

## Biodegradasi Limbah Lindi Hitam, *Acid Orangedan Acid Red* Menggunakan Jamur *Trametes Versicolor* F200

Rismi Seftiani Jaitun <sup>1\*</sup>, Nuraeni Ekowati <sup>1</sup>, Ajeng Arum Sari <sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman

<sup>2</sup>Pusat Penelitian Kimia, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia

\*Email: [Rismis3@gmail.com](mailto:Rismis3@gmail.com)

### Rekam Jejak Artikel:

Diterima : 28/08/2019

Disetujui : 03/12/2019

### Abstract

Black liquor and azo dyes (*Acid orange* and *acid red*) are hazardous waste that can contaminate ecosystem if not treated before the waste are discharged into the ecosystem. Physical and chemical proces of these waste has a few disadvantages due to the high energy inputs, expensive cost, limited application and producing toxic byproducts. *Trametes versicolor* used as a biodegradation agent because it can produces ligninolytic enzyme such as Laccase (Lac), manganese Peroxidase (MnP) and Lignin Peroxidase (LiP). The aim of this study was to determine the percentage of decolorization and enzyme activity of Lac, MnP and LiP in black liquor, *acid orange* and *acid red*. The results showed decolorization occurs 50% in black liquor, 90% in *acid orange* and *acid red*. While the enzyme activity of Lac, MnP and LiP in black liquor were 143,59 U/L (6 days), 33,3 U/L (6 days) dan 1167,42 U; in *acid orange* were 520,513 (U/L) (0 days), 138 U/L (0 days) and 358 U/L (0 days); and in *acid red* were 408,3 U/L (0 days), 77 U/L (0 days) and 228,871 U/L (6 days).

**Key words :** *Biodegradation, black liquor, Trametes versicolor F200, acid orange and acid red*

### Abstrak

Limbah lindi hitam dan zat warna azo (*acid orangedan acid red*) merupakan limbah berbahaya yang dapat mengkontaminasi ekosistem, sehingga perlu dilakukan pengolahan sebelum limbah dibuang ke ekosistem. Pengolahan secara fisik maupun kimiawi memiliki kelemahan diantaranya membutuhkan input energi tinggi, biaya yang mahal, penerapan yang terbatas dan menghasilkan produk lain yang bersifat toksik. *Trametes versicolor* dapat dijadikan sebagai agen biodegradasi, sebab menghasilkan anzim ligninolitik seperti Lakase (Lac), Manganese peroksidase (MnP) dan Lignin peroksidase (LiP). Jamur *T. versicolor* F200 mampu mendekolorisasi hingga 50% pada limbah lindi hitam; 90% pada *Acid orange*; dan 90% pada *Acid red*. Aktivitas enzim Lac, MnP dan LiP terbaik masing-masing yaitu 143,59 U/L (6 hari inkubasi), 33,3 U/L (6 hari inkubasi) dan 1167,42 U/L (awal inkubasi) pada limbah lindi hitam; 520,513 U/L (awal inkubasi), 138 U/L (awal inkubasi) dan 358 U/L (awal inkubasi) pada *acid orange*; dan 408,3 U/L (awal inkubasi), 77 U/L (awal inkubasi) dan 228,871 U/L (akhir inkubasi).

**Kata kunci :** *Biodegradasi, Limbah lindi hitam, Trametes versicolor F200 dan acid orange dan acid red*

### PENDAHULUAN

Limbah lindi hitam dan zat warna azo adalah bahan yang berpotensi menjadi bahan pencemar apabila tidak dilakukan pengolahan sebelum dibuang ke lingkungan. Limbah lindi hitam merupakan air limbah yang dihasilkan selama proses *pretreatment* Bioethanol Generasi kedua (G2) (Sari *et al.*, 2015). Limbah lindi hitam berbahaya untuk lingkungan karena warna coklat kehitaman yang merupakan karakter dari limbah lindi hitam dapat menghalangi cahaya matahari masuk ke ekosistem perairan dan mengganggu proses fotosintesis. Limbah lindi hitam mengandung lignin yang sulit untuk terdegradasi (Da- Re dan Papinutti, 2011). Zat warna azo merupakan senyawa xenobiotik yang mudah dimodifikasi, mudah disintesis namun bersifat rekalsitran. Zat warna azo dan produk biotransformasinya bersifat toksik hingga karsinogenik. Zat warna azo terdapat dalam

limbah tekstil dengan kisaran 60-70% (Zollinger, 1987).

Penanganan limbah lindi hitam dan limbah zat warna dapat dilakukan dengan menggunakan metode oksidasi kimia, *reverse osmosis* dan adsorpsi. Metodetersebut efisien dalam menangani limbah namun membutuhkan input energi yang tinggi, biaya yang mahal, penerapan yang terbatas dan biasanya menghasilkan produk lain yang bersifat toksik (Sari *et al.*, 2015).

Jamur pelapuk putih (JPP) dapat digunakan sebagai agen biodegradasi dalam berbagai tingkat kontaminasi sebagai alternatif pengolahan limbah yang ramah lingkungan. JPP dapat mendekontaminasi polutan tunggal maupun campuran karena menghasilkan enzim ekstraselular oksidatif, seperti lakase dan peroksidase yang dapat menginisiasi degradasi senyawa polimer aromatik kompleks (Santi *et al.*, 2007). Enzim tersebut

memiliki mekanisme oksidasi yang tidak spesifik, sehingga dapat digunakan dalam mendegradasi lignin serta berbagai jenis polutan. Degradasi limbah menggunakan JPP merupakan metode yang efisien, tidak membutuhkan biaya yang tinggi, konsumsi energi yang lebih rendah dan penerapannya luas (Isroi *et al.*, 2011).

Spesies jamur pelapuk putih yang dapat digunakan sebagai agen bioremediasi di antaranya *Phanerochaete chrysosporium*, *Ph. sordida*, *Pleurotus ostreatus*, *Phellinus weirii* dan *Trametes versicolor*. Jamur tersebut dapat menguraikan sejumlah senyawa xenobiotik seperti hidrokarbon aromatik (Benzo  $\alpha$ -piren, penatren dan piren), senyawa organoklorin (Insektisida alkil halida, kloroanilin, DDT, pentaklorofenol, triklorofenol, poliklorinasi bifenil dan asam asetat triklorofenol), nitrogen aromatik (2,4-dinitrotoluena dan 2,4,6-trinitrotoluena (TNT)) dan beberapa zat warna seperti *basic blue 22*, *bromophenol blue*, *brilliant green* dan *methyl red* (Radhika *et al.*, 2014). *T. versicolor* dapat menjadi agen biodegradasi berbagai polutan dengan kemampuan produksi enzim ligninolitik terutama MnP dan Lakase dalam jumlah yang besar (Iqbal *et al.*, 2011).

Biodegradasi limbah lindi hitam, *Acid orange* dan *Acid red* dapat diketahui salah satunya melalui proses dekolorisasi. Aktivitas enzim ligninolitik (Lignin peroksidase, Manganese peroksidase dan Lakase) dapat diukur untuk mengetahui enzim yang berperan dalam proses degradasi limbah. Tujuan dari penelitian adalah mengetahui persentase dekolorisasi limbah lindi hitam, *acid orange* dan *acid red* oleh jamur *T. versicolor* F200 dan mengetahui aktivitas enzim Lac, MnP dan LiP pada limbah lindi hitam, *acid orange* dan *acid red* oleh jamur *T. versicolor* F200.

## MATERI DAN METODE

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah peralatan gelas, autoklaf, *laminar air flow* (LAF) pH meter, inkubator, kertas saring, *centrifuge*, timbangan analitik, desikator, oven, *stirrer*, autoklaf dan spektrofotometer UV-Vis (Optizen 2120 UV).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah lindi hitam yang dihasilkan dari proses *pretreatment* bioetanol di P2 Kimia LIPI, zat warna azo (*Acid orange* dan *Acid red*), jamur *T. versicolor* F200 dari InaCC Pusat Penelitian Biologi LIPI, dan bahan kimia yang diperoleh dari Wako Japan, seperti: glukosa,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{MnCl}_2$ ,  $\text{Na}_2\text{MoO}_4$ ,  $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{ZnCl}_2$ , tiamin hidroklorida,  $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{MnSO}_4$ , polisorbit 80 (*Tween 80*), 2,6-dimetilfenol (2,6-DMP), buffer LiP, buffer  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , akuades, hidrogen peroksida, buffer malonat, HCl, NaOH,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ,  $\text{HgSO}_4$ ,  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$ , Kalium Hidrogen Ftalat ( $\text{HOOC}_6\text{H}_4\text{COOK}$ ) dan  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

## Dekolorisasi Limbah

Prosedur pertama adalah membuat kultur jamur *T. versicolor* dalam media PDA. Kultur diinkubasi 7 hari hingga tumbuh miselium. Sebanyak 3 plug jamur *T. versicolor* diambil dari stok inokulum pada medium PDA, diinokulasikan ke dalam medium AG cair dalam erlenmeyer dan diinkubasi selama 10 hari pada suhu 28°C. Setelah inkubasi, kultur jamur ditambahkan limbah sehingga konsentrasi total larutan adalah 70.000 ppm untuk limbah lindi hitam, dan 400 ppm untuk *acid orange* dan *acid red* dengan volume akhir larutan 200 mL. Kultur diinkubasi selama 6 hari pada suhu 28 °C. Konsentrasi limbah sebelum dan setelah dekolorisasi diukur dengan menggunakan spektrofotometer uv-vis pada panjang gelombang 406 nm untuk lindi hitam, 491 nm untuk *acid orange* dan 485 nm untuk *acid red*. Dekolorisasi dihitung dengan menggunakan persamaan dibawah ini.

Persamaan Dekolorisasi :

$$\text{Dekolorisasi} = \frac{C_o - C_i}{C_o} \times 100\%$$

Keterangan:

$C_o$  : Konsentrasi awal (ppm)  
 $C_i$  : Konsentrasi akhir (ppm)

## Pengukuran Aktivitas Enzim

Aktivitas *Manganese peroxidase* (MnP) ditentukan dengan mengamati reaksi oksidasi 120  $\mu\text{l}$  2,6-DMP 20 mM pada panjang gelombang 470 nm dalam 1750  $\mu\text{l}$  buffer malonat (pH 4,5) 50 mM yang mengandung 125  $\mu\text{l}$   $\text{MnSO}_4$  20 mM di dalam 300  $\mu\text{l}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  2 mM (Takano *et al.*, 2004). Aktivitas *Lignin peroxidase* (LiP) ditentukan dengan mengamati pembentukan 300  $\mu\text{l}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  2 mM dan 2000  $\mu\text{l}$  buffer LiP pada panjang gelombang 310 nm (Collins *et al.*, 1997). Aktivitas *Laccase* ditentukan dengan mengamati oksidasi 100  $\mu\text{l}$  *syringaldazine* menjadi *quinone* di dalam buffer 750  $\mu\text{l}$   $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  0,1 M pada panjang gelombang 525 nm (Zavarzina *et al.*, 2006). Reaksi dilakukan pada suhu 20°C dan diukur aktivitas enzim setelah satu menit. Semua aktivitas enzim diukur dalam satuan U/I, yang menunjukkan jumlah enzim yang dibutuhkan untuk mengoksidasi 1  $\mu\text{mol}$  substrat selama 1 menit. Aktivitas dihitung dengan formula :

Persamaan aktivitas enzim :

$$\frac{(\text{absorbansi}/\epsilon) \times (\text{volume total}/106) \times 106 \times (60/\text{waktu})}{(\text{volume crude enzyme}/103)}$$

Keterangan:

$\epsilon$  = 6.500 (Lac); 49.000 (MnP); dan 9.300 (LiP)  
 v. total = 1.750 (Lac); 3.300 (MnP); dan 3.300 (LiP)  
 v. *crude enzyme* = 900 (Lac); 1.000 (MnP); dan 1.000 (LiP).

Pengukuran *Chemical Oxygen Demand* (COD) dengan Refluks Tertutup secara Spektrofotometri. Prinsip metode ini adalah senyawa organik dan anorganik, terutama organik dalam contoh uji dioksidasi oleh  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  dalam refluks tertutup menghasilkan  $\text{Cr}^{3+}$ . Jumlah oksidan yang dibutuhkan dinyatakan dalam ekuivalen oksigen ( $\text{O}_2$  mg/L) yang diukur secara spektrofotometri sinar tampak.  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  mengabsorpsi secara kuat pada panjang gelombang 420 nm dan  $\text{Cr}^{3+}$  mengabsorpsi pada panjang gelombang 600 nm. Nilai COD 100 mg/L sampai dengan 900 mg/L nilai kenaikan  $\text{Cr}^{3+}$  ditentukan pada panjang gelombang 600 nm. Contoh uji yang memiliki nilai lebih tinggi dilakukan pengenceran terlebih dahulu sebelum pengujian. Sedangkan nilai COD kurang dari 90 mg/L, penurunan konsentrasi  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  ditentukan pada panjang gelombang 420 nm.

Uji COD dilakukan dengan memasukkan sampel sebanyak 2,5 mL ke dalam *digestion vessel*, ditambah dengan 1,5 mL *digestion solution* kisaran konsentrasi tinggi dan 3,5 mL pereaksi sulfat. *Digestion vessel* ditutup rapat, dikocok sampai homogen. Selanjutnya tabung beserta isinya dimasukkan ke dalam COD reaktor, yang dioperasikan pada suhu  $150^\circ\text{C}$  selama 120 menit. Larutan yang telah dingin diukur dengan spektrofotometer. Hasil spektrofotometri kemudian digunakan untuk mengetahui konsentrasi COD melalui kurva kalibrasi larutan baku Kalium Hidrogen Ftalat ( $\text{HOOC}_6\text{H}_4\text{COOK}$ ) (SNI 6989.2 2009.).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

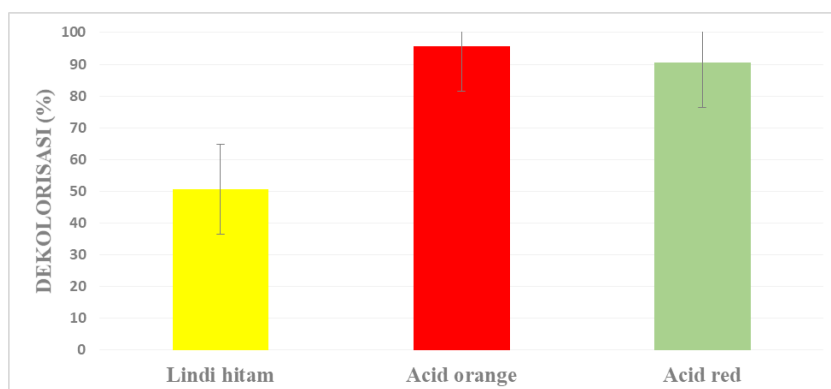
Biodegradasi limbah oleh jamur *T. versicolor* F200 dilakukan dengan menambahkan limbah lindi hitam 70.000 ppm, *Acid orange* 400 ppm dan *Acid red* 400 ppm pada kultur *T. versicolor* F200. Inkubasi dilakukan selama 6 hari untuk mengamati perubahan intensitas warna dan konsentrasi limbah yang merupakan indikasi bahwa jamur *T. versicolor* F200 dapat menjadi agen biodegradasi. Aktivitas enzim ligninolitik yang diukur dalam penelitian ini; yaitu LiP, MnP dan Lac dapat menjadi petunjuk

bahwa proses dekolorisasi juga berkaitan dengan proses degradasi enzimatik yang terjadi pada limbah. Tabel 1. menunjukkan konsentrasi limbah sebelum dan sesudah perlakuan dengan menggunakan jamur *T. versicolor* F200.

**Tabel 1.** Konsentrasi Awal dan Akhir Limbah Lindi Hitam, *Acid orange* dan *Acid red*

Jenis limbah	Konsentrasi awal (ppm)	Konsentrasi akhir (ppm)
Limbah lindi hitam	70.626	34.806
<i>Acid orange</i>	460	17
<i>Acid red</i>	421	36

Berdasarkan Tabel 1. dapat diketahui bahwa terjadi penurunan konsentrasi limbah pada akhir waktu inkubasi. Terjadinya penurunan konsentrasi limbah menunjukkan bahwa jamur *T. versicolor* F200 memanfaatkan kandungan dalam limbah sebagai nutrisi untuk pertumbuhannya. Sari *et al.*, (2015) menyatakan bahwa lindi hitam memiliki kandungan 40% senyawa organik (lemak, resin dan polisakarida), 25% lignin, 7,5% hemiselulosa, 7,5% asam organik dan 20% senyawa anorganik. Adapun kandungan lindi hitam yang dapat dimanfaatkan oleh JPP sebagai sumber karbon adalah polisakarida serta hemiselulosa yang masih terdapat dalam limbah. Sedangkan penggunaan lignin sebagai satu-satunya sumber karbon oleh jamur belum dapat dikonfirmasi (Leonowicz *et al.*, 1999). JPP memecah lignin agar mendapat akses terhadap selulosa dan hemiselulosa yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber karbon. Penurunan konsentrasi zat warna *acid orange* dan *acid red* juga terjadi yang menunjukkan bahwa *T. versicolor* F200 juga dapat mendegradasi zat warna. JPP dapat memanfaatkan hasil degradasi zat warna untuk pertumbuhannya. Gambar 1. menunjukkan hasil dekolorisasi dari limbah oleh jamur *T. versicolor* F200. Tingginya nilai persentase dekolorisasi oleh jamur *T. versicolor*



**Gambar 1.** Dekolorisasi Limbah oleh Jamur *T.versicolor* F200

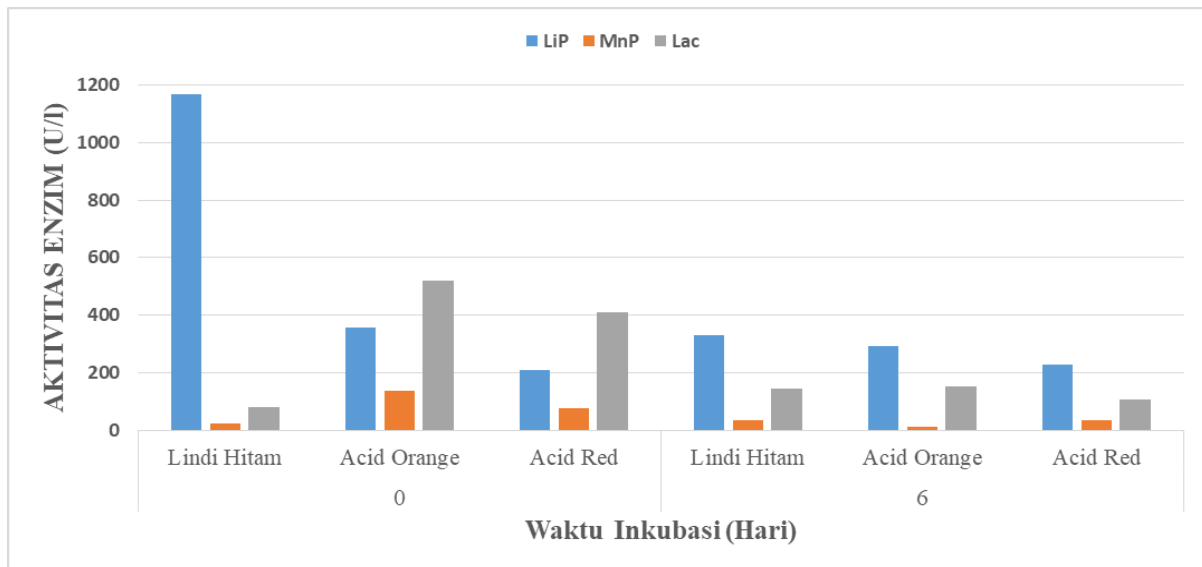
berbeda pada setiap limbah. Hal tersebut dapat terjadi karena perbedaan konsentrasi awal limbah. Limbah lindi hitam yang digunakan dalam penelitian memiliki konsentrasi awal 70.000 ppm, sedangkan zat warna *acid orange* dan *acid red* memiliki konsentrasi awal 400 ppm. Komposisi dan struktur kimia juga mempengaruhi kecepatan dekolorisasi. Zat warna *acid orange* dan *acid red* yang memiliki konsentrasi sama juga mengalami dekolorisasi yang berbeda akibat perbedaan struktur kimia. Limbah lindi hitam yang sebagian besar tersusun dari lignin serta derivatnya mengalami dekolorisasi yang lebih lambat dibandingkan zat warna *acid red* dan *acid orange*. Hal ini karena lignin merupakan komponen yang sulit terdegradasi akibat kompleksitas komponen penyusunnya (p-koumaril alkohol, koniferil alkohol dan sinapil alkohol) (Singh, 2006).

Dekolorisasi limbah lindi hitam dan zat warna (*acid orange* dan *acid red*) oleh JPP dapat melalui dua mekanisme yaitu adsorpsi dan degradasi (Setiadi, 2002). Proses degradasi melibatkan enzim-enzim yang dihasilkan oleh JPP seperti peroksidase dan oksigenase, untuk memecah molekul kompleks menjadi molekul sederhana yang dapat dimanfaatkan oleh JPP (Setiadi, 2002). Proses adsorpsi merupakan penyerapan limbah dan zat warna oleh miselium jamur. Jamur memiliki dinding sel yang tersusun atas matriks ekstraseluler yang diantaranya tersusun atas protein, polisakarida dan kitin yang dapat berperan sebagai adsorben. Dinding sel jamur juga memiliki kemampuan untuk mengeluarkan gel yang berfungsi sebagai perekat yang dapat menyerap zat warna atau limbah yang terdapat pada medium (Wulandari *et al.*, 2014). Terjadinya proses adsorpsi dapat ditunjukkan

dengan perubahan warna pada miselium (Wulandari *et al.*, 2014). Amriani *et al.*, (2017) dalam penelitiannya dengan menggunakan miselium *T. versicolor* U80 yang telah disterilisasi menunjukkan bahwa miselium jamur memiliki kemampuan menyerap limbah lindi hitam dan mendekolorisasinya hingga 25,1% setelah inkubasi selama 15 hari. Daya absorpsi limbah dan zat warna dipengaruhi oleh lama waktu inkubasi, semakin lama kontak terjadi antara sorben dan limbah, maka penyerapan limbah oleh sorben semakin besar (Purnama dan setiati, 2004). Benito *et al.* (1997) dalam penelitiannya menunjukkan bahwa proses dekolorisasi limbah dari fermentasi alkohol oleh jamur *T. versicolor* 5-10 % dilakukan melalui proses adsorpsi, sedangkan 90% dekolorisasi limbah dilakukan melalui proses degradasi enzimatik. Sedangkan proses degradasi dapat diketahui melalui aktivitas enzim ligninolitik jamur *T. versicolor* F200. Gambar 2. menyajikan aktivitas enzim LiP, MnP dan Lac pada awal waktu inkubasi dan akhir waktu inkubasi.

Berdasarkan Gambar 2. dapat diketahui bahwa pada awal waktu inkubasi limbah lindi hitam, enzim yang memiliki aktivitas paling baik adalah LiP. Sedangkan pada akhir waktu inkubasi, LiP mengalami penurunan sedangkan MnP dan Lac mengalami kenaikan. Sedangkan pada zat warna *acid orange* dan *acid red*, enzim yang memiliki aktivitas paling baik pada awal inkubasi adalah Lac, sedangkan pada akhir waktu inkubasi adalah LiP. Aktivitas MnP baik pada awal maupun akhir inkubasi pada semua limbah memiliki aktivitas yang relatif rendah.

Perbedaan aktivitas enzim pada tiap proses degradasi menunjukkan bahwa enzim-enzim tersebut bekerja pada waktu tertentu sesuai dengan



Gambar 2. Aktivitas enzim ligninolitik Jamur *T. versicolor* F200

kondisi substrat. Tingginya aktivitas LiP dalam degradasi limbah lindi hitam pada awal inkubasi dapat terjadi akibat spesifitas enzim LiP yang luas, yang sangat dibutuhkan dalam mendegradasi lignin. Enzim LiP dapat mendegradasi baik senyawa fenolik maupun senyawa non-fenolik y terdapat dalam limbah, mengingat limbah lindi hitam merupakan limbah yang disusun oleh berbagai komponen diantaranya; polisakarida, lignin, resin, hemiselulosa, asam organik dan asam anorganik (Sari *et al.*, 2015).

Begitu pula pada akhir waktu inkubasi zat warna *acid orange* dan *acid red*, yang memungkinkan lebih beragamnya substrat yang tersedia akibat pemecahan awal oleh enzim Lac. Enzim Lac merupakan enzim yang bekerja dalam mengoksidasi senyawa fenolik. Oleh karena itu, Lac memiliki aktivitas yang tinggi pada awal inkubasi zat warna *acid orange* dan *acid red* yang merupakan senyawa fenolik. Enzim MnP memiliki aktivitas yang paling rendah dalam mendegradasi limbah. Hal ini dapat terjadi karena beberapa hal; 1) Enzim MnP hanya mampu mendegradasi senyawa fenolik; 2) Enzim MnP produksi dan aktivitasnya sangat bergantung pada penambahan  $Mn^{2+}$  ke dalam kultur (Janusz *et al.*, 2013); dan 3) Terjadi kemungkinan bahwa kondisi kultur lebih mendukung enzim LiP bekerja dengan lebih optimum apabila dibandingkan dengan enzim MnP. Singh (2006) menyatakan bahwa enzim LiP merupakan enzim yang aktivitasnya bergantung pada  $H_2O_2$ , sedangkan enzim MnP dalam kondisi  $H_2O_2$  tinggi aktivitasnya dapat dihambat.

## SIMPULAN

Jamur *T. versicolor* F200 mampu mendekolorisasi hingga 50% pada limbah lindi hitam; 90% pada *Acid orange*; dan 90% pada *Acid red* dan Aktivitas enzim Lac, MnP dan LiP terbaik masing-masing yaitu 143,59 U/L (6 hari inkubasi), 33,3 U/L (6 hari inkubasi) dan 1167,42 U/L (awal inkubasi) pada limbah lindi hitam; 520,513 U/L (awal inkubasi), 138 U/L (awal inkubasi dan 358 U/L (awal inkubasi) pada *acid orange*; dan 408,3 U/L (awal inkubasi), 77 U/L (awal inkubasi) dan 228,871 U/L (akhir inkubasi).

## DAFTAR REFERENSI

Amriani, F., Sari, A.A.A. F. Irni., Haznan, A. and Tachibana, S. 2017. Evaluation Of Lignin-Based Black Liquor Decolorization by *Trametes versicolor* U 80. *International Symposium on Applied Chemistry (ISAC)* 2016.

Benito, G.G., Miranda, P and Santos, D.R. 1997. Decolorization Of Wastewater From An Alcoholic Fermentation Process with *Trametes versicolor*. *Bioresource technology*. (61), pp. 33-37

Chauhan, R., 2016. Optimization of Physical Parameters For The Growth of A White-Rot Fungus *Trametes versicolor*. *International Journal of information research and review*, XI(3), pp. 3125-3128.

Collins, P., Field, J.A., Teunissen, P. and Dobson, A.D.W., 1997. Stabilization of Lignin Peroxidase In White-Rot Fungi by Tryptophan. *Applied and Environmental Microbiology*, VII(63), pp. 406-415.

Da-Re, V. and Papinutti, L., 2011. Black Liquor Decolorization by Selected White Rot Fungi. *appl biochem biotechnol*, 165, pp. 406-415.

Iqbal, H. M., Ahmed, I., Zia, M. and Irfan, M., 2011. Purification And Characterization of The Kinetic Parameters of Cellulose Produced From Wheat Straw by *Tricoderma Viride* Under SSF and Its Detergent Compatibility. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, III(2), pp. 149-156.

Isroi., Ria, M., Siti, S., Claes, N., and Muhammad, N., 2011. Biological Pretreatment Of Lignocelluloses With White Rot Fungus And Its Application: A review. *Bioresources*, IV(6), pp. 5224-5259.

Janusz, G., Kucharzyk, K.H., Pawlik, A. Staszczak, M. and Paszczynski, A.J. 2013. Fungal Laccase, Manganese peroxidase and lignin peroxidase: Gene expression and Regulation. *Enzyme and Micronial Technology*. 52, pp. 1-12

Leonowicz, A., Matuszewska, A., Luterek, J., Ziegenhagen, D., Wojtas-Wasilewska, M., Cho, N.S., Hofrichter, M and Rogalski, J. 1999. Biodegradation of Lignin by White Rot Fungi. *Fungal Genetics and Biology*. (27), pp. 175-185

Radhika, R., G. R. Jebapriya, J. J. Gnanadoss. 2014. Decolorization of Synthetic Textile Dye Using The Edible Mushroom Fungi *Pleurotus*. *Pakistan Journal of Biological Science*. 17(2), pp.248-253.

Santi, L., Lisdar, I. dan Didiiek, H., 2007. Potensi Fungi Pelapuk Putih Asal Lingkungan Tropik untuk Bioremediasi Herbisida. *Menara Perkebunan*, I(75), pp. 43-55.

Sari, A. A., Kurniawan, H. H. and Nurdin, M. A. H., 2015. Decolorization of Black Liquor Wastewater Generated From Bioethanol Pprocess By Using Oil Palm Empty Fruit Bunches. *Energy procedia*, Issue 68, pp. 254-262.

Setiadi, T., Suwardiyono, and Wenten. I.G. 2002. Treatment of Textile Wastewater By A Coupling Of Activated Sludge Process With Membran Separation. *Proc. Environmental Technology and Management Seminar*.

- Singh, H., 2006. *Mycoremediation: Fungal Bioremediation*. New Jersey: John Wiley & Sons.
- Takano, M., M. Nakamura, A. Nishida, and M. Ishihara. 2004. Manganase peroxidase from *Phanerochaete crassa* WD1694. *Bull. FFPRI* 3(1), pp. 7-13.
- Xavier, A., Traves, A., Rita, F. and Francisco, A., 2007. *Trametes versicolor* Growth And Laccase Induction With By-Products Of Pulp And Paper Industry. *Electronic Journal of Biotechnology*, III(10), pp. 444-451.
- Wulandari, D., Sulistyowati, L. and Muhibuddin, A., 2014. Keanekaragaman jamur endofit pada tanaman tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.) dan kemampuan antagonisnya terhadap *Phytophthora infestans*. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan*, 2(1), pp. 110.
- Zavarzina, A.G. and Zavarzin, A.A. 2006. Laccase and tyrosinase activities in lichens. *Microbiology*, 75, pp. 1-12
- Zollinger, H., 1987. *Color Chemistry-Syntheses, Properties and Applications of Organic Dyes and Pigments*. New York: VCH Publisher