

PENGARUH PH TERHADAP DEGRADASI PEWARNA *DIRECT BLUE* MENGGUNAKAN JAMUR PELAPUK KAYU (*Pleurotus flabellatus*)

Niki Rachmanur Husna^{1*}, Hasri Hasri², Sudding Sudding²

¹Mahasiswa Jurusan Kimia FMIPA

²Jurusan Kimia FMIPA

Universitas Negeri Makassar

*email: nikirahma151@gmail.com

Received 11 Oktober 2017

Accepted 28 Nopember 2017

Abstrak

Pewarna sintetik banyak digunakan dalam industri, terutama industri tekstil karena memiliki struktur kompleks dan limbahnya sulit terdegradasi. Pemakaian pewarna sintetik meningkat setiap tahunnya, dan berdampak pada peningkatan jumlah bahan pencemar di perairan, menyebabkan terganggunya ekosistem akuatik, sehingga dibutuhkan perhatian yang serius untuk menurunkan konsentrasi limbah cair pewarna dengan memanfaatkan mikroorganisme, oleh karenanya penelitian ini bertujuan untuk menurunkan kadar limbah pewarna melalui optimasi pH pewarna *direct blue* yang dapat didegradasi oleh enzim lignolitik jamur pelapuk kayu. Variasi pH *direct blue* yang digunakan adalah 3, 4, 5, 6, 7, 8 dan 9. Rasio ekstrak enzim dan *direct blue* yang digunakan pada proses degradasi adalah 3:1 dengan konsentrasi 50 ppm, dikontakkan selama 180 menit pada suhu 50°C. Sisa *direct blue* hasil degradasi diukur menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 621,80 nm. Hasil penelitian diperoleh bahwa *direct blue* terdegradasi secara optimum pada pH 8 dengan efisiensi sebesar 53,45% dengan konsentrasi sisa 23,2714 ppm dan konsentrasi terdegradasi 26,7286 ppm. Kemampuan ini disebabkan adanya enzim lignolitik yang dihasilkan oleh jamur *P. flabellatus* yang dapat memutus ikatan azo melalui mekanisme oksidasi.

Katakunci: *Pleurotus flabellatus*, *direct blue*, ekstraksi enzim, degradasi

Abstract

Synthetic dyes are widely used in industries, especially in textile industry, because it has a complex structure and its waste is difficult to degrade. The using of synthetic dyestuffs increase by year to year, and its impacting ison improvement the amount of contaminants in the water, causing disrupted of aquatic ecosystems, so automatically it is needed the serious attention to reduce the concentration of the liquid waste dye by utilizing microorganism. Therefore, this research aims to reduce the levels of dye waste based on optimalization of pH that can be degraded by enzymes ligninolytic of wood rot fungi (*Pleurotus flabellatus*). The variations pH were 3, 4, 5, 6, 7, 8 and 9. The ratio of enzyme extract and dye used was 3:1 with concentration of 50 ppm, contacted for 180 minutes at 50°C. The remaining degraded of *direct blue* were measured using a Spectrofotometer UV-Vis at 621,80 nm. The result of research show that *direct blue* was degraded optimally at pH 8 with an efficiency of 53,45%, residual concentration of 23,2714 ppm and degraded concentration of 26,7286 ppm. The ability is due to the ligninolytic enzyme produced by *P. flabellatus* fungus that can break the azo bond through the oxidation mechanism.

Keywords: *Pleurotus flabellatus*, *direct blue*, enzyme extraction, degradation

Pendahuluan

Zat warna adalah senyawa yang mempunyai gugus yang dapat

menimbulkan warna (kromofor) (Fessenden, 1982). Pewarna banyak digunakan dalam berbagai bidang industri,

seperti industri pangan, tekstil dan industri kertas. Zat warna untuk tekstil dapat dibedakan menjadi dua jenis berdasarkan sumbernya, yaitu zat warna alami dan sintetis. Zat warna alami dapat diperoleh dari ekstrak tumbuh-tumbuhan, namun dengan variasi yang semakin sedikit dan cenderung tidak stabil, maka dibuat berbagai zat warna sintetis yang hingga saat ini sering digunakan pada industri (Yahdiana, 2011). Beberapa pewarna azo yang sering digunakan dalam industri tekstil antara lain *direct blue*, *congo red*, dan *acid orange* (Herlina, 2016).

Pembuangan air limbah tekstil secara langsung ke lingkungan disamping menimbulkan persoalan estetika juga dapat mengancam kelestarian ekosistem akuatik karena dapat menghambat penetrasi sinar matahari ke dalam air sehingga mengganggu aktivitas fotosintesis dari mikroalga (Montano, 2007). Zat warna tekstil umumnya dibuat dari senyawa azo ($R-N=N-R$) dan turunannya, yang apabila senyawa azo terlalu berada di lingkungan akan menjadi sumber penyakit karena sifatnya karsinogen dan mutagenik, maka perlu dicari alternatif efektif untuk menguraikan limbah tersebut (Widjajanti, 2011).

Pengolahan limbah cair dapat dilakukan menggunakan cara kimia, fisika dan biologi. Pengolahan air limbah tekstil dengan cara kimia dan fisika cukup efektif untuk menghilangkan warna, akan tetapi tidak efisien dari segi biaya dan pemakaian bahan kimia serta menimbulkan limbah yang banyak. Untuk itu, penelusuran metode pengolahan limbah cair tekstil saat ini diarahkan dengan memanfaatkan mikroorganisme. Salah satu mikroorganisme yang potensial dikembangkan untuk mengolah limbah tekstil adalah jamur pendegradasi kayu (Sastrawidana, 2012).

Jamur pendegradasi kayu pada kondisi tertentu menghasilkan enzim ligninolitik ekstraseluler tertentu yaitu lignin peroksidase, mangan peroksidase, lakase dan lain-lain dalam berbagai kombinasi.

Enzim ligninolitik yang dihasilkan jamur pendegradasi kayu ideal digunakan untuk biodegradasi organopolutan di lingkungan (Christian, 2005). Berdasarkan hasil kajian Singh (2013), diketahui bahwa jamur *Pleurotus flabellatus* dapat digunakan dalam bioremediasi zat warna azo yang terkontaminasi dalam suatu ekosistem. Kemampuan jamur dalam bioremediasi disebabkan adanya enzim yang secara efektif dapat menurunkan pewarna toksik. *Pleurotus flabellatus* dilaporkan telah mendekolorisasi zat warna *direct blue* 14 dalam 8 hari.

Faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim di antaranya adalah konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, pH, suhu, dan keberadaan inhibitor (Murni, 2011). Ditinjau dari kerja enzim ligninolitik, enzim ini bekerja secara optimum pada pH 3 – 4 dan terus menurun seiring peningkatan nilai pH buffer (Dinatha, 2013). Hasil penelitian Asih (2016) juga melaporkan bahwa aktivitas optimum enzim lakase berada pada pH 3 – 4 dan suhu 35 °C.

Penelitian mengenai degradasi pewarna azo oleh jamur telah banyak dilakukan, seperti yang dilakukan oleh Singh (2013) yang melakukan optimasi lama inkubasi degradasi *direct blue* oleh enzim dari jamur *P. flabellatus* pada pH yang tetap, diperoleh persen dekolorisasi sebesar 90,39% pada 6 jam inkubasi. Hal yang sama juga dilakukan Dinatha (2013) yang menentukan kondisi optimum degradasi limbah tekstil menggunakan jamur *Daedaleopsis eff. confragosa* meliputi pH, konsentrasi jamur, dan lama inkubasi. Sejauh penelusuran peneliti, penelitian tentang pH optimum degradasi pewarna azo seperti *direct blue* oleh jamur *P. flabellatus* masih belum banyak dikaji. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai pH optimum dengan memanfaatkan enzim ligninolitiknya sebagai agen pendegradasi, agar enzim dapat mendegradasi pewarna azo secara optimal dan diharapkan diperoleh hasil

degradasi yang aman dibuang ke lingkungan.

Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Spektrofotometer UV-Vis* Shimadzu UV-1800, *pH-meter* Gemmy, *sentrifuge* Tomy LC-200, *autoclave* Tomy SX-500, *shaker* Gerhardt, *biological safety cabinet*, *waterbath* Memmert, neraca analitik, kawat oase, pembakar spiritus, botol kaca, dan alat-alat gelas. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah jamur *P. flabellatus*, alkohol 70%, pewarna *direct blue*, dekstrosa, natrium nitrat_(s), kalium dihidrogen fosfat_(s), magnesium sulfat heptahidrat_(s), natrium asetat_(s), asam asetat_(l) 0,5 M, aquabides, kapas, *wrapping plastic*, dan aluminum foil.

Prosedur Kerja

Preparasi sampel

Sebanyak 500 mg zat warna *direct blue* dilarutkan ke dalam 500 mL aquabides, kemudian diencerkan hingga konsentrasi 500 ppm. Dari larutan ini dibuat sampel dengan konsentrasi 50 ppm dengan cara mengencerkannya. Larutan standar dibuat dengan variasi konsentrasi 50, 40, 30, 20 dan 10 ppm. Salah satu larutan standar akan diukur absorbansinya untuk menentukan panjang gelombang maksimum pada rentang 550-650 nm dengan menggunakan alat Spektrofotometer UV-Vis.

Preparasi enzim

a. Pembuatan Media Cair Produksi Enzim

Pembuatan media cair dilakukan dengan melarutkan sebanyak 50 gram dekstrosa, 2,06 gram natrium nitrat, 1,2 gram kalium dihidrogen fosfat dan 0,5 gram magnesium sulfat heptahidrat dalam air rebusan kentang, kemudian ditambahkan dengan aquabides hingga volume larutan menjadi 1 L, pH diatur sampai 6. Larutan dituang sebanyak 100

mL ke dalam erlenmeyer 250 mL, ditutup dengan kapas dan kertas sampul. Larutan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media cair didinginkan dan didiamkan selama 24 jam pada suhu kamar (Wuryanti, 2008).

b. Ekstraksi enzim

Ekstraksi enzim dari biakan jamur dalam media cair dilakukan dengan menggunakan larutan buffer asetat 0,2 M pH 4,6 sebanyak 50 mL. Campuran diletakkan di atas *shaker* dengan kecepatan 100 rpm selama 1 jam. Larutan dan substrat didekantasi. Larutan dipindahkan ke dalam tabung sentrifus dan didinginkan dalam lemari pendingin untuk mencegah kerusakan enzim. Larutan selanjutnya disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 6000 rpm pada suhu 4°C (Hanung, 2013). Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar enzim yang digunakan untuk tahap selanjutnya yaitu degradasi pewarna *direct blue*, dan dapat disimpan pada suhu dingin sampai siap digunakan.

1. Penentuan pH optimum degradasi pewarna *direct blue*

Penentuan pH optimum pewarna *direct blue* konsentrasi 50 ppm yang akan didegradasi oleh enzim lignolitik jamur *P. flabellatus* dilakukan dengan mencampurkan enzim dengan pewarna yang telah diatur pada variasi pH 3, 4, 5, 6, 7, 8 dan 9 menggunakan buffer asetat, kemudian didiamkan selama 180 menit, dan diinkubasi pada suhu 50°C. Konsentrasi akhir pewarna *direct blue* diukur menggunakan alat Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

2. Penentuan efisiensi degradasi

Penurunan konsentrasi pewarna *direct blue* ditentukan dengan cara membandingkan konsentrasi yang terdegradasi terhadap konsentrasi awal dan dikalikan 100%. Secara matematis persen efisiensi (%E) dapat dihitung dengan menggunakan rumus (Sukarta, 2013):

$$\%E = \frac{C_a - C_s}{C_a} \times 100\% \quad (1)$$

dengan C_a merupakan konsentrasi awal, C_s merupakan konsentrasi sisa, dan %E merupakan persentase efisiensi degradasi pewarna. Konsentrasi ditentukan dengan mengukur absorbansi zat warna yang telah didegradasi dengan menggunakan alat Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum zat warna azo *direct blue* yang telah diketahui sebelumnya.

Hasil dan Pembahasan

Jamur *P. flabellatus* yang akan digunakan sebagai sumber biakan diremajakan terlebih dahulu di dalam media PDA (*Potato dextrose agar*). Pemiakan atau peremajaan jamur dilakukan untuk mengoptimalkan pertumbuhan jamur setelah masa dorman saat penyimpanan. Pertumbuhan miselium jamur *P. flabellatus* pada proses peremajaan dalam media PDA (*Potato Dextrose Agar*) menghasilkan miselium yang menyebar sempurna pada hari ke-14 inkubasi.

Miselium jamur *P. flabellatus* hasil peremajaan dipindahkan secara aseptik pada media pertumbuhannya yaitu media cair PDB (*Potato dextrose broth*) yang mengandung nutrisi dan mineral yang berperan sebagai penginduksi enzim ligninolitik. Media cair PDB diatur pada pH 6 dengan menggunakan buffer asetat. Hal ini dilakukan untuk mencegah enzim terdenaturasi pada pH di bawah atau di atas pH 6 sehingga enzim tidak dapat mengubah substrat. Enzim yang terdenaturasi dapat disebabkan oleh perubahan pH yang mungkin terjadi selama proses produksi enzim.

Proses produksi enzim ini dilakukan dengan memasukkan potongan media PDA yang telah ditumbuhi miselium, kemudian dikocok di atas *shaker* untuk mempermudah difusi oksigen ke dalam medium sehingga kontak antara media dan inokulum semakin banyak dan homogen (Pangesti, 2012). Setelah dikocok, diperoleh campuran berwarna kuning kecoklatan (Gambar 1). Hal ini

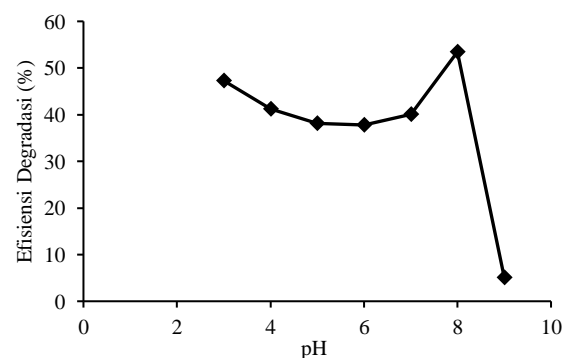
mengindikasikan bahwa enzim ligninolitik dari jamur telah tersekresi.



Gambar 1. Inokulum jamur *P. flabellatus* dalam media cair

Ekstraksi enzim dari biakan jamur dalam media cair dilakukan dengan menambahkan larutan buffer asetat 0,2 M pH 4,6, pengocokan di atas *shaker* dan sentrifugasi. Proses ekstraksi enzim dilakukan untuk memperoleh enzim ligninolitik secara optimal yang terdapat pada jamur. Ekstrak kasar enzim disimpan di lemari pendingin untuk mencegah kerusakan enzim.

Penentuan pH optimum dilakukan dengan mencampurkan enzim dan pewarna *direct blue* konsentrasi 50 ppm, dengan perbandingan 3 : 1 dalam 10 mL, pada variasi pH 3-9, waktu inkubasi 180 menit dan suhu 50°C. Konsentrasi akhir pewarna diukur menggunakan alat Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 621,80 nm. Selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 2.



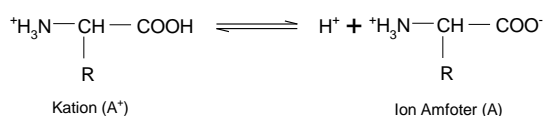
Gambar 2. Efisiensi degradasi pewarna *direct blue* pada variasi pH

Optimasi pH ditunjukkan pada Gambar 4. Efisiensi degradasi menurun pada pH 3

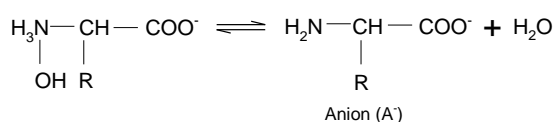
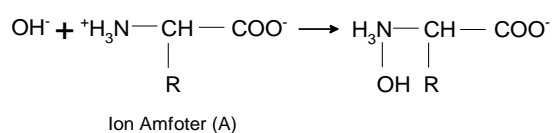
sampai 6, kemudian meningkat pada pH 7 sampai 8, lalu mengalami penurunan yang sangat tajam pada pH 9. Sehingga disimpulkan bahwa optimal terdegradasi pada pH 8

Hasil yang diperoleh berbeda dengan penelitian-penelitian sebelumnya yaitu pH optimum aktivitas enzim lakase berada di daerah asam, dimana dalam penelitian ini diperoleh pH optimum pada pH 8, yaitu daerah basa. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Asih (2016), peningkatan aktivitas dari pH 3 hingga mencapai optimum pada pH 4 dan terus menurun seiring peningkatan nilai pH buffer. Hasil penelitian yang sedikit berbeda dilaporkan oleh Vikineswary (2006), bahwa pH optimum aktivitas lakase yang dilakukan pada rentang pH 4-8 diperoleh optimum pada pH 5 dan menurun pada pH 6 dan 7, kemudian mengalami peningkatan pada pH 8. Hal ini dapat disebabkan karena perbedaan substrat pengujian yang digunakan. Menurut Madhavi (2009) dalam Asih (2016) bahwa pH optimum bergantung pada substrat pengujian. Nilai pH optimum enzim lakase fugi dengan substrat peenol adalah 3-7, sedangkan untuk substrat ABTS berkisar 3-5.

Asam amino dalam keadaan asam :



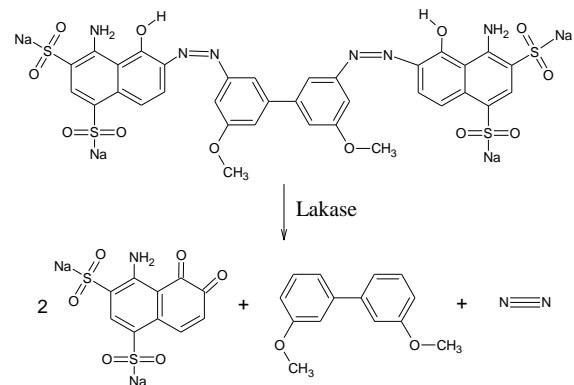
Asam amino dalam keadaan basa :



Gambar 3. Struktur asam amino dalam keadaan asam dan basa (Poedjiadi, 2012)

Penurunan pH yang terjadi pada pH 9 disebabkan karena meningkatnya konsentrasi $[\text{OH}^-]$ yang menyebabkan terganggunya aktivator yang dapat

mempengaruhi aktivitas katalitik sisi aktif enzim, sehingga enzim tidak dapat mengkatalisis penguraian zat warna dalam kondisi ini.



Gambar 4. Ilustrasi Mekanisme Degradasi Pewarna *Direct Blue* oleh Enzim Lakase(Zille, 2005)

Perubahan pH berpengaruh terhadap perubahan ionisasi rantai samping asam amino pada sisi aktif, yang berperan dalam menjaga konformasi sisi aktif enzim dalam mengikat substrat dan mengubah substrat menjadi produk. Kondisi keasaman (pH) berpengaruh terhadap asam amino penyusun protein enzim. Gugus karboksil pada asam amino cenderung mengikat ion H^+ pada suasana asam. Hal ini mengakibatkan gugus karboksil bersifat netral, sedangkan gugus amino bermuatan positif. Enzim pada suasana basa membuat gugus amino melepaskan H^+ sehingga menjadi muatan netral, sedangkan gugus karboksil bermuatan negatif, dapat dilihat pada Gambar 3.

Perubahan ionisasi asam amino penyusun protein enzim mempengaruhi bentuk molekul enzim. Perubahan bentuk molekul dapat mempengaruhi aktivitas katalitik enzim (Nelson, 2008 dalam Asih, 2016). Di samping pengaruh terhadap struktur ion pada enzim, pH rendah dan pH tinggi dapat pula menyebabkan terjadinya proses denaturasi dan ini akan mengakibatkan menurunnya aktivitas enzim (Poedjiadi, 2012).

Proses degradasi yang terjadi karena adanya aktivitas metabolisme dengan

sistem enzimatis yang menyebabkan pewarna dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi alternatif enzim lignolitik *P. flabellatus* melalui aktivitas katalitiknya sehingga pewarna terdegradasi. Palmieri (2000) dalam Sumarko (2013) menyatakan bahwa salah satu dari jenis enzim lignolitik yang dihasilkan jamur *P. flabellatus* yaitu enzim lakase, mampu mendegradasi substrat fenolik melalui proses oksidasi gugus fenol melewati tahap pembentukan senyawa transisi, menghasilkan senyawa kuinon, sebuah derivat diazen dan N₂. Berikut ilustrasi mekanisme degradasi pewarna *direct blue* 53 oleh enzim lakase.

Daftar Pustaka

- Asih, Sri. 2016. Produksi, Purifikasi dan Karakterisasi Lakase dari *Pleurotus ostreatus* (Ho) dan *Schizophyllum commune* (Sc) pada Fermentasi Padat Limbah Lignoselulosa. *Tesis*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Christian V., Rshrivastava, Sukla, D., Modi, M.A dan Vyas, B.R.M. 2005. Degradation Of Xenobiotic Compounds By Lignin-Degradibg White-RotFungi: Enzymology And Mechanism Involved. *Indian Journal OfExperimental Biology*. Vol. 43:301-312.
- Dinatha, Ngurah Mahendra., James Sibarani dan I G. Mahardika. 2013. Degradasi Limbah Tekstil Menggunakan Jamur Lapuk Putih *Daedaleopsis eff. Confragosa*. *Jurnal Bumi Lestari*. Vol. 13 No. 2.
- Fessenden, R.J. dan Fessenden J.S. 1982. *Kimia Organik*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Hanung CD., Osmond R., Risdianto H., Suhardi SH dan Setiadi T. 2013. Optimasi Produksi Enzim Lakase Pada Fermentasi Kultur Padat Menggunakan Jamur Pelapuk Putih *Marasmiussp.* : Pengaruh Ukuran Partikel, Kelembapan dan Konsentrasi Cu. *Jurnal Selulosa*. Vol. 3, No. 2.
- Herlina, Resky. 2016. Adsorpsi Zat Pewarna Azo pada Limbah Pencelupan Benang Sutra Menggunakan Dedak Padi di Kabupaten Wajo. *Skripsi*. Makassar: Universitas Negeri Makassar.
- Montano, J.G. 2007. Combination Of Advanced Oxidation Processes And Biological Treatments For Commercial Reactive Azo Dyes Removal. *Tesis*. Bellaterra: Universitat Autònoma De Barcelona.
- Murni, Sri Wahyu., Siti Diyar Kholisoh., Tanti D.L. dan Petrisia E.M. 2011. Produksi, Karakterisasi dan Isolasi Lipase dari *Aspergillus niger*. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan"*. ISSN 1693-4393.
- Pangesti, Nur Wahyu Indira., Arini Pangastuti dan Estu Retnaningtyas N. 2012. Pengaruh Penambahan Molase pada Produksi Enzim Xilanase oleh Fungi *Aspergillus niger* dengan Substrat Jerami Padi. *Bioteknologi*. Vol. 9 No. 2 : 41-48.
- Poedjiadi, Anna. 2012. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa jamur *P. flabellatus* mampu mendegradasi pewarna azo *direct blue* secara optimal pada pH 8 dengan efisiensi penurunan konsentrasi *direct blue* sebesar 53,4%.

Saran

1. Perlu dilakukan pemurnian enzim lebih lanjut agar diperoleh kriteria enzim dengan kemurnian yang tinggi.
2. Perlu dilakukan pengujian aktivitas enzim yang akan digunakan secara kualitatif dan kuantitatif.

- Sastrawidana, I.D.K., Siti Maryam dan I.N. Sukarta. 2012. Perombakan Air Limbah Tekstil Menggunakan Jamur Pendegradasi Kayu Jenis *Polyporus* Sp Teramobil Pada Serbuk Gergaji Kayu. *Jurnal Bumi Lestari*. Vol. 12, No. 2:382-389.
- Singh, M. P., S. K. Vishwakarma dan A. K. Srivastava. 2013. Bioremediation of *Direct Blue 14* and Extracellular Ligninolytic Enzyme Production by White Rot Fungi: *Pleurotus* Spp. *BioMed Research International*. Volume 2013.
- Sukarta, I Nyoman dan I Putu Sumahandriyani. 2013. Pengaruh konsentrasi Ammonium Sulfat ((NH₄)₂SO₄) Optimasi Jamur Jerami Padi ILS (Isolat Lokal Singaraja) untuk Biodegradasi Zat Warna Azo Jenis *Remazol Red*. *Jurnal Kimia*. 7(1).
- Sumarko, Heru Teguh., Sri Lestari dan Ratna Stia Dewi. 2013. Deodorisasi Limbah Cair Batik Menggunakan Limbah Baglog *Pleurotus ostreatus* dengan Kombinasi Volume dan Waktu Inkubasi Berbeda. *Molekul*. Vol. 8 No. 2.
- Vikineswary, S., Noorlidah Abdullah., M. Renuvathani., M. Sekaran., A. Pandey dan E.B.G. Jones. 2006. Productivity of laccase in Solid Substrate Fermentation of Selected Agro-Residues by *Pycnoporus sanguineus*. *Bioresource Technology*. Vol. 97 : 171-177.
- Widjajanti, Endang., Regina Tutik P dan M. Pranjoto Utomo. 2011. Pola Adsorpsi Zeolit Terhadap Pewarna Azo Metil Merah dan Metil Jingga. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan*. Yogyakarta: Universitas Negeri Yogyakarta.
- Wuryanti. 2008. Pengaruh Penambahan Biotin Pada Media Pertumbuhan Terhadap Produksi Sel *Aspergillus niger*. *Bioma*. Vol. 10, No. 2.
- Yahdiana. 2011. Studi Degradasi Zat warna Tekstil Congo Red dengan Metode Fotokatalitik Menggunakan Suspensi TiO₂. *Skripsi*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Zille, Andrea., Barbara Gornacka., Astrid Rehorek dan Artur Cavaco-Paulo. 2005. Degradation of Azo Dyes by *Trametes villosa* Laccase over Long Periods of Oxidative Conditions. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 71 No. 11.