

## **PREDIKSI ASPEK EVOLUSI XANTOFIL PADA *EXIGUOBACTERIUM SP.* YANG BERASOSIASI DENGAN *HALIMEDA MACROLOBA*, HASIL ISOLASI DARI PERAIRAN PULAU MENJANGAN KECIL, KARIMUNJAWA**

**Wiwik Astuti<sup>1\*</sup>, Ocky K. Radjasa<sup>2</sup>, Ferry F. Karwur<sup>1</sup>, dan Ferdy S. Rondonuwu<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Magister Biologi – Universitas Kristen Satya Wacana  
Jl. Diponegoro No. 52-60 Salatiga Indonesia 50711

<sup>2</sup>Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan – Universitas Diponegoro  
Jl. Prof. H. Soedharto, S.H., Tembalang Semarang 50275  
E-mail korespondensi: astutiwiwik11@yahoo.com

**Abstrak:** Xantofil merupakan oksikarotenoid yang memiliki kemampuan sebagai fotoprotektor, sehingga merupakan senyawa antioksidan yang potensial. Sebarannya yang luas dari tumbuhan tingkat tinggi hingga organisme tingkat rendah, termasuk pada bakteri, menyebabkan xantofil mudah didapat, terlebih lagi dengan sifat kepolarannya, membuat pigmen oksikarotenoid ini relatif mudah untuk diisolasi dari senyawa karoten lain. 3 jenis xantofil, yaitu dinosantin, P457, dan diadinokrom yang teridentifikasi dari *Exiguobacterium* sp. MK\_HM, bakteri yang berasosiasi dengan karang *Halimeda macroloba*, hasil isolasi dari perairan Pulau Menjangan Kecil, Karimunjawa, memiliki kesamaan dengan xantofil yang dihasilkan oleh beberapa Dinoflagellata. Hal ini dimungkinkan karena efek asosiasi sekunder yang dilakukan inangnya, *Halimeda macroloba* dengan Dinoflagellata tertentu.

**Kata Kunci:** karotenoid, xantofil, *Exiguobacterium*

### **PENDAHULUAN**

Karotenoid merupakan senyawa pigmen multi manfaat yang telah banyak diketahui, memiliki warna yang khas dari kuning, oranye, hingga merah. Karotenoid banyak ditemukan secara alami pada berbagai sayur, buah-buahan, beberapa organisme laut dan mikroorganisme. Karotenoid biasanya dikelompokkan berdasarkan jumlah rantai karbonnya menjadi C<sub>30</sub> (Britton dkk., 1996; Mijts dkk., 2004), C<sub>40</sub> (Mijts dkk., 2004), dan C<sub>50</sub> (Britton dkk., 1995<sup>b</sup>; Mijts dkk., 2004). Mayoritas karotenoid berupa tetraterpena yang tersusun oleh 8 isoprena yang lebih dikenal dengan  $\beta$ -karoten (Britton dkk., 1995<sup>a</sup>). Senyawa kimia karotenoid umumnya terdiri dari 40 rantai karbon (C<sub>40</sub>), namun adapula karotenoid yang memiliki rantai karbon lebih panjang seperti C<sub>50</sub>, yang merupakan bakteriuroberin (Britton dkk., 1995<sup>b</sup>), sedangkan karotenoid triterpena dengan rantai karbon lebih pendek seperti C<sub>30</sub>, contohnya apokarotenoid (Britton dkk., 1996).

Karakteristik karotenoid ditentukan oleh konjugasi rantai polyena penyusunnya. Rantai polyena menggambarkan kromofor yang menentukan kadar warna karotenoid (Britton, 1996; Britton dkk., 1995<sup>a</sup>). Rantai polyena juga bertanggung jawab atas ketidakstabilan karotenoid yang disebabkan oleh oksidasi karena udara bebas, asam kuat, reagen, suhu

tinggi dan cahaya, khususnya yang diperlukan saat isolasi (Liaaen-Jensen, 1995).

Dalam jaringan tumbuhan, karotenoid berperan sebagai pigmen aksesoris (Holt dkk., 2005) dan fotoprotektor (Cazzonelli, 2011). Sebagai pigmen aksesoris, karotenoid berfungsi untuk menangkap energi cahaya dengan panjang gelombang yang tidak dapat ditangkap klorofil, kemudian ditransfer ke klorofil, dan digunakan untuk fotosintesis (Holt dkk., 2005). Sebagai fotoprotektor, karotenoid berperan untuk memadamkan singlet oksigen yang terbentuk karena fotosensitasi dari klorofil. Singlet oksigen merupakan radikal bebas yang sangat berbahaya, karena memiliki energi yang besar. Karotenoid akan mengubah singlet oksigen tersebut menjadi triplet oksigen yang lebih stabil (Cazzonelli, 2011). Pada tumbuhan, sintesis karotenoid terjadi di kloroplas (Joyard dkk., 2009; Shumskaya dkk., 2012).

Hewan tidak mampu mensintesis karotenoid sebagaimana halnya tumbuhan, namun beberapa jenis udang dan ikan bisa mengkonversikan karotenoid dari jenis satu ke jenis lainnya misalnya dari jenis karotenoid tertentu menjadi astaxantin (Guerin dkk., 2003). Umumnya hewan mengkonsumsi karotenoid untuk membentuk vitamin A (Cazzonelli, 2011). Pengecualian pada serangga,

yang memperoleh kemampuan mensintesis karotenoid melalui transfer gen secara horisontal dari jamur (Moran dan Jarvik, 2010; Altincicek dkk., 2012).

Beberapa jenis karotenoid juga dihasilkan oleh mikroorganisme seperti mikroalga dan bakteri. Jenis karotenoid tersebut antara lain zeasantin, dihidroxiastaxantin, astaxantin, cantaxantin, dan beberapa jenis karotenoid lain yang belum teridentifikasi dihasilkan oleh bakteri yang tergolong *Deinococcus*, *Exiguobacterium*, dan *Flectobacillus* (Asker dkk., 2012). Studi yang dilakukan Balraj dkk. (2014) melaporkan bahwa karotenoid murni yang diisolasi dari bakteri mengandung zat antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen lain. Karena sifatnya yang alami, tidak mengenal musim serta memiliki produktivitas tinggi, karotenoid yang dihasilkan mikroorganisme sangat potensial untuk dijadikan pengganti pewarna aditif maupun bioaktif yang diekstrak dari tumbuhan atau hewan (Indra Arulselvi dkk., 2014) sehingga mengurangi kerusakan alam akibat eksploitasi yang berlebihan.

Dalam tubuh manusia, karotenoid memiliki peran penting bagi kesehatan, antara lain sebagai prekursor vitamin A, antikanker, antioksidan, mengatasi rabun senja, katarak dan penurunan *macula*, serta xerofthalmia, maupun terapi eritropoietik protoporfiria (Limantara, 2008). Di dalam plasma darah manusia, karotenoid non-polar, seperti  $\beta$ -karoten,  $\alpha$ -karoten, atau likopen, diedarkan oleh *very low density lipoprotein (VLDLs)* dan *low density lipoprotein (LDLs)*; karotenoid polar seperti zeasantin dan lutein diedarkan oleh *LDLs* dan *high density lipoprotein (HDLs)*; sedangkan astaxantin ditransportasikan oleh lipoprotein (Østerlie, 2000). Sintesis karotenoid secara komersial utamanya dilakukan untuk keperluan nutrisi, suplemen makanan, dan pewarna alami makanan (Spolaore dkk., 2006). Beberapa dekade lalu angka populasi manusia yang mengalami defisiensi vitamin A di dunia cukup signifikan, menyebabkan penelitian karotenoid terfokus pada pro-vitamin A karoten. Sekarang penelitian beralih pada karotenoid jenis lain, khususnya oksikarotenoid (Asker dkk., 2012) atau yang lebih dikenal sebagai xantofil.

### **XANTOFIL (OKSIKAROTENOID)**

Xantofil merupakan bagian dari karotenoid selain karoten. Struktur molekuler karoten merupakan senyawa karotenoid murni terdiri dari hidrokarbon, sedangkan xantofil merupakan karotenoid yang memiliki gugus oksigen

(oksikarotenoid) (Asker dkk., 2012) (Gambar 1). Xantofil mengandung oksigen sebagai grup hidroksil dan atau sebagai pasangan atom hidrogen yang digantikan oleh atom oksigen yang berperan sebagai jembatan (*epoxide*). Oleh sebab itu xantofil lebih polar dibandingkan dengan hidrokarbon murni (Parker, 1996). Perbedaan ini memudahkan pemisahan xantofil dari berbagai jenis karoten dalam kromatografi. Kelompok xantofil meliputi lutein (Khachik dkk., 1991; Yang dkk., 1998; Jahns dan Holzwarth, 2012), zeasantin (Khachik dkk., 1991; Yang dkk., 1998), violaxantin (Taiz dan Zeiger, 2006, neoxantin (Königer dkk., 1995), cantaxantin (Leyon dkk., 1990), dan masih banyak lagi.

Saat ini ketertarikan terhadap xantofil terutama pada lutein, zeasantin, dan cantaxantin. Lutein dan zeasantin ditemukan pada *macula*, dimana kehadirannya bisa melindungi *macula* dari kerusakan karena radiasi cahaya. Lutein dan zeasantin juga berperan dalam mencegah kanker kulit (Yang dkk., 1998). Cantaxantin telah digunakan sebagai agen pewarna makanan dan salah satu bahan penyamak tablet (Leyon dkk., 1990).

Xantofil dapat ditemui pada buah pepaya, *peach*, *prune*, dan *squash*. Keempatnya mengandung diester lutein, *squash* juga mengandung monoester lutein, sedangkan *peach* juga mengandung diester zeasantin (Khachik dkk., 1991). Tiga pigmen karotenoid yang aktif dalam siklus xantofil pada tumbuhan tingkat tinggi yaitu : violaxantin, anteraxantin, dan zeasantin. Dalam keadaan normal (cahaya lemah), akan terjadi pembentukan zeasantin dari  $\beta$ -karoten, kemudian akan diubah menjadi anteraxantin dan akhirnya menjadi violaxantin. Namun pada saat terjadi *stress* cahaya tinggi, violaxantin akan diubah menjadi zeasantin melalui senyawa antara anteraxantin, yang berperan secara langsung sebagai pelindung terhadap cahaya (Taiz dan Zeiger, 2006). Lutein merupakan xantofil yang paling melimpah pada tumbuhan tingkat tinggi, berfungsi untuk menangkap cahaya yang kemudian ditransfer ke klorofil, serta sebagai penangkap radikal bebas (Jahns dan Holzwarth, 2012).

Penurunan proses reversible  $\beta$ -karoten dalam siklus xantofil dipicu oleh 2% O<sub>2</sub> , 0% CO<sub>2</sub> pada intensitas cahaya rendah, sehingga bisa diprediksi bahwa fungsi pengaturan konversi reversible dari  $\beta$ -karoten menjadi zeasantin tidak memerlukan cahaya tinggi, melainkan dipicu oleh keseimbangan antara penyerapan dan penggunaan energi eksitasi. Dengan mempertimbangkan dugaan sebelumnya bahwa karotenoid terkait dengan proteksi terhadap perangkat fotosintesis, serta temuan bahwa zeasantin

merupakan satu-satunya karotenoid yang merespon kondisi kelebihan energi eksitasi dengan peningkatan intensitasnya, bisa disimpulkan bahwa siklus xantofil memainkan peran dalam proteksi terhadap perangkat fotokimia melawan intensitas cahaya tinggi (Demmig dkk., 1987)

Ganggang dan tumbuhan mampu menambahkan gugus fungsional pada zeasantin untuk membentuk xantofil turunan dari  $\beta$ -karoten ( $\beta$ -xantofil, anteraxantin, violaxantin dan neoxantin), yang berperan dalam induksi mekanisme fotoproteksi dan siklus xantofil (Schubert dkk., 2006; Yoshii, 2006). Studi Kim dkk. (2009) menjelaskan bagaimana pasangan gen memiliki fungsi yang berbeda setelah duplikasi, serta memainkan peran yang esensial dalam evolusi jalur xantofil pada tumbuhan tingkat tinggi. Berdasarkan evolusi dan spesifikasi substrat dari masing-masing enzim, serta respon fenotip dari masing-masing mutan terhadap *stress* cahaya tinggi menunjukkan bahwa komposisi xantofil tumbuhan tingkat tinggi sangat stabil, dan umumnya terdiri dari 3 xantofil utama, yaitu  $\alpha$ -xantofil, lutein, dan dua  $\beta$ -xantofil (violaxantin and neoxantin) (Königer dkk., 1995). Eksperimen dengan menggunakan mutan *Arabidopsis* yang mampu mensintesis karotenoid dengan perubahan komposisi xantofil memperjelas kombinasi *wild-type* lutein, violaxantin, dan neoxantin sangat berfungsi adaptif (Tian dkk., 2004; Dall'Osto dkk., 2006; Dall'Osto dkk., 2007).

Pada Diatom dan Dinoflagellata, siklus xantofil melibatkan pigmen diadinosantin, yang ditransformasikan menjadi diatoxantin pada Diatom (Jeffrey dan Vesk, 1997), dan dinosantin pada Dinoflagellata di bawah pencahayaan yang kuat (Jeffrey dan Vesk, 1997; Venn dkk., 2006). Dinasantin yang ditemukan pada *Symbiodinium* juga akan meningkat jumlahnya jika dipicu oleh *stress* radiasi cahaya tinggi (Venn dkk., 2006). Dinasantin berpotensi sebagai antioksidan terhadap oksigen reaktif (Rodríguez dkk., 2009). Spesies dari Dinoflagellata penghasil dinasantin antara lain *Symbiodinium* sp. (Venn dkk., 2006), (*Amphidinium carterae*, *Glenodinium* sp., *Gymnodinium splendens*, dan *Gyrodinium dorsum* (Johansen dkk., 1974).

Karotenoid jenis diadinokrom, dinosantin dan P457 biasa terdapat pada spesies dari dinoflagellata (Jeffrey dkk., 1997). Dinoflagellata seringkali bersimbiosis dengan karang, sehingga wajar jika jenis-jenis karotenoid tersebut seperti diadinokrom juga ditemukan dalam ekstrak karang *Acropora cervicornis* dan *Porites porites* (Torres-Pérez dkk., 2012). Hasil serupa juga ditunjukkan oleh beberapa hasil penelitian lain bahwa mikroorganisme termasuk bakteri yang berasosiasi dengan organisme laut mensintesis metabolit sekunder yang sama seperti pada organisme inangnya (Radjasa dkk., 2007; Khoeri, 2011; dan Wusqy dkk., 2013).

Neoxantin merupakan prekursor bagi sintesis peridinin dan P457 (Gambar 3), meskipun neoxantin tidak ditemukan pada dinoflagellata yang menghasilkan peridinin. Dinoflagellata yang menghasilkan fukosantin tidak mengandung peridinin maupun P457. Hal ini mungkin disebabkan karena fukosantin memiliki arah jalur biosintesis yang berbeda dengan peridinin dan P457. Dinoflagellata hijau, yang mengandung klorofil a dan b, tidak mengandung peridinin, fukosantin, maupun P457, dan tidak ada mikroalga yang mengandung peridinin maupun P457, sementara dinoflagellata menghasilkan peridinin. Dengan demikian, jalur biosintesis peridinin dan P457 hampir ditemukan melalui proses evolusi Dinoflagellata setelah mikroorganisme inang heterotroph eukariotik membentuk simbiosis dengan alga merah yang tidak mengandung peridinin atau P457 (Wakahama dkk., 2012).

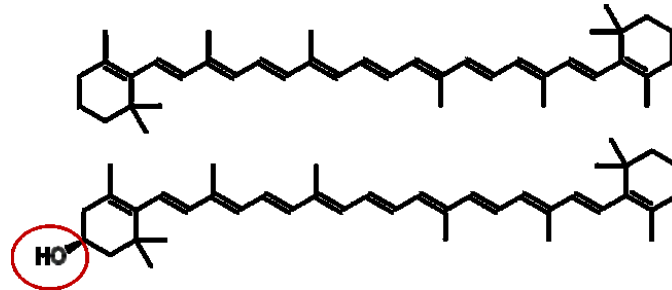
Penelitian Venn dkk. (2006) menunjukkan bahwa semua sampel *Symbiodinium* mengandung xantofil dinosantin dan diadinokrom, di mana diadinokrom merupakan hasil konversi dari grup diadinosantin *epoxide* menjadi furanoid membentuk epimer 8R dan 8S diadinokrom, sementara dinosantin pada Dinoflagellata juga berasal dari diadinosantin (Jeffrey dan Vesk, 1997). Dengan demikian dimungkinkan kedua xantofil (dinosantin dan diadinokrom) tersebut berasal dari senyawa yang sama yaitu diadinosantin.

Tabel. Perbandingan jenis xantofil yang dihasilkan oleh berbagai organisme

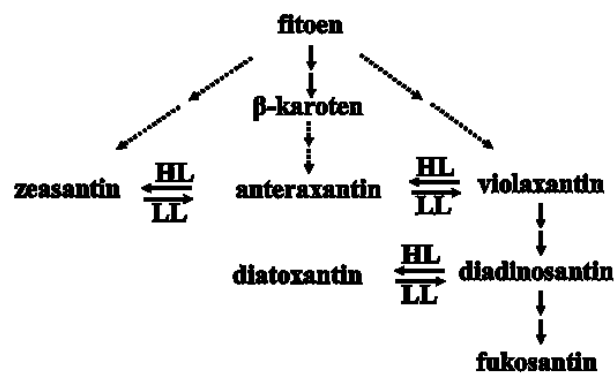
Organisme	Xantofil											Referensi
	lut	zea	ant	vio	neo	P45	pe	ds	dk	di	dt	
<b>Tumbuhan</b>						7				n		
pepaya	v <sup>1)</sup>	v <sup>2)</sup>	v <sup>2,3)</sup>	v <sup>2,3)</sup>	v <sup>3)</sup>							<sup>1)</sup> Khachik dkk.,

<i>peach</i>	v <sup>1)</sup>	v <sup>1,2)</sup>	v <sup>2,3)</sup>	v <sup>2,3)</sup>	v <sup>3)</sup>	1991 2)Taiz dan Zeiger, 2006			
<i>prune</i>	v <sup>1)</sup>	v <sup>2)</sup>	v <sup>2,3)</sup>	v <sup>2,3)</sup>	v <sup>3)</sup>	3)Stickforth dkk., 2003; Schubert dkk., 2006; Yoshii, 2006)			
<i>squash</i>	v <sup>1)</sup>	v <sup>2)</sup>	v <sup>2,3)</sup>	v <sup>2,3)</sup>	v <sup>3)</sup>				
<b>Ganggang</b>									
<i>Caulerpa prolifera</i>	v <sup>4)</sup>			v <sup>4)</sup>	v <sup>4)</sup>	4) Hegazi dkk., 1998			
<i>Padina pavonica</i>		v <sup>4)</sup>	v <sup>4)</sup>	v <sup>4)</sup>	v <sup>4)</sup>				
<i>Haematococcus pluviialis</i>						v <sup>5)</sup> 5)Ranga Rao, 2011 dan Sarada dkk., 2012			
<b>Dinoflagellata</b>									
<i>Symbiodinium</i> sp.				v <sup>6)</sup>	v <sup>6)</sup>	v <sup>7)</sup>	v <sup>7)</sup>	6) Wakahama dkk., 2012	
<i>Amphidinium carterae</i>							v <sup>8)</sup>	7)Venn dkk., 2006 8)Johansen dkk., 1974	
<i>Glenodinium</i> sp.,							v <sup>8)</sup>		
<i>Gymnodinium splendens</i>							v <sup>8)</sup>		
<i>Gyrodinium dorsum</i>							v <sup>8)</sup>		
<b>Karang</b>									
<i>Acropora cervicornis</i>	v <sup>9)</sup>	v <sup>9)</sup>	v <sup>9)</sup>	v <sup>9)</sup>	v <sup>9)</sup>	v <sup>9)</sup>	v <sup>9)</sup>	v <sup>9)</sup>	9)Torres-Pérez dkk., 2012
<i>Porites porites</i>				v <sup>9)</sup>	v <sup>9)</sup>	v <sup>9)</sup>	v <sup>9)</sup>	v <sup>9)</sup>	
<b>Bakteri</b>									
<i>Exiguobacterium</i> sp. MK_HM				v <sup>10)</sup>		v <sup>10)</sup>	v <sup>10)</sup>		10)Astuti dkk, 2016
<i>Exiguobacterium aurantiacum</i>								v <sup>11)</sup>	11)Sasidharan dkk., 2013
<i>Exiguobacterium profundum</i>								v <sup>11)</sup>	
<i>Paracoccus haeundaensis</i>								v <sup>12)</sup>	12)Lee dkk., 2004

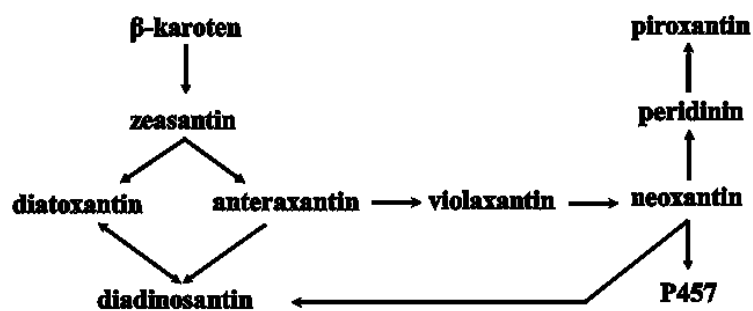
Keterangan: lut: lutein, zea: zeasantin, ant: anteraxantin, vio: violaxantin, neo: neoxantin, pe: peridinin, ds: diadinosantin, dk: diadinokrom, din: dinosantin, dt: diatoxantin, as: astaxantin.



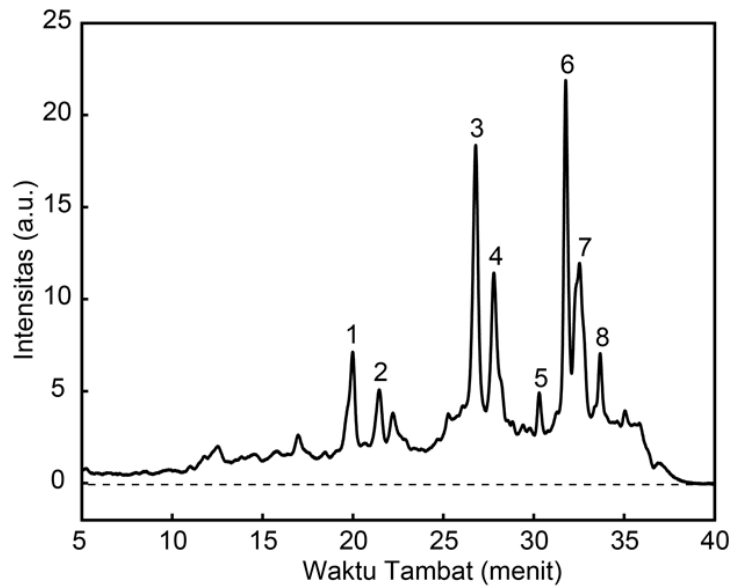
Gambar 1. Struktur molekuler karoten (atas) dan xantofil (bawah)



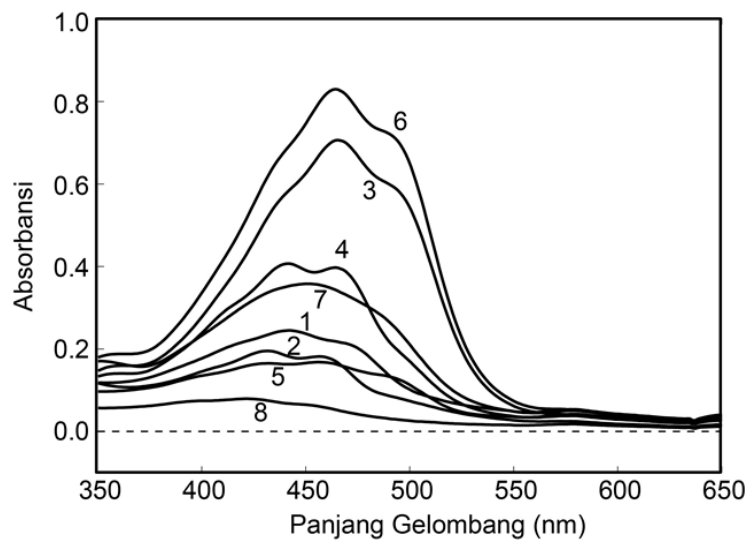
Gambar 2. Siklus diadinosantin pada ganggang juga melibatkan siklus violaxantin  
Sumber: Martin dan Wilhelm, 1999



Gambar 3. Perkiraan jalur biosintesis P457 pada *Symbiodinium*  
Sumber: Wakahama dkk, 2012

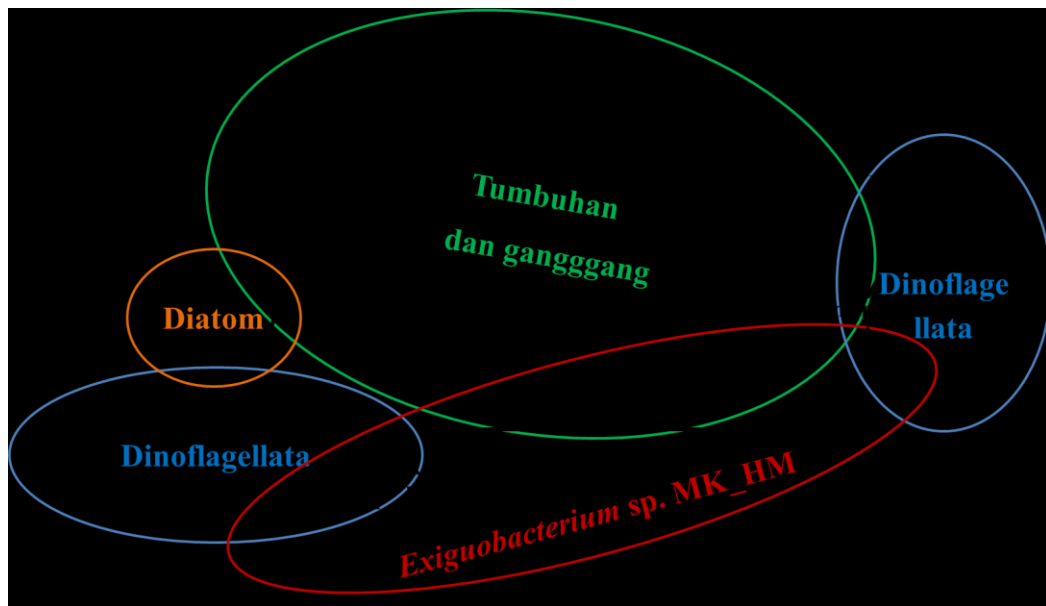


Gambar 4. Analisis pigmen dari Bakteri *Exiguobacterium* sp. MK\_HM dengan KCKT. Deteksi pada panjang gelombang 470 nm  
Sumber: Astuti dkk., 2016



Gambar 5. Pola spektra xantofil dari ekstrak bakteri *Exiguobacterium* sp. MK\_HM. Peak 2, diadinokrom; Peak 4, dinosantin; dan Peak 7, P457 (Astuti dkk., 2016)





Gambar 6. Perkiraan jalur biosintesis xantofil pada *Exiguobacterium sp. MK\_HM*

### XANTOFIL PADA BAKTERI *Exiguobacterium sp. MK\_HM*

Analisis pigmen dengan menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) pada bakteri *Exiguobacterium sp. MK\_HM*, bakteri yang berasosiasi dengan karang *Halimeda macroloba*, hasil isolasi dari perairan Pulau Menjangan Kecil, Karimunjawa menunjukkan adanya beberapa spektrum karotenoid dengan waktu tambat yang bervariasi (Gambar 4 dan 5) (Astuti dkk., 2016). Tiga dari lima spektrum yang teridentifikasi merupakan xantofil yaitu diadinokrom, dinosantin, dan P457 (Astuti dkk., 2016). Diadinokrom muncul pada menit ke-21 (Peak 2) (Gambar 4 dan 5) (Astuti dkk., 2016). Menurut Jeffrey dkk. (1997), diadinokrom merupakan produk perubahan dari diadinosantin, namun penelitian pada *Exiguobacterium sp. MK\_HM* tidak terdeteksi adanya diadinosantin (Astuti dkk., 2016). Peak 4 merupakan dinosantin yang muncul pada menit ke-28 (Gambar 4 dan 5) (Astuti dkk., 2016), di mana dinosantin merupakan produk perubahan dari diadinosantin pada Dinoflagellata (Jeffrey dan Vesik, 1997), sedangkan P457 (Peak 7), muncul pada menit ke-32 (Gambar 4 dan 5) (Astuti dkk., 2016), yang diperkirakan merupakan hasil perubahan dari neoxantin, di mana neoxantin merupakan prekursor bagi senyawa xantofil peridinin, P457, dan diadinosantin (Wakahama dkk., 2012), meskipun keberadaan neoxantin belum terdeteksi pada penelitian tersebut (Astuti dkk., 2016). Berdasarkan beberapa referensi tersebut (Jeffrey dkk. 1997; Jeffrey dan Vesik, 1997; Wakahama dkk., 2012), bisa diduga ketiga xantofil

yang teridentifikasi pada *Exiguobacterium sp. MK\_HM* diduga berasal dari senyawa tunggal neoxantin.

Sebagaimana diketahui dalam biosintesis karotenoid pada dinoflagellata, P457 biasanya selalu berdampingan dengan peridinin (Wakahama dkk., 2012), namun studi pada *Exiguobacterium sp. MK\_HM* ini belum terdeteksi adanya potensi sebagai penghasil peridinin (Astuti dkk., 2016). Hal ini merupakan fenomena menarik sekaligus peluang untuk penelitian lanjutan mengenai karotenoid yang dihasilkan jenis bakteri tersebut.

Dengan merujuk pada berbagai jalur biosintesis xantofil pada tumbuhan (Khachik dkk., 1991; Demmig dkk., 1987; Königer dkk., 1995), ganggang (Stickforth dkk., 2003; Schubert dkk., 2006; Yoshii, 2006; Martin dan Wilhelm, 1999) (Gambar 2), Dinoflagellata, dan Diatom (Wakahama dkk., 2012) (Gambar 3), dapat diprediksi bahwa zeasantin merupakan senyawa kunci dari siklus xantofil dalam mekanisme proteksi perangkat fotosintesis terhadap radiasi cahaya yang berlebihan. Di sisi lain neoxantin merupakan senyawa kunci yang menjadi penghubung xantofil yang disintesis oleh tumbuhan (Königer dkk., 1995) dengan organisme tingkat rendah seperti Dinoflagellata, Diatom (Wakahama dkk., 2012), dan bakteri (Astuti dkk., 2016). Neoxantin merupakan prekursor dari beberapa senyawa xantofil yang dihasilkan oleh Dinoflagellata, Diatom (Wakahama dkk., 2012), dan juga bakteri dalam hal ini terutama pada bakteri *Exiguobacterium sp. MK\_HM* (Astuti dkk., 2016) (Gambar 6).

Jika dibandingkan dengan beberapa bakteri lain termasuk spesies lain dari *Exiguobacterium* seperti *Exiguobacterium aurantiacum*, *Exiguobacterium profundum* (Sasidharan dkk., 2013), *Paracoccus haeundaensis* (Lee dkk., 2004) (Tabel), xantofil yang teridentifikasi pada *Exiguobacterium* sp. MK\_HM sangat berbeda, di mana beberapa bakteri lain tersebut menghasilkan astaxantin, sedangkan *Exiguobacterium* sp. MK\_HM menghasilkan tiga macam xantofil yaitu diadinokrom, dinosantin, dan P457 yang sebagaimana juga dimiliki oleh Dinoflagellata khususnya *Symbiodinium* sp. (Tabel). Adapun kesamaan ketiga xantofil dari *Exiguobacterium* sp. MK\_HM dengan Dinoflagellata (*Symbiodinium* sp.) (Wakahama dkk., 2012; Venn dkk., 2006) kemungkinan karena efek asosiasi (Königer dkk., 1995; Wakahama dkk., 2012) antara bakteri tersebut dengan inangnya, *Halimeda macroloba*, di mana pada inang tersebut sangat terbuka kemungkinannya juga berasosiasi dengan mikroorganisme lain termasuk Dinoflagellata. Jadi ketiga senyawa xantofil pada *Exiguobacterium* sp. MK\_HM diprediksi bukan merupakan produk primer dari jenis bakteri *Exiguobacterium* sp. MK\_HM tersebut, melainkan pigmen sekunder, efek dari asosiasi sekunder inang dengan Dinoflagellata. Penelitian lebih mendalam mengenai ada atau tidaknya kesamaan pigmen yang dihasilkan *Halimeda macroloba* dengan *Exiguobacterium* sp. MK\_HM sebagai 2 spesies yang berasosiasi juga masih diperlukan, terutama tentang kandungan pigmen dari *Halimeda macroloba* sebagai inang dari *Exiguobacterium* sp. MK\_HM untuk menggenapi informasi yang berkaitan dengan evolusi xantofil dalam isolat bakteri tersebut.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Altincicek B., Kovacs J.L., Gerardo N.M. (2012). Horizontally transferred fungal carotenoid genes in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. *Biol. Lett.* 8:253–257. <http://dx.doi.org/10.1098/rsbl.2011.0704>.
- Asker, D., Awak, T.S., Beppu, T., dan Ueda, K. (2012). Isolation, Characterization, and Diversity of Novel Radiotolerant Carotenoid-Producing Bacteria. *Microbial Carotenoids from Bacteria and Microalgae: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology*. 892:21-22. doi 10.1007/978-1-61779-879-5\_3
- Astuti, W., Radjasa, O.K., Karwur, F.F., Rondonuwu, F.S. (2016). Identification of Carotenoids in *Halimeda macroloba* Reef Associated Bacteria. *IJMS*. (in press).
- Balraj, J., Pannerselvam, K., dan Jayaraman, K. (2014). Isolation of Pigmented Marine Bacteria *Exiguobacterium* sp. from Peninsular Region of India and A Study on Biological Activity of Purified Pigment. *International Journal of Scientific & Technology Research*. 3(3):375-384.
- Britton, G., Liaaen-Jensen, S., dan Pfander, H. (1995<sup>a</sup>). eds. Carotenoids. Isolation and Analysis. *Carotenoids in Health and Disease*. Basel: Birkhäuser. 1(A):1-2.
- Britton, G., Liaaen-Jensen, S., dan Pfander, H. (1995<sup>b</sup>). Spectroscopy. eds. *Carotenoids*. Basel: Birkhäuser. 1(B).
- Britton, G., Liaaen-Jensen, S., dan Pfander, H. (1996). Synthesis. eds. *Carotenoids*. Basel: Birkhäuser. Vol. 2.
- Cazzonelli C.I. (2011). Goldacre review: carotenoids in nature: insights from plants and beyond. *Funct. Plant Biol.* 38:833-847. <http://dx.doi.org/10.1071/FP11192>.
- Dall'Osto, L., Fiore, A., Cazzaniga, S., Giuliano, G. and Bassi, R. (2007). Different roles of  $\alpha$ - and  $\beta$ -branch xanthophylls in photosystem assembly and photoprotection. *J. Biol. Chem.* 282 : 35056 -35068.
- Dall'Osto, L., Lico, C., Alric, J., Giuliano, G., Havaux, M. and Bassi, R. (2006). Lutein is needed for efficient chlorophyll triplet quenching in the major LHCII antenna complex of higher plants and effective photoprotection in vivo under strong light. *BMC Plant Biol.* 6:32 .
- Demmig, B., Winter, K., Kruger, A., dan Czygan, Franz-Christian. (1987). Photoinhibition and Zeaxanthin Formation in Intact Leaves: A Possible Role of The Xanthophyll Cycle in The Dissipation of Excess Light Energy. *Plant Physiol.* 84:218-224 0032-0889/87/84/0218/07/\$0 1.00/0
- Guerin, M., Huntley, M.E., dan Olaizola, M. (2003). Haematococcus astaxanthin: applications for human health and nutrition. *TRENDS in Biotechnology*. 21(5):210-216.
- Hegazi, M.M., Pérez-Ruzafaa, A., Almelab, L., dan Candelac, María-Emilia. (1998). Separation and identification of chlorophylls and carotenoids from *Caulerpa prolifera*, *Jania rubens* and *Padina pavonica* by reversed phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 829:153-159
- Holt, N.E., Zigmantas, D., Valkunas, L., Li, X.P., Niyogi, K.K., Fleming, G.R. (2005). Carotenoid formation and the regulation of photosynthetic



- light harvesting. *Science* 307:433–436. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1105833>.
- Indra Arulselvi, P., Umamaheswari, S., Ranandkumar Sharma, G., Karthik, C., dan Jayakrishna, C. (2014). Screening of Yellow Pigment Producing Bacterial Isolates from Various Eco-climatic Areas and Analysis of the Carotenoid Produced by the Isolate. *J Food Process Technol.* 5:292.
- Jahns, P. dan Holzwarth, A. R. (2012). The role of the xanthophyll cycle and of lutein in photoprotection of photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta* 1817. 182-193. doi:10.1016/j.bbabi.2011.04.012
- Jeffrey, S.W., Mantoura, R. F.C. dan Wright, S.W. (1997). *Phytoplankton Pigment in Oceanography: Guidelines to modern methods.* P:456-553
- Jeffrey, S.W., Vesik, M. (1997). Introduction to marine phytoplankton and their pigment signatures, in: Jeffrey, S.W. et al. (Ed.) (1997). *Phytoplankton pigments in oceanography: guidelines to modern methods.* Monographs on Oceanographic Methodology. 10:37-84
- Johansen, J.E., Svec, W.A., Liaaen-Jensen, S., Haxo, F.T. (1974). Carotenoids of the dinophyceae. *Algal Carotenoids. Phytochemistry.*13(10):2261-2271 doi:10.1016/0031-9422(74)85038-7
- Joyard, J., Ferro, M., Masselon, C., Seigneurin-Berny, D., Salvi, D., Garin, J., Rolland, N. (2009). Chloroplast proteomics and the compartmentation of plastidial isoprenoid biosynthetic pathways. *Mol. Plant.* 2:1154-1180. <http://dx.doi.org/10.1093/mp/ssp088>.
- Khachik, F., Beecher, G.R. dan Golgi, M.B. (1991). Separation, identification, and quantification of carotenoids in fruits, vegetables and human plasma by high performance liquid chromatography. *Pure Appl. Chem.* 63:71-80.
- Khoeri, M.M. (2011). Analisis pigmen fotosintetik, potensi antioksidan dan kandungan proksimat pada *Caulerpa racemosa* Var. *Occidentalis* dan bakteri asosiasinya. *Thesis.* Salatiga: Satya Wacana Christian University. 65pp.
- Kim, J., Smith, J.J., Tian, Li, dan Della Penna, D. (2009). The Evolution and Function of Carotenoid Hydroxylases in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol.* 50(3):463-479 doi:10.1093/pcp/pcp005
- Königer, M., Harris, G.C., Virgo, A. dan Winter, K. (1995). Xanthophyllcycle pigments and photosynthetic capacity in tropical forest species: a comparative field study on canopy, gap and understory plants. *Oecologia.*104:280-290.
- Lee, J.H., Y.Kim, S., Choi, T.J., Lee, W. J., dan Kim, Y.T. (2004). *Paracoccus haeundaensis* sp. nov., a Gram negative, halophilic, astaxanthin producing bacterium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 54:1699-1702
- Leyon, H., Ros, A., Nyberg, S. dan Algvere, P. (1990). Reversibility of canthaxanthin deposits within the retina. *Acta Ophthalmol.* 68: 607-611.
- Liaaen-Jensen, Synnove. (1995). Basic Carotenoid Chemistry. *Carotenoids in Health and Disease.* Norwegian University of Science and Technology, Trondheim, Norway.p:1-2.
- Limantara, L. (2008). Sains dan Teknologi Pigmen Alami. Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Pigmen Alami. p:1-32. Salatiga: UKSW.
- Martin Lohr, M. dan Wilhelm, C. (1999). Algae displaying the diadinoxanthin cycle also possess the violaxanthin cycle. *PNAS.* 96:8784-8789
- Mijts, B.N., Lee, P.C., dan Schmidt-Dannert, C. (2004). Engineering carotenoid biosynthetic pathways. *Methods Enzymol.*388:315-329.
- Moran, N.A., Jarvik, T. (2010). Lateral transfer of genes from fungi underlies carotenoid production in aphids. *Science.* 328:624–627. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1187113>.
- Parker R.S. (1996). Absorption, metabolism, and transport of carotenoids. *FASEB J.*10:542–551.
- Radjasa, O.K., Martens, T., Grossart, H.P., Brinkoff, T., Sabdono, A., dan Simon, M. (2007). Antagonistic activity of a marine bacterium *Pseudoalteromonas luteoviolacea* TAB4.2 associated with coral *Acropora* sp. *J. Biol. Sci.* 7(2):239-246.
- Ranga Rao, A. (2011). Production of astaxanthin from cultured green alga *Haematococcus pluvialis* and its biological activities.. Ph.D. *Thesis:* University of Mysore, Mysore, India
- Rodríguez, J.J.G., Mirón, A.S., Camacho, F.G., García, M.C.C., Belarbi, E.H., Chisti, Y., dan Grima, E.M. (2009). Causes of shear sensitivity of the toxic dinoflagellate. *Protoceratium reticulatum.* *Biotechnology Progress.* 25(3):792-800.
- Sarada, R., Ranga Rao, A., Sandesh, B.K., Dayananda, C., Anila, N., Chauhan, V.S., Ravishankar, G.A. (2012). Influence of different culture conditions on yield of biomass and value added products in microalgae. *Dyn. Biochem. Proc. Biotechnol. Mol. Biol.* 6:77-85.

- Sasidharan, P., Raja, R., Karthik, C., Sharma, Ranandkumar, dan Indra Aruselvi, P. (2013). Isolation and characterization of yellow pigment producing *Exiguobacterium* sps. *J. Biochem Tech.* 4(4):632-635.
- Schubert, N., García-Mendoza, E., and Pacheco-Ruiz, I. (2006). Carotenoid composition of marine red algae. *J Phycol.* 42: 1208-1216.
- Shumskaya, M., Bradbury, L.M.T, Monaco, R.R., Wurtzel, E.T.(2012). Plastid localization of the key carotenoid enzyme phytoene synthase is altered by isozyme, allelic variation, and activity. *Plant Cell.* 24:3725-3741. <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.112.104174>.
- Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., dan Isambert, A.(2006). Commercial applications of microalgae. *J.Biosci. Bioeng.* 101:87-96. <http://dx.doi.org/10.1263/jbb.101.87>.
- Taiz, L. dan Zeiger, E. (2006). *Plant Physiology*. Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc. Publishers, Fourth edition, 764 pp
- Tian, L., Della Penna, D. dan Zeevaart, J.A.D. (2004). Effect of hydroxylated carotenoid deficiency on ABA accumulation in *Arabidopsis*. *Physiol. Plant.* 122:314-320.
- Torres-Pérez, J.L., Guild, L.S., dan Armstrong, R.A. (2012). Hyperspectral Distinction of Two Caribbean Shallow-Water Corals Based on Their Pigments and Corresponding Reflectance. *Remote Sens.* 4:3813-3832.
- Venn, A.A., Wilson, M.A., Trapido-Rosenthal, H. G., Keely, B.J., Douglas, A. E. (2006). The impact of coral bleaching on the pigment profile of the symbiotic alga, *Symbiodinium*. *Plant, Cell and Environment.* 29:2133-2142. doi: 10.1111/j.1365-3040.2006.01587.x
- Wakahama, T., Okuyama, H., Maoka,T., dan Takaichi, S. (2012). Unique carotenoid lactoside, P457, in *Symbiodinium* sp. of dinoflagellate. *Biochimica Polonica.* 59(1):155-157.
- Wusqy, N.K., Limantara, L., dan Karwur, F.F. (2014). Exploration, Isolation, and Quantification of  $\beta$ -carotene from Bacterial Symbion of *Acropora* sp. *Microbiology Indonesia.* 8(2):58-64. doi: 10.5454/mi.8.2.3
- Yang, Y., Huang, C. Y., Peng, S. S. dan Li, J. (1996). Carotenoid analysis of several dark-green leafy vegetables associated with a lower risk of cancers. *Biomed. Environ. Sci.* 9:386-92.
- Yoshii, Y. (2006). Diversity and evolution of photosynthetic antenna systems in green plants. *Phycol. Res.* 54:220-229 .
- Østerlie, M. (2000). Plasma appearance and distribution of astaxanthin E/Z isomers in plasma lipoproteins of after single dose administration of astaxanthin. *J. Nutr. Biochem.* 11:482-490.