



STUDI TINGKAT KETERURAIAN PEWARNA TEKSTIL MENGGUNAKAN LAKASE MURNI DARI *Marasmiellus palmivorus*

Ragil Putri Widyastuti¹, Sri Harjati Suhardi², Dani Permana³, Khomaini Hasan^{2,5}, Edwan Kardena⁴, Agus Jatnika⁴.

¹ Program Studi Budidaya Hasil Pertanian, Politeknik Negeri Pontianak

² Pusat Penelitian Ilmu Hayati, Institut Teknologi Bandung,
Jl. Ganesha No. 10, Bandung 40132, Indonesia

³ Research Unit for Clean Technology, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI),
Kampus LIPI Bandung, Jl. Cisitua-Sangkuriang, Bandung 40135, Indonesia

⁴ Jurusan Teknik Lingkungan, Institut Teknologi Bandung,
Jl. Ganesha No. 10, Bandung 40132, Indonesia

⁵ Fakultas Kedokteran, Jenderal Ahmad Yani University (UNJANI),
Jl. Terusan Jendral Sudirman, Cimahi, 40285, Indonesia

Email: putriwidya90@gmail.com

ABSTRAK

Pewarna di dalam limbah tekstil menjadi salah satu aspek penting karena sulit didegradasi. Enzim lakase yang berasal dari jamur pelapuk putih *Marasmiellus palmivorus* terbukti efektif dalam mendegradasi beberapa jenis pewarna tekstil. Lakase murni diujikan pada pewarna tekstil dengan metode uji cepat atau *High Throughput Screening* (HTS). Sampel pewarna yang digunakan yaitu 14 pewarna jenis azo, anthraquinon dan disperse. Uji cepat dilakukan pada suhu ruang menggunakan *microplate titer* dengan perbandingan sampel dan enzim 1:1 selama 24 jam dengan konsentrasi pewarna 150ppm. Sampel yang diamati merupakan campuran pewarna dan enzim murni dengan aktifitas spesifik 2,49 U/mg. Metode HTS memperlihatkan Procion Blue H-GN dan Levafix Blue E-Ra Gran positif terdecolorisasi oleh lakase. *Screening* decolorisasi pewarna oleh kultur jamur *M. palmivorus* pada medium PDA juga dilakukan dengan hasil 7 pewarna terdecolorisasi yaitu Telon Blue AFN, Telon Red AFG, Isolan Silver N, Telon Blue BRL, Levafix Blue PN-3R, Procion Blue H-GN dan Levafix Blau E-Ra Gran. Dua warna yang positif terdegradasi oleh lakase dan kultur jamur diukur perubahannya berdasarkan nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer. Konsentrasi pewarna Levafix Blue E-Ra Gran turun hingga 86 ppm setelah 24 jam. Kesimpulan dari penelitian ini adalah metode HTS berhasil memperlihatkan sifat decolorisasi berbagai pewarna tekstil dengan cepat dan terbukti dengan berubahnya konsentrasi pewarna setelah pengujian.

Kata kunci: *High Throughput Screening*, decolorisasi, pewarna tekstil, lakase, *Marasmiellus palmivorus*

PENDAHULUAN

Dampak negatif pewarna teroksidasi dari industri tekstil bagi lingkungan perairan selain

logam berat yaitu turunnya kadar oksigen. Tingginya Nilai COD dan BOD, kehadiran partikel dan sedimen, dan minyak dan lemak

dalam limbah menjadi penyebab turunnya kadar oksigen terlarut. Hal ini memiliki efek buruk pada sistem ekologi perairan. Penggunaan pewarna dan bahan kimia dalam proses pewarnaan tekstil, menyebabkan limbah pun berwarna gelap, yang dapat meningkatkan kekeruhan badan air. Hal ini akan menghambat proses fotosintesis, dan selanjutnya menyebabkan perubahan dalam habitat perairan secara keseluruhan (Egli, J. dalam Wang, Z, dkk., 2011).

Teknik pengolahan pewarna teroksidasi yang lazim digunakan antara lain secara fisika, kimia, dan biologi. Kekurangan teknik pengolahan secara fisika dan kimia yaitu biaya mahal, pemakaian bahan kimia yang tidak sedikit dan menimbulkan lumpur yang banyak. Oleh karena itu saat ini banyak digunakan teknologi pengolahan limbah yang ramah lingkungan seperti memanfaatkan mikroorganisme sebagai agen pendegradasi molekul pewarna tekstil yang memiliki struktur kompleks menjadi molekul yang lebih sederhana (Manurung dkk, 2004).

Salah satu mikroorganisme yang bisa dimanfaatkan dalam mendegradasi warna yaitu jamur lapuk putih. Pemanfaatan jamur lapuk putih yang menghasilkan enzim lakase dapat digunakan sebagai agen biologis dalam proses dekolorisasi atau penghilangan warna karena peristiwa adsorpsi oleh miselium sebagai tingkat awal perubahan warna dalam proses dekolorisasi warna. Dekolorisasi atau penghilangan warna merupakan suatu cara yang digunakan untuk mengurangi kepekatan warna.

Beberapa penelitian menyebutkan, enzim lakase terbukti dapat dijadikan sebagai agen pendegradasi warna, hanya saja enzim yang digunakan belum dimurnikan. Enzim lakase yang diisolasi, dimurnikan, dan ditingkatkan

efisiensinya dari segi konsentrasi, pH, dan suhu diharapkan akan meningkatkan aktifitas spesifiknya dibanding dengan enzim yang belum dimurnikan.

Metode uji cepat *High throughput screening* (HTS) adalah proses pengujian senyawa kimia dalam jumlah besar dan beragam terhadap senyawa target yang akan kita uji. Keunggulan metode HTS yaitu lebih cepat, biaya rendah, dan lebih efisien yang akan menghasilkan informasi yang lebih banyak. Dengan seluruh informasi tersebut, maka dalam penelitian ini akan terfokus pada pengembangan metode uji cepat (*High Throughput Screening*) sifat dekolorisasi pewarna tekstil menggunakan enzim lakase murni dari *Marasmiellus palmivorus*.

METODE PENELITIAN

Kultur *M. palmivorus* dan Pengembangbiakannya

Kultur *Marasmiellus palmivorus* yang digunakan sebagai penghasil lakase diperoleh dari laboratorium mikologi, Pusat Penelitian Biosains dan Bioteknologi (PPBB), Institut Teknologi Bandung. Digunakan medium *Potato Dextrose Agar* (PDA) pada tahap kultur awal, kemudian jamur diinokulasikan ke kultur padat pada tahap *pre-conditioning* dengan komposisi: serbuk kayu, kapur 2,5% dari serbuk kayu, NPK 1% dari serbuk kayu, dan dedak 5% dari serbuk kayu. Selanjutnya jamur dikultur di dalam baki steril dengan teknik *Solid State Fermentation* (SSF) dengan komposisi yang sama dengan tahap *pre-conditioning*. Jamur diinkubasi pada suhu dan tekanan ruang selama 4 minggu dalam kondisi steril.

Produksi Lakase

Lakase diproduksi dengan mengekstrak kultur jamur pada 200 mM buffer natrium fosfat pH 6. Komposisi buffer natrium fosfat yaitu $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 220mM dan $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 220mM dengan perbandingan 11:3. Dalam 1L buffer terdapat 880ml $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ dan 120ml $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Dishaker campuran jamur dan buffer pada 150 rpm selama 2 jam kemudian disaring dan disentrifuga pada kecepatan 5000 rpm selama 10 menit untuk mengendapkan sisa medium SSF yang masih tertinggal.

Pemurnian Lakase

Enzim lakase dimurnikan menggunakan metode kromatografi interaksi hidrofobik (*hydrophobic interaction chromatography*) dan kromatografi penukar ion (*ion exchange chromatography*). Ekstrak kasar lakase diekuilibrasi dengan 25% ammonium sulfat. Campuran kemudian dimasukkan ke dalam kolom HIC dengan tinggi 6,5 cm dan diameter 2,8 cm yang telah berisi matriks Butyl-Toyopearl (Tosoh Ltd.). Dielusi ekstrak kasar dengan ammonium sulfat 25%, 20%, 15%, 10%, dan 5% secara *step wise*, kemudian dielusi dengan buffer fosfat sitrat pH 5 20mM dan terakhir dielusi dengan methanol 30%. Masing-masing fraksi ditampung sebanyak 5ml, diuji aktivitasnya dengan ABTS sebagai substrat dan konsentrasi protein diuji dengan Bradford assay. Fraksi yang memiliki puncak aktivitas dikumpulkan dalam satu pool. Dimasukkan pool yang memiliki aktivitas dari kolom HIC dalam kolom kromatografi penukar ion dengan tinggi 20 cm dan diameter 2 cm. Kolom diisi dengan matriks DEAE-toyopearl (Tosoh Ltd.) setinggi 15 cm yang telah diekuilibrasi dengan buffer sodium fosfat 50mM pH 8. Sampel dielusi dengan gradient pH 8 sampai 4.

Ditampung 5ml untuk masing-masing fraksi, diuji aktivitas dengan ABTS dan dilakukan analisis A280. Puncak aktivitas fraksi dikumpulkan dalam satu pool.

Uji Aktivitas dan Protein Enzim

Aktivitas lakase diuji dengan ABTS (2,2-azinobis (3-ethylbenzthiazoline 6 sulphonic acid) 0,5 mM yang dilarutkan dengan 100 mM buffer asetat pH 4,5. Oksidasi ABTS diukur dengan melihat peningkatan absorbansinya pada 420 nm dan aktivitas lakase dihitung dari koefisien penurunan molar (ϵ) sebesar $36000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Satu unit aktivitas lakase menunjukkan besar enzim yang mengoksidasi 1 μmol ABTS ml/menit. Ditentukan konsentrasi protein menggunakan metode Bradford, dengan bovine serum albumin (BSA) sebagai standar. Diulang pengukuran sebanyak 3x menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Thermo Scientific Genesis 10S).

Persiapan Pewarna Teroksidasi

Pewarna tekstil yang digunakan antara lain Telon Yellow M, Telon Blue AFN, Telon Red AFG, Isolan Silver N, Telon Blue BRL, Dx. Turquoise S-BG, Palanil Black SE-R, Dx. Black Xf, Pal. Scarlet GS, Disp. Orange 3RLS, Levafixblau PN-3R, Remazol Turkishblau G133, Remazol Turquoise Blue, Procion Blue H-GN, dan Lavafix Blau E-Ra Gran. Untuk mensimulasikan kondisi kimia air limbah tekstil dalam percobaan dekolourisasi, pewarna (400 mg) dan Na_2SO_4 (40 g) (Roth) ditambahkan 200 mL air, pH diatur menjadi 12,5 dan senyawa dilarutkan dengan menginkubasi campuran pada suhu 80°C selama 50 menit. Campuran kemudian didinginkan sampai 22°C sebelum digunakan dalam percobaan (Boehmer, *dkk*, 2006).

Screening Dekolorisasi Pewarna dengan Jamur *M. Palmivorus* pada Medium PDA

Jamur diinokulasi di cawan petri berisi media PDA yang telah ditambahkan pewarna. Digunakan antibakteri *chloramphenicol* dan antijamur *benomyl* untuk mencegah media terkontaminasi. Konsentrasi media PDA dan pewarna yaitu 150ppm. Jamur pada cawan petri diinkubasi pada suhu ruang (25°C) selama 7-14 hari, diamati perubahan warna pada media PDA (Rathnan, dkk. 2013).

High Throughput Screening Dekolorisasi Warna dengan Lakase

Dimasukkan enzim lakase dan pewarna dengan konsentrasi 150ppm dengan perbandingan 1:1 ke dalam mikroplate. Diamati perubahan warna yang terjadi dalam 24 jam.

Pengukuran Konsentrasi Pewarna

Pengukuran konsentrasi ditentukan dengan pembuatan kurva standar pewarna teroksidasi terlebih dahulu. Konsentrasi limbah yang digunakan sebagai kurva standar yaitu 15, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 150, 180, dan 210ppm. Setelah diperoleh kurva standar, kemudian dilanjutkan dengan pengukuran absorbansi sampel uji menggunakan spektrofotometer. Konsentrasi pewarna yang digunakan yaitu 150ppm. Pewarna sebanyak 500µl ditambahkan enzim murni sebanyak 500µl dengan protein 0,46 mg/mL. Pewarna dan akuades dibuat sebagai kontrol negatif. Sedangkan kontrol positifnya yaitu enzim murni dan akuades. Campuran dimasukkan ke dalam spektrofotometer dan perubahan absorbansi diamati 2 jam sekali selama 24 jam pada suhu ruang. Dilakukan ulangan sebanyak 2x. Uji dekolorisasi dengan struktural zat warna berbeda menggunakan lakase murni dilihat dengan adanya penurunan absorbansi pada

panjang gelombang absorbansi maksimum pada tiap jenis pewarna (Youshuang, 2011).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Produksi Lakase Dari *M. palmivorus*

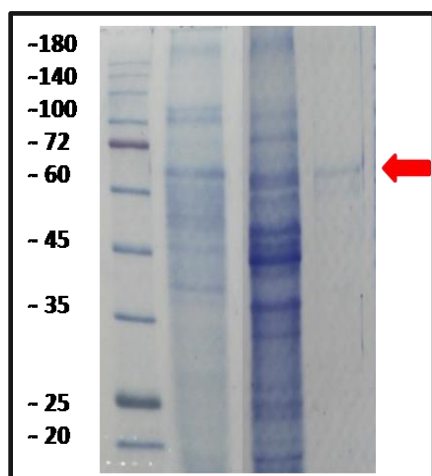
Medium SSF (*Solid State Fermentation*) digunakan sebagai substrat tempat jamur tumbuh. Bhargav, S., dkk (2008) mengatakan bahwa kultur padat sangat cocok sebagai pertumbuhan jamur. Secara alami jamur tumbuh pada substrat padat seperti kayu, akar, biji, ataupun bagian tubuh hewan yang sudah mati seperti kulit dan tulangnya. Namun, kondisi substrat tempat jamur tumbuh harus memiliki kelembapan yang cukup. Menurut Hanung dkk., (2013) kelembapan media SSF yang optimal untuk produksi lakase adalah 61%. Pada tingkat kelembapan 61% produksi lakase dapat mencapai 4,45 IU/g dengan konsentrasi protein mencapai $4,4 \times 10^{-3}$ g/g.

Ekstrak kasar lakase dapat diproduksi setelah jamur tumbuh memenuhi medium SSF. Sesuai dengan pernyataan Vikineswary dkk., (2006) bahwa enzim lakase dapat terekstraksi secara optimal dengan menggunakan larutan buffer pH 4,8-6,0 pada temperatur 25°C.



Gambar 1. Kultur jamur dalam medium SSF (kiri) dan ekstrak kasar Lakase (kanan)

Pemurnian Lakase



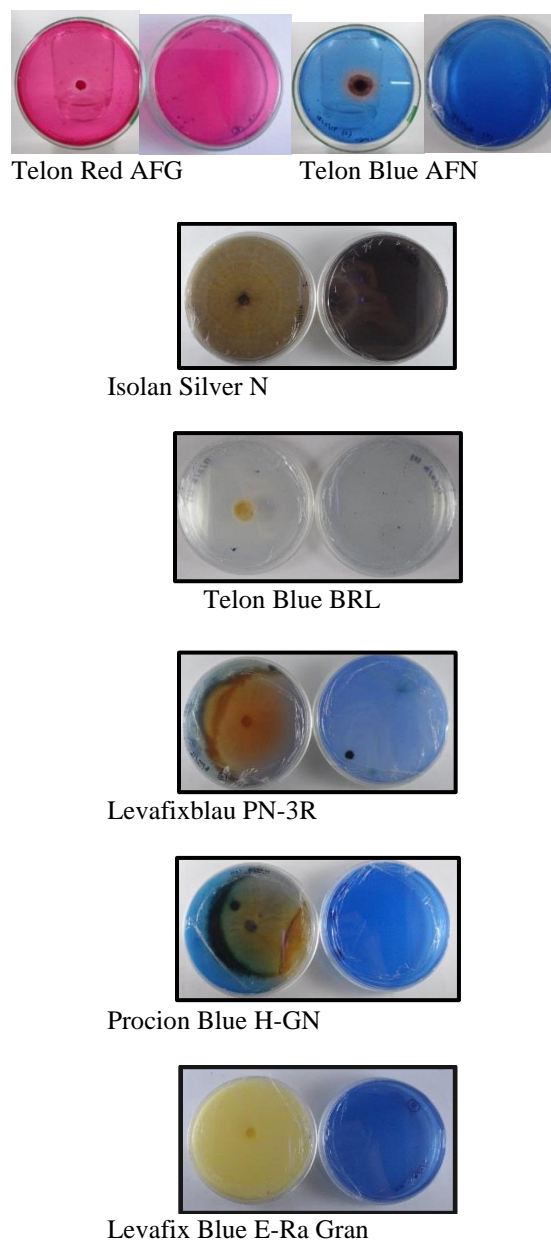
Gambar 2. Analisa SDS Page hasil Ion Exchange Chromatography dan Hidrophobic Interaction Chromatography

Penelitian oleh Suhardi, dkk (2014) menunjukkan lakase memiliki 3 isoenzim dengan berat molekul masing-masing 15, 35, dan 67 kDa. Dalam penelitian ini hanya diperoleh lakase dengan berat molekul 67 kDa.

Tabel 1. Tabel Pemurnian Enzim Lakase

Tahap pemurnian	Aktivitas total (U)	Protein total (mg)	Aktivitas spesifik (U/mg)	Yield (%)	Purification fold
Ekstrak kasar	38,14	1244	0,03	100	1
KIH Butyl-Toyopearl	17,53	40,60	0,43	45,96	14,08
Lakase 67 kDa	1,14	0,46	2,49	2,99	81,35

Hasil pemurnian lakase menunjukkan hasil protein total lakase sangat rendah yaitu 0,46 mg. Hal ini disebabkan karena terjadi proses pengenceran pada saat enzim didialisis untuk menghilangkan garam ammonium sulfat. Enzim murni yang telah diperoleh kemudian digunakan untuk uji dekolorisasi beberapa pewarna tekstil



Gambar 3. Dekolorisasi Pewarna Tekstil oleh jamur *M. palmivorus*

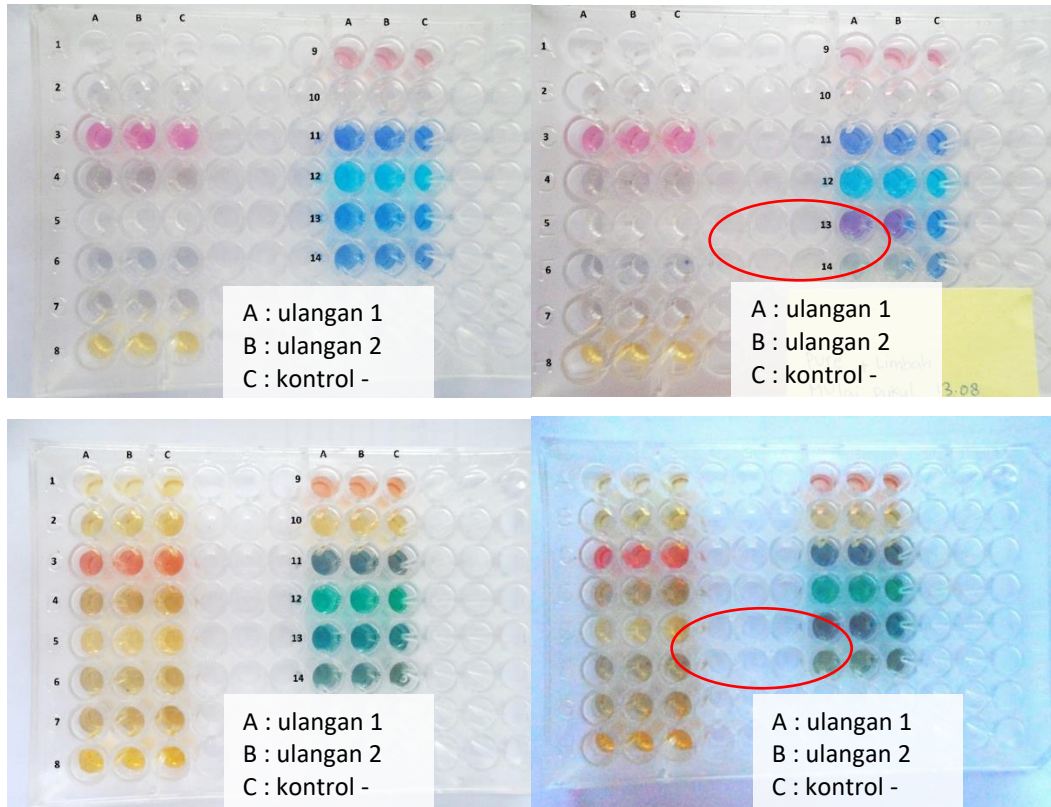
Dekolorisasi oleh jamur *Marasmiellus palmivorus* pada medium PDA yang telah pewarna Levafix Blue E-Ra Gran menunjukkan bahwa pewarna telah terdegradasi dengan sempurna. Gambar sebelah kiri merupakan medium PDA yang telah dicampur dengan pewarna dan diberi jamur *M. palmivorus*,

sedangkan gambar sebelah kanan merupakan kontrol negatif media dan pewarna yang tidak

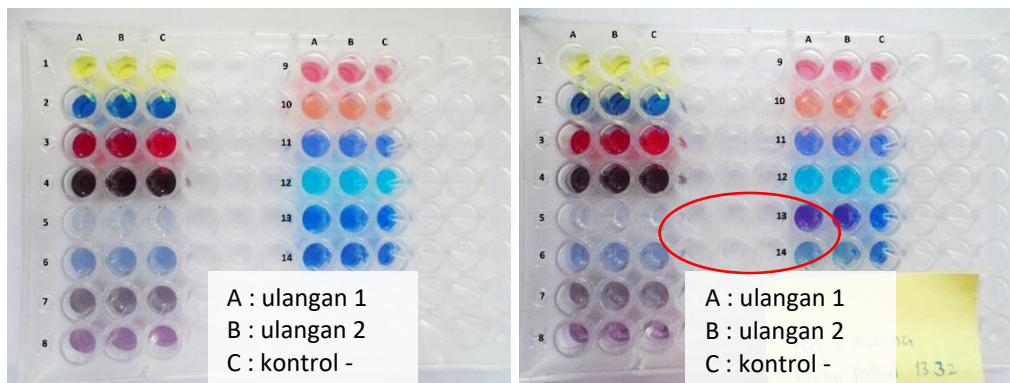
diberi jamur. Degradasi pewarna telah terlihat pada hari keempat setelah jamur diinokulasi.

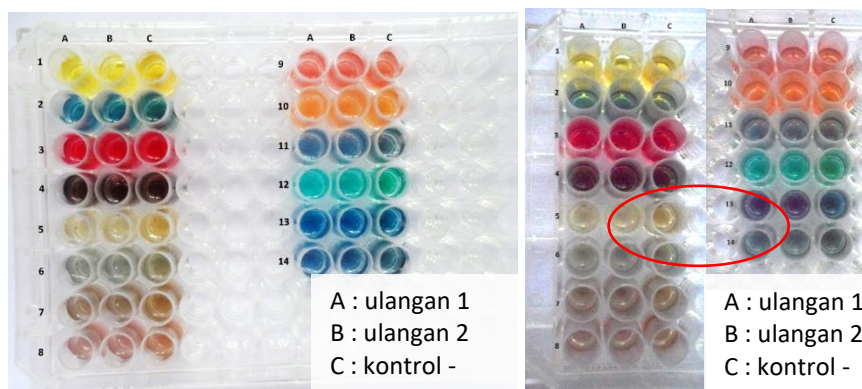
Tabel 2. Uji Dekolorisasi Dengan M. palmivorus pada Medium PDA

No	Pewarna	Degradasi (+/-)	Hari degradasi	Pola degradasi	Laju pertumbuhan diameter (cm/hari)
1	Telon Yellow M	(-)	-	-	0.4
2	Telon Blue AFN	(+)	hari kedua	ke luar	0.6
3	Telon Red AFG	(+)	hari kedua	ke luar	0.2
4	Isolan Silver N	(+)	hari kedua	ke luar	0.5
5	Telon Blue BRL	(+)	hari keempat	ke luar	0.3
6	Dx. Turquoise S-BG	(-)	-	-	0.4
7	Palanil Black SE-R	(-)	-	-	0.3
8	Dx. Black Xf	(-)	-	-	0.5
9	Pal. Scarlet GS	(-)	-	-	0.4
10	Disp. Orange 3RLS	(-)	-	-	0.5
11	Levafixblau PN-3R	(+)	hari keempat	ke luar	0.5
12	Remazol Turquoise Blue	(-)	-	-	0.5
13	Procion Blue H-GN	(+)	hari keempat	ke luar	0.5
14	Levafix Blau E-Ra Gran	(+)	hari keempat	ke luar	0.5



Gambar 4. Uji cepat dekolonisasi pewarna teroksidasi dengan Lakase murni (atas) dan Lakase crude (bawah) waktu 0 jam (kiri) dan setelah 24 jam (kanan).
 1: Telson Yellow; 2: Telson Blue; 3: Telson Red; 4: Isolan Silver; 5: Telson Blue; 6. Dx. Turquoise; 7. Palanil Black Xf; 8. Dx. Black Xf; 9. Pal. Scarlet GS; 10. Disp. Orange 3RLS; 11. Levafixbalu PN-3R; 12. Remazol Turkisblau; 13. Procion Blue; 14. Levafix Blau E-RA gran

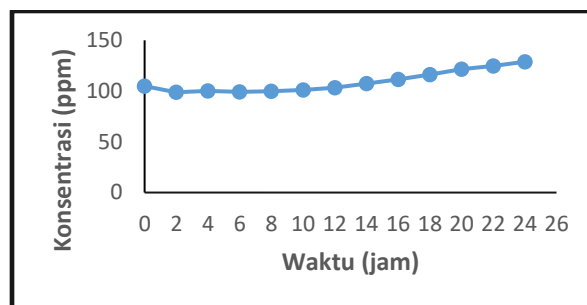




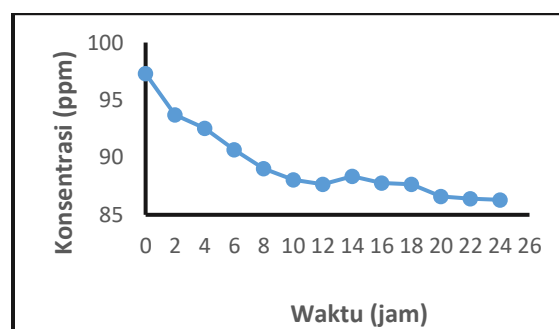
Gambar 5. Uji cepat dekolorisasi pewarna asli dengan Lakase murni (atas) dan Lakase *crude* (bawah) waktu 0 jam (kiri) dan setelah 24 jam (kanan).

1: Telson Yellow; 2: Telson Blue; 3: Telson Red; 4: Isolan Silver; 5: Telson Blue; 6. Dx. Turquoise; 7. Palanil Black Xf; 8. Dx. Black Xf; 9. Pal. Scarlet GS; 10. Disp. Orange 3RLS; 11. Levafixbalu PN-3R; 12. Remazol Turkiisblau; 13. Procion Blue; 14. Levafix Blau E-RA gran

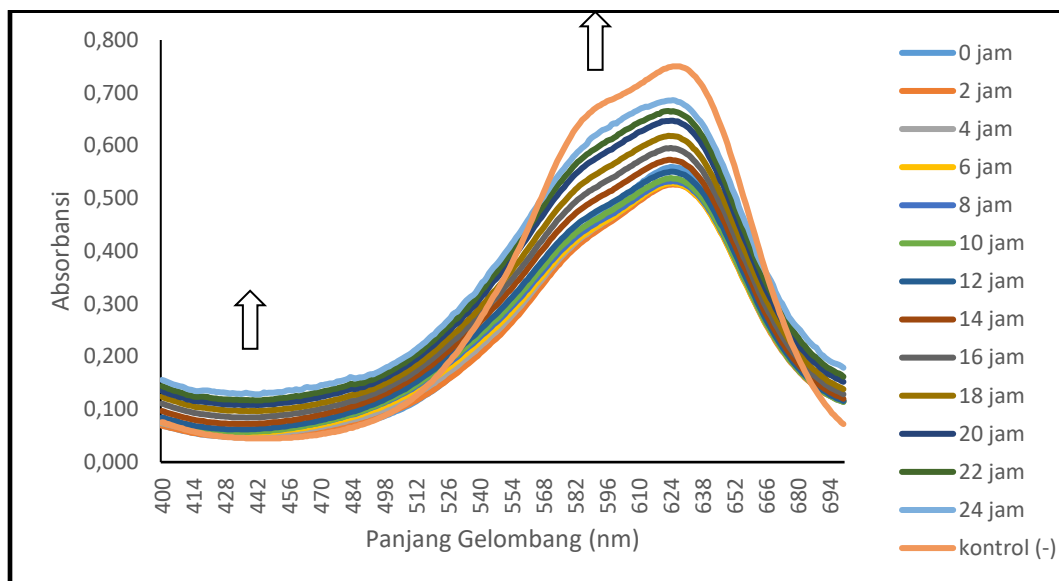
Berbeda dengan screening dengan medium PDA yang menghasilkan 7 warna dapat terdekolorisasi, uji cepat menggunakan enzim memperlihatkan 2 jenis pewarna saja yang bisa didegradasi oleh enzim lakase. Pewarna asli dan pewarna teroksidasi yang dapat didegradasi oleh enzim lakase adalah Procion Blue dan Levafix Blue E-Ra Gran. Hal ini dapat dilihat dari perubahan warna yang terjadi. Pewarna Procion Blue mengalami perubahan dari biru menjadi ungu sedangkan Levafix Blue E-Ra Gran berubah dari biru menjadi bening. Pewarna yang positif mengalami dekolorisasi kemudian diukur perubahan konsentrasinya menggunakan spektrofotometer.



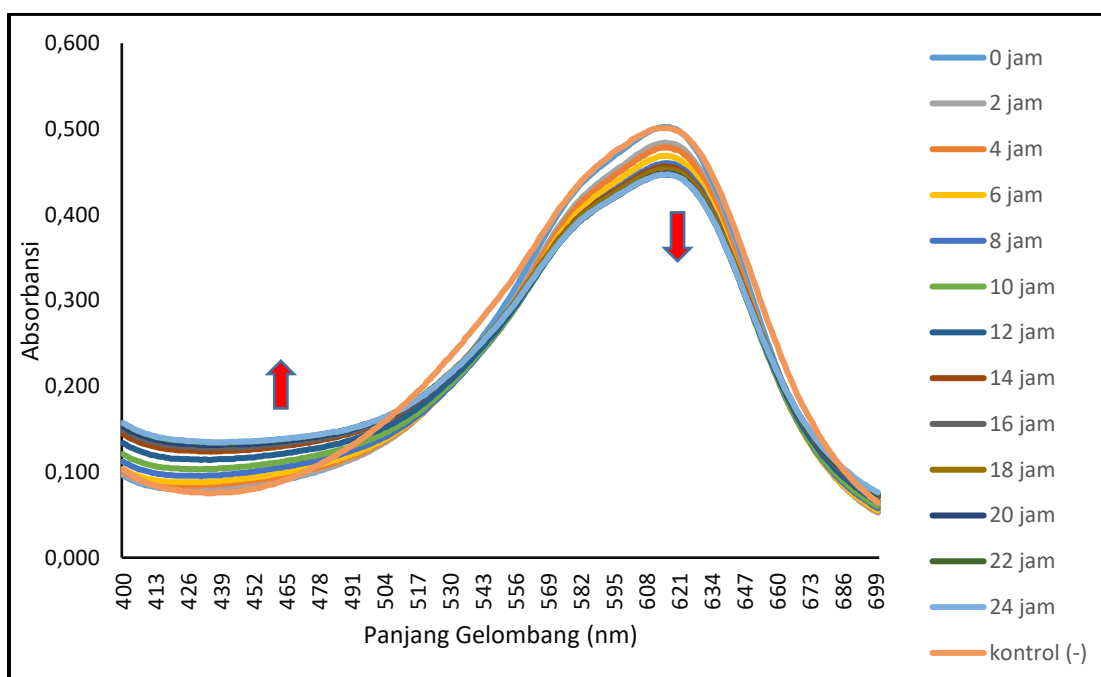
Gambar 6. Perubahan konsentrasi pewarna teroksidasi Procion Blue H-GN+lakase murni



Gambar 7. Perubahan konsentrasi pewarna teroksidasi Levafix Blue EORa Gran+lakase murni



Gambar 8. Dekolorisasi pewarna teroksidasi Procion Blue H-GN+lakase murni



Gambar 9. Dekolorisasi pewarna teroksidasi Levafix Blue E-Ra Gran+lakase murni

Pembahasan

Dari 7 pewarna yang dapat didegradasi oleh jamur *M. palmivorus*, 4 diantaranya memiliki struktur antrakuinon. Sedangkan

sisanya memiliki struktur azo. Gordon dan Gregory (1987) menyatakan bahwa pewarna antrakuinon memiliki ikatan yang lebih lemah dibanding dengan ikatan azo. Oleh karena itu sebagian besar pewarna dengan struktur

antrakuinon dapat didegradasi oleh jamur *M. palmivorus* dibanding dengan pewarna dengan struktur azo. Terdapat 3 mekanisme jamur dalam menghilangkan pewarna yaitu bioakumulasi, bioabsorpsi dan biodegradasi. Tidak nampaknya pewarna dalam jamur yang tumbuh mengindikasikan bahwa jamur bekerja dengan cara mendegradasi pewarna. Hal ini karena jamur dapat menghasilkan berbagai enzim ekstraseluler yang non spesifik seperti lakase, mangan peroksidase (MnP), lignin peroksidase (LiP), tirosinase dan lain-lain. Tingkat biodegradasi zat warna oleh jamur dipengaruhi beberapa faktor seperti lingkungan, struktur molekul pewarna, dan enzim yang terlibat dalam penghilangan warna itu sendiri. Enzim yang sama namun dihasilkan oleh jamur yang berbeda bisa jadi memiliki efektifitas yang berbeda (Yang, dkk. 2015). Faktor-faktor seperti pH, konsentrasi jamur, temperatur, dan lama inkubasi juga mempengaruhi kinerja jamur dalam mendegradasi pewarna tekstil (Ali dan Muhammad, 2008).

Berdasarkan Gambar IV. 12 di atas dapat dilihat bahwa nilai absorbansi menurun dalam waktu 2 jam, namun meningkat setelah 4 jam hingga 24 jam. Apabila dibandingkan dengan kontrol, konsentrasi pewarna mengalami penurunan. Meningkatnya konsentrasi warna mungkin terjadi karena adanya perubahan warna dari biru ke ungu seperti yang ditunjukkan pada saat screening pada mikroplate. Berubahnya warna dari biru menjadi ungu menyebabkan perubahan panjang gelombang warna. Procion Blue H-GN memiliki panjang gelombang 627 nm dan warna ungu/violet secara umum memiliki panjang gelombang 500-580 nm (Day, R. A. dan Underwood, A. L., 1986). Perbedaan panjang gelombang pewarna Procion Blue H-GN

dengan pewarna ungu tidak jauh berbeda sehingga nilai absorbansi mengalami peningkatan.

Konsentrasi pewarna yang digunakan juga mempengaruhi kerja enzim dalam mendegradasi pewarna tekstil. Penelitian Ratanapongleka, K. dan Phetsom, J. (2014) menunjukkan bahwa kemampuan enzim dalam mendegradasi warna memiliki kemampuan berbeda tergantung konsentrasi pewarna yang digunakan. Penelitian tersebut menggunakan konsentrasi pewarna dari konsentrasi 20 mg/l hingga 140mg/l. Enzim lakase dapat mendekolorisasi warna Acid Blue hingga 85% dalam waktu 180 menit apabila konsentrasi pewarna yang digunakan dibawah 50 mg/l. Konsentrasi pewarna di atas 50 mg/l akan menyulitkan lakase dalam mendegradasi warna.

Pada pewarna tekstil Levafix Blue E-Ra Gran (Gambar IV. 13), nilai absorbansinya menurun pada panjang gelombang sekitar 630 Å, dan meningkat pada panjang gelombang sekitar 400-500 Å. Menurunnya nilai absorbansi terjadi hingga 24 jam. Hal ini membuktikan bahwa terjadi degradasi warna biru, menjadi warna lain yaitu kuning pada panjang gelombang sekitar 450 – 495 Å (Day, R. A. dan Underwood, A. L., 1986).

KESIMPULAN

Metode *High Throughput Screening* berhasil memperlihatkan sifat dekolorisasi pewarna tekstil menggunakan enzim dari *M. palmivorus* dengan cepat dan terbukti dengan berubahnya konsentrasi pewarna setelah pengujian.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali P dan Muhammad SK. 2008. Biodecolorization of Acid Violet 19 by *Alternaria solani*, *African Journal of Biotechnology* Vol 7: 831-833.
- Boehmer U, Suhardi SH dan Bley T. 2006. Decolorizing Reactive Textile Dyes With White-Rot Fungi by Temporary Immerse Cultivation. *Eng. Life. Sci* Vol 6: 417 – 420.
- Day RA dan Underwood AL. 1986. Analisis Kimia Kuantitatif, Edisi Kelima, Penerbit Erlangga, Jakarta, Hal 390.
- Egli J. 2007. Wastewater treatment in the textile industry. *Dyeing Printing Finishing* Vol 10: 60-66.
- Gordon PF dan Gregory P. 1987. *Organic Chemistry in Colour*, Springer Berlin Heidelberg, UK, 163-164.
- Hanung CD, Osmond R, Risdianto H, Suhardi SH dan Setiadi T. 2013. Optimisasi Produksi Enzim Lakase pada Fermentasi Kultur Padat Menggunakan Jamur Pelapuk Putih *Marasmius* sp. : Pengaruh Ukuran Partikel, Kelembapan, dan Konsentrasi Cu, *Jurnal Selulosa*, Vol 3 (2): 67 - 74.
- Manurung R, Hasibuan R dan Irvan. 2004. Perombakan Zat Warna Azo Reaktif Secara Anaerob – Aerob. e-USU Repository: 1 – 2.
- Rathnan RK, Anto SM, Rajan L, Sreedevi E. S, Ambili M dan Balasaravan T. 2013. Comparative studies of Decolorization of Toxic Dyes with Laccase Enzymes producing Mono and Mixed cultures of Fungi. *Research Article* Vol 1: 21- 24.
- Suhardi SH, Wildani MA, Hasan K, Rahmadiyah WR dan Aryanta INP. 2013. Purification and Characterization of Laccase from *Marasmiellus palmivorus* and Its Potential Activity to Degrade Phenolic Compounds in Addition of Cu, Cd, and EDTA, PIH, ITB, Bandung.
- Vikineswary S, Noorlidah AM, Renuvathani M, Sekaran A, Pandey EBG dan Jones. 2006. Productivity of laccase in solid substrate fermentation of selected agro-residues by *Pycnoporus sanguineus*, *Biores.Technol.*, Vol 97: 171-177.
- Yang P, Shi W, Wang H dan Liu H. 2016. Screening of freshwater fungi for decolorizing multiple synthetic dyes, *Brazilian Journal of Microbiology*, Vol 47: 828 – 834.
- Youshuang Z, Haibo Z, Mingle C, Zhenzhen W, Feng H dan Peiji G. 2011. Production of a Thermostable Metal-tolerant Laccase from *Trametes versicolor* and its Application in Dye Decolorization, *Biotechnology and Bioprocess Engineering* Vol 16: 1027 – 1035.