 235-238.
- Ngieng, N.S., Zulkharnain, A., Roslan, H.A., Husaini, A., 2013. Decolourisation of Synthetic Dyes by Endophytic Fungal Flora isolated from Senduduk Plant (*Melastoma malabathricum*). *ISRN Biotechnology*, 3(7), pp. 1-7.
- Nyanhongo, G.S., Gomes, J., Gübitz, G., Zvauya, R., Read, J.S. and Steiner, W., 2002. Production of laccase by a newly isolated strain of *Trametes modesta*. *Bioresource Technology*, 84(3), pp. 259-263.
- Osma, J.F., Toca-Herrera, J.L. and Rodríguez-Couto, S., 2010. Transformation pathway of Remazol Brilliant Blue R by immobilised laccase. *Bioresource technology*, 101(22), pp. 8509-8514.
- Pelegrini, R., Peralta-Zamora, P., de Andrade, A.R., Reyes, J. and Duran, N., 1999. Electrochemically assisted photocatalytic degradation of reactive dyes. *Applied Catalysis B, Environmental*, 22(2), pp. 83-90.
- Poedjadi, Anna. 2012. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.

- Sari, A.A. & Dewi, R.S., 2019. The Study of Basidiomycota and Glomeromycota Biodiversity in Baturraden Botanical Garden, Indonesia. *Report Research*. Research Grant Programme, NEF.
- Sari, A.A., Tachibana, S., & Muryanto., 2012. Correlation of Ligninolytic Enzymes from the Newly-Found Species *Trametes versicolor* U97 with RBBR Decolorization and DDT Degradation. *Water Air Soil Pollution*, 223, pp. 5781-5792.
- Sulistyaningtyas, A.R. & Suprihadi, A., 2017. Produksi Miselium Jamur Ling Zhi (*Ganoderma lucidum*) dalam Medium Air Kelapa Tua dan Tauge Extract Broth dengan Metode Kultur Terendam Teragitasi. *Bioma*, 19(1), pp.58-81.
- Sun, F.H., Li, J., Yuan, Y.X., Yan, Z.Y., Liu, X.F., 2011. Effect of biological pretreatment with *Trametes hirsuta* yj9 on enzymatic hydrolysis of corn stover. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 65(7), pp.931-938.
- Supriyanto, A.G.U.S., 2009. Manfaat Jamur Pelapuk Putih *Phanerochaete Chrysosporium* L1 Dan *Pleurotus* sp. Eb9 Untuk Biobleaching Pulp Kardus Bekas. *Skripsi*, Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Turhan, K., Durukan, I., Ozturkcan, S.A., & Turgut, Z., 2012. Decolorization of Textile Basic Dye in Aqueous Solution by Ozone. *Dyes Pigments*, 92(3), pp.897-901.
- Wuryanti, W., Pengaruh Penambahan Biotin Pada Media Pertumbuhan Terhadap Produksi Sel *Aspergillus niger*. *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*, 10(2), pp.46-50.
- Yang, X.Q., Zhao, X.X., Liu, C.Y., Zheng, Y. and Qian, S.J., 2009. Decolorization of azo, triphenylmethane and anthraquinone dyes by a newly isolated *Trametes* sp. SQ01 and its laccase. *Process Biochemistry*, 44(10), pp. 1185-1189.
- Yesilada, S.K., Pekin, G., Bermek, H., Arslan-Alaton, I., Orhon, D., Tamerler, C., 2006. Bioremediation of textile azo dyes by *Trichophyton rubrum* LSK-27. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22(10), pp.1027-1031.
- Zahra. 2017. Studi Dekolorisasi Lindi Hitam dengan Teknik Ramah Lingkungan Menggunakan Jamur *Trametes versicolor* F200 dan Isolat Enzimnya yang Diimobilisasikan pada Natrium Alginat. *Thesis*. Depok: Universitas Indonesia.
- Zavarzina, A.G., & Zavarzin, A.A., 2006. Laccase and Tyrosinase Activities in Lichens. *Microbiology*, 75(5), pp.546-552