

## EKSPLORASI BAKTERI TERMOHALOFILIK POTENSIAL PENGHASIL L-ASPARAGINASE SEBAGAI ANTIKANKER DI SUMBER AIR PANAS WAWOLESEA

### EXPLORATION OF POTENTIAL THERMOHALOPHILIC BACTERIA PRODUCING L-ASPARAGINASE AS AN ANTI-CANCER IN WAWOLESEA HOT SPRING

Jamaluddin<sup>1\*</sup>, Alfin<sup>2</sup>, Muzuni<sup>3</sup>, Nur Arfa Yanti<sup>4</sup>

<sup>1,2</sup> Mahasiswa Program Studi Biologi, Fakultas Matematika & Ilmu Pengetahuan Alam, Univ. Halu Oleo

<sup>3</sup>Laboratorium Unit Genetika, Program Studi Biologi, FMIPA, Universitas Halu Oleo

<sup>4</sup>Laboratorium Unit Mikrobiologi, Program Studi Biologi, FMIPA, Universitas Halu Oleo

<sup>1\*</sup> Email corresponding author: [jamaluddinalbuthuni09@gmail.com](mailto:jamaluddinalbuthuni09@gmail.com)

#### ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk memperoleh isolat bakteri termohalofilik penghasil enzim L-asparaginase dari sumber air panas Wawolesea. Bakteri termohalofilik penghasil L-asparaginase asal sumber air panas Wawolesea diperoleh dengan tahapan: survey dan pengukuran parameter lingkungan sumber air panas Wawolesea; isolasi bakteri pada media NA (*Nutrient Agar*) dan seleksi bakteri penghasil enzim L-asparaginase pada media M-9. Hasil isolasi menunjukkan adanya 52 isolat bakteri termohalofilik dan 14 isolat diantaranya mampu menghasilkan L-asparaginase.

**Kata Kunci:** Bakteri Termohalofilik, L-Asparaginase, Sumber Air Panas Wawolesea

#### ABSTRACT

The objective of this study was to obtain isolates of thermohalophilic bacteria producing L-asparaginase enzyme from Wawolesea hot spring. L-asparaginase producing thermohalophilic bacteria from the Wawolesea hot spring are obtained by steps; survey and environmental parameters measurement of Wawolesea hot spring, isolation of bacteria on NA (*Nutrient agar*) medium and selection of L-asparaginase producing bacteria on M-9 medium. The isolation results showed 52 isolates of thermohalophilic bacteria and 14 isolates of them capable of producing L-asparaginase.

**Keywords:** Thermohalophilic bacteria, L-asparaginase, Wawolesea hot spring

#### PENDAHULUAN

Kanker merupakan salah satu penyakit penyebab kematian utama di seluruh dunia. Data *GLOBOCAN, International Agency for Research on Cancer (IARC)* menunjukkan bahwa pada tahun 2012 angka kematian akibat kanker mencapai 8.201.575 (Primadi, 2015). Selain itu, secara Nasional prevalensi penyakit kanker pada penduduk semua umur di Indonesia pada tahun 2013

adalah sebesar 1,4% atau diperkirakan mencapai 347.792 jiwa pada semua provinsi (Kementrian Kesehatan RI, 2015).

Tingginya prevalensi kanker di Indonesia menyebabkan peningkatan angka kemiskinan dan menghambat pembangunan yang berkelanjutan. Selain itu pula, tingginya prevalensi kanker menyebabkan menurunnya angka harapan hidup (AHH) yang secara signifikan akan mempengaruhi pertumbuhan ekonomi.

Data WHO (2002) menunjukkan bahwa setiap peningkatan 10% dari angka harapan hidup (AHH) akan meningkatkan pertumbuhan ekonomi minimal 0,3-0,4% pertahun. Oleh karena itu, solusi penanganan penyakit kanker harus lebih maksimal.

Dewasa ini, penanganan kanker di Indonesia dilakukan dengan menggunakan obat-obatan dan operasi. Penggunaan obat-obatan di Indonesia masih belum mampu mengatasi permasalahan penyakit kanker (Kementrian Kesehatan RI, 2015). Oleh karena itu, penanganan kanker membutuhkan alternatif lain yang lebih maksimal. Saat ini, di beberapa negara telah mengembangkan L-asparaginase sebagai agen terapi kanker. Akan tetapi pemanfaatan L-asparaginase untuk penggunaan terapi kanker belum diproduksi di Indonesia, sehingga masih diperoleh penggunaan produksi L-asparaginase dari luar negeri (Aprigiyonis, 2011). Oleh sebab itu, kegiatan eksplorasi sumber L-asparaginase penting untuk dilakukan.

L-asparaginase adalah salah satu jenis enzim hidrolase yang mengkatalisis reaksi hidrolisis L-asparagin menjadi asam aspartat dan amonia (Masri, 2014). L-asparaginase merupakan enzim yang digunakan sebagai agen kemoterapi pada pengobatan kanker sistem limfatik, ALL (*Acute Lymphoblastic Leukimia*), dan melanosarkoma (Singh *et al.*, 2013). Kemampuan L-asparaginase sebagai agen anti kanker karena L-asparaginase

mampu mendepleksi jumlah asparagin yang bersifat esensial terhadap pertumbuhan sel kanker (Nagarethinam *et al.*, 2012).

Enzim L-asparaginase terdistribusi secara luas pada sel eukariotik dan prokariotik. E-Moharam *et al* (2010) melaporkan bahwa jumlah L-asparaginase dihasilkan dalam jumlah yang besar pada mikroorganisme *Candida utilities*, *Erwinia cartova*, *Enterobacter aerogenes*, *E.coli* dan *Bacillus* sp. Akan tetapi pada saat ini, yang dituntut dalam industri berbasis enzim adalah kapabilitas dan stabilitas dari enzim tersebut. Organisme yang dapat memproduksi enzim dengan kapabilitas dan stabilitas tinggi yaitu organisme yang hidup pada kondisi ekstrim seperti suhu dan salinitas tinggi (Sianturi, 2008).

Bakteri termohalofilik merupakan salah satu kelompok bakteri yang hidup pada suhu dan salinitas tinggi. Bakteri termohalofilik dapat ditemukan pada lingkungan bersuhu dan salinitas tinggi misalnya pada pasca erupsi gunung berapi dan sumber air panas yang bersalinitas. Kebanyakan bakteri termohalofilik tumbuh pada suhu lebih dari 45°C dan kadar salinitas diantara 1%-5% (Madigan, 2000). Patta dkk. (2013) melaporkan bahwa bakteri termofilik *Bacillus licheniformis* dari sumber air panas Sulawesi Selatan dapat memproduksi L-asparaginase.

Sulawesi Tenggara memiliki panas bumi yang berasosiasi dengan lingkungan

non-vulkanik (Hermawan dkk., 2011). Oleh karena itu Sulawesi Tenggara berpotensi untuk menghasilkan sumber air panas. Salah satu sumber panas bumi yang ada di Sulawesi Tenggara yaitu sumber air panas Wawolesea di Konawe Utara. Sumber air panas Wawolesea terletak diantara pegunungan kapur dengan mata air yang mengeluarkan air panas dengan temperatur dan salinitas tinggi. Umar dkk (2010) melaporkan bahwa sumber air panas Wawolesea memiliki temperatur berkisar antara 48-53°C dan berasa asin. Oleh karena itu, sumber air panas Wawolesea dapat digunakan sebagai sumber daya lokal diperolehnya bakteri termohalofilik penghasil enzim L-asparaginase. Berdasarkan latar belakang tersebut maka penelitian “Eksplorasi Bakteri Termohalofilik Potensial Penghasil L-asparaginase di Sumber Air Panas Wawolesea sebagai Anti Kanker” penting dilakukan sebagai langkah awal dalam pengembangan sains untuk penanganan penyakit kanker di Indonesia.

## **METODE PENELITIAN**

### **Bahan dan Alat**

Bahan baku yang digunakan adalah NA (*Nutrient Agar*) sebagai media isolasi bakteri termohalofilik, media M-9 sebagai media selektif bakteri termohalofilik potensial penghasil L-asparaginase. Alat-alat yang digunakan adalah GPS *Garmin*, laminar *air-flow*, autoklaf, cawan petri, *erlenmeyer*, mikropipet dan tip serta inkubator.

Kegiatan isolasi dan seleksi bakteri termohalofilik potensial penghasil L-asparaginase diawali dengan survey dan pengukuran parameter lingkungan sumber air panas Wawolesea yang meliputi pengukuran suhu, salinitas dan pH air.

### **Survey dan Pengukuran Parameter Lingkungan Sumber Air Panas Wawolesea**

Survey lokasi pengambilan sampel sebagai sumber isolat bakteri termohalofilik dilakukan untuk menentukan zona pengambilan sumber isolat. Penentuan zona pengambilan sampel sebagai sumber isolat dilakukan berdasarkan adanya perbedaan suhu dan salinitas lingkungan. Penentuan titik koordinat lokasi pengambilan sampel dilakukan menggunakan GPS *Garmin*.

### **Isolasi Bakteri Termohalofilik**

Sumber isolat bakteri termohalofilik diperoleh dari air dan sedimen sumber air panas Wawolesea. Isolasi bakteri termohalofilik potensial penghasil L-asparaginase menggunakan dua pengenceran yaitu pengenceran 90 mL dan 9 mL. Pengenceran 90 mL dihitung sebagai pengenceran  $10^{-1}$  untuk sampel sedimen dan 9 mL dihitung sebagai pengenceran  $10^{-1}$  untuk sampel air. Sampel sedimen diambil sebanyak 10 gram sedangkan sampel air diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan kedalam pengencer  $10^{-1}$ . Isolasi bakteri termohalofilik menggunakan metode tuang (*Pour Plate*) dengan tiga pengencer terakhir diambil masing-masing 1 mL dan

dituang kedalam cawan petri. Kemudian media NA (*Nutrient Agar*) dituang kedalam masing-masing cawan petri yang berisi sampel. Setelah itu, dihomogenkan membentuk angka delapan dan diinkubasi pada suhu 48°C, 50°C dan 54°C selama 24 jam. Selanjutnya, bakteri yang tumbuh dimurnikan berdasarkan koloni yang berbeda.

### Seleksi Bakteri Termohalofilik Potensial Penghasil L-asparaginase

Seleksi bakteri potensial penghasil L-asparaginase dilakukan secara *in vitro*. Isolat bakteri termohalofilik asal sumber air panas Wawolesea yang telah dimurnikan ditumbuhkan pada media M-9 dengan menggunakan teknik cawan gores. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 48°C, 50°C dan 54°C selama 24 jam. Bakteri yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan L-asparaginase akan tumbuh dan dapat mengubah media M-9 dari warna kuning menjadin warna pink (Talluri *et al*, 2013).

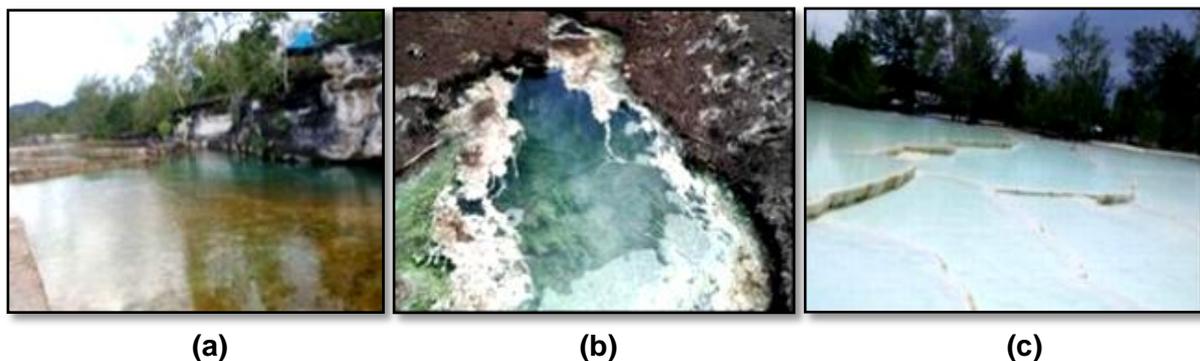
## HASIL DAN DISKUSI

### Gambaran Umum Lokasi Penelitian

Lokasi pengambilan sampel sebagai sumber isolat bakteri

termohalofilik penelitian ini dilakukan di sumber air panas Wawolesea. Sumber air panas Wawolesea adalah sumber air panas yang berada di Desa Wawolesea Kecamatan Lasolo, Kabupaten Konawe Utara, Sulawesi Tenggara. Sumber air panas Wawolesea memiliki tipe endapan *travertin* atau endapan batu kapur yang berwarna kuning kecoklatan dan berwarna putih. Umar dkk. (2010) menyatakan, endapan yang terbentuk pada sumber air panas Wawolesea tergolong endapan *travertin* yang banyak mengandung unsur-unsur mineral. Keberadaan unsur-unsur mineral tersebut dapat menjadi sumber nutrisi bagi kehidupan bakteri.

Lokasi pengambilan sampel dilakukan di tiga zona dengan parameter lingkungan yang berbeda. Sampel diambil pada zona A dengan titik koordinat S 3° 41' 53.210", E 122° 18' 04.92", zona B di titik koordinat S 3° 41' 54.90", E 122° 18' 07.54" dan zona C pada titik koordinat S 3° 41' 53.55", E 122° 18' 03.06". Lokasi pengambilan sampel disajikan pada Gambar1.



**Gambar 1.** Lokasi pengambilan sumber isolat; (a) zona A, (b) zona B, (c) zona C

Gambar 1 menunjukkan bahwa zona pengambilan sampel sebagai sumber isolat bakteri termohalofilik tampak memiliki perbedaan. Zona A memiliki endapan berwarna kekuningan sedangkan zona B dan C memiliki endapan berwarna putih. Zona A dan C merupakan zona yang jauh dari sumber mata air, sedangkan zona B tepat di sekitar mata air yang mendidih. Hal tersebut menyebabkan suhu air dan udara pada zona B lebih tinggi dibandingkan dengan zona A dan C. Selain itu, zona B memiliki jarak yang dekat dengan laut dibandingkan dengan zona A dan C sehingga pada zona B memiliki kadar salinitas yang tinggi dibandingkan dengan zona A dan C. Hasil pengukuran parameter suhu, salinitas dan pH lingkungan air panas Wawolesea pada tiap zona disajikan pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil pengukuran parameter lingkungan sumber air panas Wawolesea

No	Zona	Titik	Parameter Lingkungan		
			Suhu air (°C)	Salinitas (‰)	pH air
1	2	3	4	6	7
1.	A	1	48	15	5,78
		2	48	15	5,78
		3	48	15	5,78
2.	B	1	54	16	5,91
		2	54	16	5,91
		3	54	16	5,91
3.	C	1	50	15	5,84
		2	50	15	5,84
		3	50	15	5,84

Suhu pertumbuhan bakteri dapat dibedakan menjadi suhu minimum, optimum dan maksimum. Oleh karena itu, Pelczar *et al.* (1988) membagi tiga kelompok bakteri berdasarkan perbedaan

suhu pertumbuhannya, yaitu kelompok bakteri psikrofilik atau kelompok bakteri yang tumbuh pada kisaran suhu 0°C-20°C, kelompok bakteri mesofilik yaitu kelompok bakteri yang tumbuh pada kisaran suhu 21°C-40°C dan kelompok bakteri termofilik yaitu kelompok bakteri yang tumbuh pada suhu di atas 40°C. Hasil pengukuran suhu pada Tabel 1 menunjukkan bahwa di zona A hingga zona C memiliki suhu air berkisar antara 48°C sampai 54°C. Data pengukuran suhu tersebut dapat menunjukkan bahwa bakteri yang tumbuh di lingkungan sumber air panas Wawolesea (zona A hingga zona C) tergolong ke dalam kelompok bakteri termofilik.

Parameter lingkungan lain yang diukur pada penelitian ini adalah salinitas. Salinitas dapat mempengaruhi tekanan osmotik pada sel bakteri, sehingga salinitas dapat menentukan daya hidup bakteri. Hasil pengukuran salinitas pada Tabel 1 menunjukkan bahwa zona A dan C memiliki kadar salinitas air sebesar 15‰ atau setara dengan 1,5% sedangkan pada zona B diperoleh kadar salinitas air panas Wawolesea sebesar 16 ‰ atau setara dengan 1,6%. Data pengukuran salinitas tersebut menunjukkan bahwa bakteri yang hidup di sumber air panas Wawolesea (zona A hingga zona C) tergolong bakteri yang tahan terhadap kadar salinitas atau bakteri halofilik. Hal ini sesuai dengan pernyataan Madigan *et al.* (2000) bahwa bakteri yang dapat tumbuh pada lingkungan dengan kadar salinitas 1-5%

merupakan bakteri halofilik ringan. Oleh karena itu, berdasarkan data parameter suhu dan salinitas dapat dikatakan bahwa bakteri yang hidup di sumber air panas Wawolesea adalah kelompok bakteri termohalofilik.

Parameter lingkungan yang juga diukur dalam penelitian ini adalah pH. Potensial hidrogen (pH) didefinisikan sebagai aktivitas ion hidrogen (H<sup>+</sup>) yang terlarut. Potensial hidrogen (pH) lingkungan sangat mempengaruhi keberadaan suatu bakteri di lingkungan. Hasil pengukuran pH pada Tabel 1 menunjukkan bahwa zona A hingga zona C memiliki pH air sebesar 5,78, 5,91 dan 5,84. Data pengukuran pH tersebut dapat menunjukkan bahwa bakteri dapat tumbuh

atau hidup di sumber air panas Wawolesea. Menurut Lay (1994) bakteri memiliki pH pertumbuhan berkisar antara 4-9.

**Seleksi bakteri termohalofilik asal sumber air panas Wawolesea Penghasil L-asparaginase pada media M-9**

Sebanyak empat belas isolat bakteri termohalofilik asal sumber air panas Wawolesea dapat berpotensi menghasilkan L-asparaginase. Kemampuan tersebut, ditandai dengan adanya perubahan media M-9 dari warna kuning menjadi warna pink hingga ungu tua di sekitar koloni bakteri. Hasil seleksi bakteri termohalofilik penghasil L-asparaginase disajikan pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil seleksi bakteri penghasil L-asparaginase secara kualitatif pada media M-9

No	Sumber isolat	Nama isolat	Aktivitas hidrolisis L-asparaginase
1	2	5	6
1.	Sumber air panas Wawolesea pada Zona A, sampel air, titik 1	AAT1.1	+++
		AAT1.2	-
		AAT1.3	+
		AAT1.4	++
2.	Sumber air panas Wawolesea pada Zona A, sampel air, titik 3	AAT3.1	-
		AAT3.2	+++
		AAT3.3	-
		AAT3.4	-
3.	Sumber air panas Wawolesea pada Zona A, sampel sedimen, titik 1	AST1.1	-
		AST1.2	++
		AST1.3	-
4.	Sumber air panas Wawolesea pada Zona A, sampel sedimen, titik 2	AST2.1	-
		AST2.2	+
		AST2.3	-

**Lanjutan Tabel 2**

5.	Sumber air panas Wawolesea pada Zona A, sampel sedimen, titik 3	AST3.1	+++
		AST3.2	-
		AST3.3	+++
6.	Sumber air panas Wawolesea pada Zona B, sampel air, titik 1	BAT1.1	-
		BAT1.2	-
7.	Sumber air panas Wawolesea pada Zona B, sampel air, titik 2	BAT2.1	-
		BAT2.2	-

8.	Sumber air panas Wawolesea pada Zona B, sampel air, titik 3	BAT3.1	-
		BAT3.2	-
		BAT3.3	-
		BAT3.4	-
9.	Sumber air panas Wawolesea pada Zona B, sampel sedimen, titik 1	BST1.1	-
		BST1.2	-
10.	Sumber air panas Wawolesea pada Zona B, sampel sedimen, titik 2	BST2.1	-
		BST2.2	-
11.	Sumber air panas Wawolesea pada Zona B, sampel sedimen, titik 3	BST3.1	-
		BST3.2	-
		BST3.3	-
12.	Sumber air panas Wawolesea pada Zona C, sampel air, titik 1	CAT1.1	+++
		CAT1.2	-
		CAT1.3	-
		CAT1.4	+
		CAT1.5	-
13.	Sumber air panas Wawolesea pada Zona C, sampel air, titik 2	CAT2.1	-
		CAT2.2	++
		CAT2.3	-
		CAT2.4	+
14.	Sumber air panas Wawolesea pada Zona C, sampel air, titik 3	CAT3.1	-
		CAT3.2	++
		CAT3.3	-
		CAT3.4	+++
15.	Sumber air panas Wawolesea pada Zona C, sampel sedimen, titik 1	CST1.1	-
		CST1.2	-
		CST2.1	-
		CST2.2	-
		CST2.3	-
		CST3.1	-
		CST3.2	-

**Keterangan;**

- : Tidak memiliki aktivitas L-asparaginase
- + : Memiliki aktivitas L-asparaginase rendah
- ++ : Memiliki aktivitas L-asparaginase sedang
- +++ : Memiliki aktivitas L-asparaginase tinggi

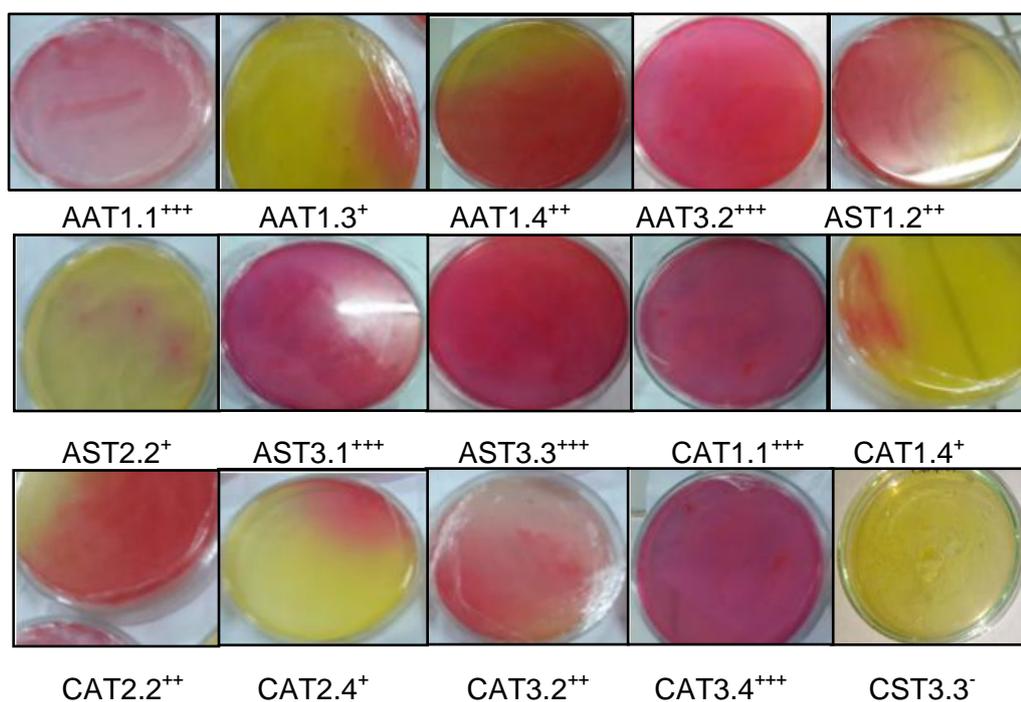
Hasil seleksi secara kualitatif pada Tabel 2 menunjukkan bahwa keempat belas isolat bakteri termohalofilik asal sumber air panas Wawolesea memiliki aktivitas L-asparaginase yang berbeda-beda. Aktivitas L-asparaginase yang berbeda pada masing-masing isolat bakteri termohalofilik dilihat dari kemampuannya mengubah media yang berwarna kuning menjadi warna pink hingga ungu tua. Isolat bakteri yang mampu mengubah semua warna kuning media M-9 menjadi warna ungu, secara

kualitatif dikategorikan memiliki aktivitas L-asparaginase tinggi. Isolat bakteri yang hanya mampu mengubah sebagian warna kuning media M-9 menjadi pink dikategorikan memiliki aktivitas L-asparaginase yang sedang dan rendah. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Yamaguchi (1997) bahwa semakin berwarna ungu media M-9 menunjukkan bahwa banyaknya jumlah amonia pada media tersebut sebagai produk dari hidrolisis L-asparagin oleh L-asparaginase. Visualisasi aktivitas L-

asparaginase bakteri termohalofilik asal sumber air panas Wawolesea pada media M-9 disajikan pada Gambar 1.

Hasil seleksi secara kualitatif pada Tabel 1 menunjukkan bahwa isolat bakteri dari Zona B dengan suhu lingkungan 54°C tidak menghasilkan L-asparaginase. Hal tersebut diduga karena sisi aktif L-asparaginase rusak pada suhu 54°C atau

gen L-asparaginase tidak terekspresi pada isolat bakteri tersebut. Patta dkk. (2013) menyatakan bahwa sisi aktif enzim tersusun atas protein sehingga memiliki sifat mudah rusak akibat kenaikan suhu atau panas. Oleh karena itu, dengan rusaknya sisi aktif enzim L-asparaginase maka L-asparagin pada media M-9 tidak terhidrolisis.



**Keterangan:**

- : Tidak memiliki aktivitas L-asparaginase
- + : Memiliki aktivitas L-asparaginase rendah
- ++ : Memiliki aktivitas L-asparaginase sedang
- +++ : Memiliki aktivitas L-asparaginase tinggi

**Gambar 1.** Visualisasi aktivitas L-asparaginase bakteri termohalofilik asal sumber air panas Wawolesea pada media M-9

Tabel 2 dan Gambar 2 secara kualitatif menunjukkan bahwa isolat dengan aktivitas tinggi yaitu isolat AAT1.1, AAT3.2, AST3.1, AST3.3, CAT1.1 dan CAT3.4 sedangkan isolat dengan aktivitas rendah yaitu isolat AAT1.3, AST2.2,

CAT1.4 dan isolat CAT2.4. Perbedaan aktivitas L-asparaginase tersebut diduga dipengaruhi oleh jumlah inokulum yang digoreskan pada media uji (M-9). Pudjiraharti dkk. (1997) menyatakan bahwa jumlah inokulum suatu mikroba

dapat mempengaruhi tinggi rendahnya aktivitas enzim yang dihasilkan pada suatu media.

Hasil seleksi pada Tabel 2 dan Gambar 2 menunjukkan ada 10 isolat dari sampel air dan 4 isolat dari sampel sedimen yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan L-asparaginase. Banyaknya isolat bakteri dari sampel air yang memiliki kemampuan menghasilkan L-asparaginase dibandingkan dengan isolat bakteri dari sampel sedimen, karena pada sampel air diduga banyak tersedia kation-kation yang berperan sebagai aktivator enzim L-asparaginase dibandingkan pada sedimen. Sandhika dkk. (2015) menyatakan bahwa sedimen dapat berperan sebagai sumber kation yang akan dilepaskan ke badan air sehingga kation dalam badan air meningkat dibandingkan dengan sedimen. Oleh karena itu, secara alamiah isolat bakteri dari sampel air lebih berpotensi untuk menghasilkan L-asparaginase. Selain itu, Umar dkk. (2010), menyatakan bahwa sumber air panas Wawolesea tergolong sumber air panas yang bertipe alkali klorida. Sumber air panas tipe alkali klorida adalah tipe sumber air panas yang memiliki kandungan unsur Cl, Na, K yang tinggi (Septadji, 2009). Dengan demikian, unsur-unsur tersebut dapat berperan sebagai kation aktivator L-asparaginase. Hal ini didukung pula oleh Jha *et al.* (2012) yang menyatakan bahwa ion  $Ca^{2+}$  dan  $K^+$  dapat berperan sebagai aktivator L-asparaginase.

## SIMPULAN

Empat belas isolat bakteri termohalofilik asal sumber air panas Wawolesea memiliki kemampuan untuk menghasilkan L-asparaginase.

## SARAN

Perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut mengenai uji aktivitas L-asparaginase secara kuantitatif pada keempat belas isolat bakteri termohalofilik potensial penghasil L-asparaginase asal sumber air panas Wawolesea.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kemenristekdikti atas bantuan dana penelitian melalui Program Kreativitas Mahasiswa 2017.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aprigiyonis, F.E, 2011, Kloning dan Sekuensing Gen L-Asparaginase yang Berasal dari Bakteri *Erwinia raphontici* dan *Bacillus circulans* di *E. coli*, *Skripsi*, Universitas Indonesia, Depok.
- E-Moharam, M., Gamal-Eldeen, A. M. and El-Sayed, S. T., 2010, Production, Immobilization and Anti Tumor Activity of L-asparaginase of *Bacillus* sp. R36, *Journal of American Science*, **6(8)**: 131-137
- Hermawan, D., Sugianto, A., Yushantarti, A., Dahlan, Munandar, A. dan Widodo, S., 2011, Kajian Panas Bumi Non-Vulkanik Daerah Sulawesi Bagian Tenggara, *Prosiding Hasil Kegiatan Pusat Sumber Daya Geologi*, Pusat Sumber Daya Geologi.
- Jha, S. K., Pasrija, D., Sinha, R. K., Singh, H. R., Nigam, V. K. and Vidyarthi, A. S., 2012, Microbial L-Asparaginase; A Review on

- Current Scenario and Future Prospects, *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, **3(9)**: 3076-3090
- Kementrian Kesehatan RI., 2015, *Situasi Penyakit Kanker*, Pusat Data dan Informasi, Jakarta Selatan.
- Lay, W.B., 1994, *Analisa Mikroba di Laboratorium Edisi I*, PT. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., dan Parker, J., 2000. *Brock Biology Microorganism*, New Jersey, Prentice Hall Inc.
- Masri M, 2014. Identifikasi Molekuler Bakteri Penghasil Enzim L-Asparaginase dari Alga Coklat *Sargasum* sp, *J Teknosains* **8(2)**: 241-253
- Patta, A. M., Ahmad, A. dan Natsir, H., 2013, Produksi, Pemurnian Parsial, dan Karakterisasi L-asparaginase dari Bakteri Termofilik *Bacillus Licheniformis* Strain Hsa3-1a, *Tesis*, Universitas Hasanuddin, Makasar.
- Pelczar, M. J., dan Chan, E. C., 1988, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Pudjiraharti, S., Udin, L. Z. dan Karossi, A. T., 1997, Produksi Alfa-Amilase oleh *Aspergillus oryzae* dalam Media Pati Sagu (*Metroxylon* sp.), *JKT1*, **7**: 1-2
- Sandhika, I. M. G. S., Ruhmayati, B. dan Atikah, 2015, Peranan Sedimen Perairan Outlet DAS Sumber Brantas Terhadap Ketersediaan  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$  dan Boron dalam Badan Air sebagai Sumber Air Irigasi, *Jurnal Natural B.*, **3(1)**: 1-7
- Septadji, N. M., 2009, Karakterisasi Reservoir Panas Bumi, *Training Advanced Geothermal Reservoir Engineering*, ITB, Bandung.
- Sianturi, D. C., 2008, Isolasi Bakteri dan Uji Amilase Termofil Kasar dari Sumber Air Panas Panen Sibirubiru Sumatera Utara, *Tesis*, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Singh, Y. R., Kumar, V., Gundampati, S., Jagannadham and S.K., Srivastava, 2013, Extracelullar L-asparaginase from a Protease-Deficient *Bacillus aryabhatai* ITBHU02: Purification, Biochemical Characterization, and Evaluation of Antineoplastic Activity In Vitro, *Appl Biochem Biochemol*, DOI 10.1007/s12010-013-0455-0
- Talluri, V. P., Bhavana, M. and Rajagopal, S. V., 2013, Isolation and Screening of L- Asparaginase Producing Bacteria from Visakhapatnam Soil Samples, *Journal of Pharmaceutical, Chimiical and Biological Science* **3(4)**: 1121-1125
- Umar, E. P., Tonggiroh, A. dan Irfan, U. R., 2010, Manifestasi Panas Bumi Daerah Barasanga Kabupaten Konawe Utara Provinsi Sulawesi Tenggara, *artikel tidak terpublikasi*, Universitas Hasanudin, Makasar.
- Yamaguchi, K., 1997, Instrumental Molecular Structure of the Zwitterionic From of Phenolsulfonphthalein Achievements, *Journal Anal. Sci*, **13**; 4-5