

EKSPLORASI IN SILICO GEN *rbcL* PADA *Dioscorea alata*: KERAGAMAN GENETIK UNTUK KETAHANAN PANGAN MASA DEPAN

IN SILICO EXPLORATION OF THE *rbcL* GENE IN *Dioscorea alata*: GENETIC DIVERSITY FOR FUTURE FOOD SECURITY

Wa Ode Kamillah

Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Hasanuddin
Jl. Perintis Kemerdekaan KM.10, Tamalanrea, Makassar

Corresponding author : waodekamillah@unhas.ac.id

Abstrak

Ketahanan pangan nasional menghadapi tantangan serius akibat perubahan iklim, degradasi lahan, dan ketergantungan tinggi pada beras sebagai sumber pangan utama. Diversifikasi pangan berbasis komoditas lokal menjadi langkah strategis, salah satunya melalui pemanfaatan *Dioscorea alata* L. (ubi ungu), tanaman umbi-umbian yang kaya karbohidrat, antosianin, dan memiliki kemampuan adaptasi tinggi terhadap berbagai kondisi agroekologi. Penelitian ini bertujuan mengeksplorasi keragaman genetik *D. alata* melalui pendekatan in silico menggunakan gen *rbcL* sebagai penanda molekuler, dengan data sekuens diambil dari basis data publik NCBI. Analisis dilakukan dengan metode BLAST, *multiple sequence alignment*, konstruksi pohon filogenetik, prediksi struktur protein 3D, serta anotasi fungsional. Hasil penelitian menunjukkan bahwa gen *rbcL* sangat konservatif pada *D. alata*, dengan identitas sekuens mencapai 100% antar aksesori, menunjukkan homogenitas genetik akibat domestikasi jangka panjang. Sebaliknya, variasi sekuens terlihat pada spesies *Dioscorea* lain, mengindikasikan divergensi evolusioner. Struktur protein menunjukkan dominasi heliks alfa yang mendukung kestabilan fungsional dalam fotosintesis. Gen ini juga teridentifikasi dalam domain aktif enzim RuBisCO yang penting dalam fiksasi karbon. Dengan demikian, *rbcL* terbukti efektif untuk studi evolusi dan identifikasi antarspesies, namun perlu dikombinasikan dengan penanda lain seperti *matK* atau ITS untuk mengeksplorasi keragaman genetik dalam spesies. Penelitian ini diharapkan mendukung upaya konservasi dan pemuliaan *D. alata* untuk ketahanan pangan masa depan.

Kata kunci: *Dioscorea alata*, *rbcL*, DNA barcoding, pangan

Abstract

Global food security is increasingly threatened by climate change, land degradation, and the heavy dependence on rice as the principal staple food. Diversification through the utilization of local commodities offers a strategic solution, with *Dioscorea alata* L. (purple yam), a tuberous crop rich in carbohydrates and anthocyanins and exhibiting high adaptability to diverse agroecological conditions, presenting significant potential. This study aimed to investigate the genetic diversity of *D. alata* through an in silico approach, employing the *rbcL* gene as a molecular marker, with sequence data retrieved from the public NCBI database. Analytical procedures included BLAST alignment, multiple sequence alignment, phylogenetic tree construction, 3D protein structure prediction, and functional annotation. The findings revealed that the *rbcL* gene in *D. alata* is highly conserved, with 100% sequence identity among accessions, suggesting pronounced genetic homogeneity likely resulting from long-term domestication. In contrast, sequence variation among other *Dioscorea* species indicated evolutionary divergence. The predicted protein structure displayed a predominance of alpha helices, supporting structural stability critical for photosynthetic

function. Additionally, the *rbcl* gene was located within the active domain of the RuBisCO enzyme, essential for carbon fixation in the Calvin cycle. Thus, while *rbcl* is effective for evolutionary studies and interspecies identification, complementary markers such as *matK* or *ITS* are recommended for resolving intraspecific genetic diversity. The present findings are anticipated to contribute to the conservation and breeding strategies of *D. alata* in support of future food security initiatives.

Keywords: *Dioscorea alata*, *rbcl*, DNA barcoding, food security

Pendahuluan

Ketahanan pangan nasional semakin menjadi perhatian seiring meningkatnya ancaman perubahan iklim, degradasi lahan, dan ketergantungan masyarakat Indonesia pada beras sebagai sumber pangan utama. Diversifikasi pangan lokal menjadi kebutuhan mendesak untuk memastikan ketersediaan pangan yang beragam, bergizi, dan adaptif terhadap kondisi lingkungan yang berubah. Salah satu komoditas lokal yang memiliki potensi besar dalam hal ini adalah *Dioscorea alata* L., dikenal sebagai ubi ungu, yang merupakan tanaman umbi-umbian kaya karbohidrat, antosianin, dan serat.

Ubi ungu termasuk dalam kelompok umbi-umbian yang kaya akan karbohidrat kompleks, serat pangan, dan senyawa bioaktif seperti antosianin, yang berperan sebagai antioksidan alami (Wuryantoro et al., 2019). Kemampuan adaptifnya terhadap berbagai kondisi agroekologi, mulai dari dataran rendah hingga tanah kering marginal, menempatkan *D. alata* sebagai tanaman strategis dalam upaya diversifikasi pangan nasional (Bakayoko et al., 2021). Kemampuan adaptasinya ini penting dalam menghadapi tantangan produksi pangan di masa depan yang dipengaruhi oleh perubahan iklim.

Penelitian genetika modern menunjukkan bahwa *Dioscorea alata* memiliki keragaman genetik yang cukup tinggi, meskipun beberapa populasinya mengalami penyempitan genetik akibat domestikasi dan perbanyakan vegetatif dalam waktu lama. (Sharif et al., 2020). Untuk mendukung program konservasi dan pemuliaan tanaman berbasis bukti ilmiah, eksplorasi keragaman genetik melalui pendekatan *in silico* terhadap data genetik yang tersedia secara publik menjadi salah satu strategi efektif dan efisien, terutama bila akses terhadap sumber daya genetik lokal terbatas.

Gen *ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit* (*rbcl*) merupakan salah satu penanda molekuler penting dalam analisis keanekaragaman genetik tanaman. Selain itu, pendekatan ini lebih hemat biaya dan dapat mempercepat pengumpulan data awal untuk studi yang lebih mendalam. Gen ini digunakan luas dalam DNA barcoding karena evolusinya yang lambat namun konservatif, sehingga efektif untuk diferensiasi antarspesies dan studi hubungan kekerabatan (Kipkiror et al., 2022).

Penelitian ini mengeksplorasi keragaman genetik *Dioscorea alata* berbasis data sekuen gen *rbcl* yang tersedia di basis data NCBI. Pendekatan ini penting untuk menyediakan gambaran awal tentang diversitas genetik spesies ini dalam skala global, mengingat keterbatasan akses pada sumber daya genetik lokal Indonesia. Meskipun data yang digunakan bukan berasal dari sampel lokal, hasil eksplorasi ini tetap relevan

sebagai dasar untuk mendukung program diversifikasi pangan berbasis umbi-umbian dan sebagai acuan untuk penelitian lanjutan di tingkat nasional.

Penelitian lain mengonfirmasi bahwa variasi genetik pada *D. alata* penting untuk pengembangan varietas unggul, baik dari segi kualitas agronomi maupun ketahanan terhadap stres biotik dan abiotik (Bakayoko et al., 2021; Dossa et al., 2024). Dengan demikian, pemahaman tentang basis genetik seperti rbcL dapat menjadi landasan awal dalam strategi pemuliaan berbasis genom.

Oleh karena itu, eksplorasi *in silico* gen rbcL dari *Dioscorea alata* ini diharapkan dapat berkontribusi terhadap upaya pelestarian dan pemanfaatan sumber daya genetik lokal untuk ketahanan pangan di masa depan.

Metode Penelitian

Pengambilan Data Sekunder

Tahapan awal dalam penelitian ini melibatkan proses penelusuran dan pengumpulan data sekuens genetik rbcL dari spesies *Dioscorea alata*, yang dilakukan dengan mengakses secara langsung basis data biologi molekuler internasional NCBI (National Center for Biotechnology Information). Sekuens yang diperoleh kemudian disimpan dalam format FASTA, yang merupakan standar umum dalam penyimpanan data sekuens nukleotida dan sangat sesuai untuk keperluan analisis bioinformatika lanjutan yang dilakukan pada tahap berikutnya.

Analisis Bioinformatika Gen rbcL

Tahap analisis sekuens dilakukan dengan menyelaraskan beberapa sekuens gen rbcL menggunakan perangkat lunak Clustal Omega untuk mengidentifikasi pola konservasi, variasi nukleotida, serta potensi mutasi yang terjadi di antara spesies perbandingan. Selanjutnya, hasil penyelarasan tersebut dijadikan dasar dalam penyusunan pohon filogenetik dan jarak genetik menggunakan aplikasi MEGA versi XII, yang bertujuan mengungkap hubungan evolusioner antara *Dioscorea alata* dan spesies lain yang memiliki kesamaan sekuens genetik.

Prediksi Struktur Protein rbcL

Sekuens genetik rbcL yang telah diperoleh kemudian diterjemahkan menjadi sekuens asam amino menggunakan Expasy Translate Tool sebagai dasar untuk analisis struktur protein. Prediksi struktur sekunder dilakukan dengan bantuan PSIPRED, sementara model 3D dari struktur tersier protein dibangun menggunakan AlphaFold guna memperoleh gambaran spasial yang lebih mendalam terhadap bentuk dan fungsi protein tersebut.

Analisis Fungsional Protein

Analisis terhadap motif dan domain fungsional protein dilakukan menggunakan database InterPro untuk mengidentifikasi elemen struktural yang berperan dalam fungsi biologis. Prediksi lokasi subseluler protein dilakukan menggunakan TargetP 2.0 untuk memperkirakan distribusi dan peran protein dalam lingkungan seluler.

Hasil dan Pembahasan

Hasil

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pengumpulan data sekuens genetik *rbcl* dari *Dioscorea alata* berhasil dilakukan dengan mengakses basis data NCBI. Data gen *rbcl* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari genom kloroplas lengkap *Dioscorea alata* dengan nomor akses OR753378.1 yang terdaftar di GenBank. Sekuens ini merupakan bagian dari genom lengkap yang menyediakan informasi komprehensif mengenai urutan nukleotida dari gen *rbcl* yang terbaru. Setelah itu, urutan ini kemudian di-*blast* menggunakan alat BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) untuk membandingkan sekuens gen *rbcl* yang diperoleh dengan sekuens-sekuens lain yang tersedia dalam basis data GenBank. Tujuan dari proses ini adalah untuk mengidentifikasi kesamaan dan perbedaan dalam urutan genetik, serta untuk memastikan keakuratan dan keaslian data yang diperoleh, sekaligus untuk menilai tingkat konservasi gen *rbcl* dalam spesies *Dioscorea alata* dibandingkan dengan spesies lain yang serupa.

Tabel 1. Hasil Penyelarasan BLAST: Identifikasi Homologi Gen *rbcl* pada *D. alata*

No	Aksesian	Spesies	Query Coverage	Per. ident
1	OR753378.1	<i>Dioscorea alata</i>	100%	100
2	MW463053.1	<i>Dioscorea alata</i> strain DACHR5201	100%	100
3	OP787125.1	<i>Dioscorea alata</i> cultivar TDa95/00328	100%	100
4	MZ848367.1	<i>Dioscorea alata</i> cultivar TDa95/00328	100%	100
5	OP787124.1	<i>Dioscorea alata</i> voucher CDa017	100%	100
6	NC 062811.1	<i>Dioscorea brevipetiolata</i>	100%	99.86
7	OM256444.1	<i>Dioscorea polystachya</i>	100%	99.79
8	NC 057066.1	<i>Dioscorea japonica</i>	100%	99.79
9	MG805604.1	<i>Dioscorea bulbifera</i>	100%	99.09
10	NC 039691.1	<i>Dioscorea dumetorum</i>	100%	98.81
11	NC 052854.1	<i>Dioscorea esculenta</i>	100%	98.74

Setelah data sekunder diperoleh, dilakukan penyelarasan sekuens menggunakan perangkat lunak Clustal Omega. Penyelarasan ini mengungkapkan pola konservasi yang signifikan pada beberapa bagian gen *rbcl*, yang dapat dijadikan acuan dalam penelitian selanjutnya. Selain itu, terdapat variasi nukleotida dan mutasi yang teridentifikasi antara sekuens *D. alata* dan spesies pembandingan lainnya, yang menunjukkan adanya perbedaan genetik yang perlu dicermati dalam studi keragaman genetik genus *Dioscorea*.

Tabel 2. Penyelarasan sekuens gen *rbcl* pada *Dioscorea spp.*

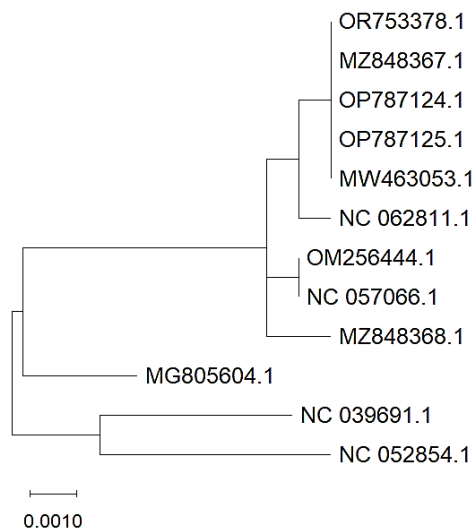
Aksesian	Spesies	Posisi Nukleotida						
		116	232	290	348	464	580	696
OR753378.1	<i>D. alata</i>	—	—	—	—	—	—	—
MW463053.1	<i>D. alata</i> strain DACHR5201	—	—	—	—	—	—	—
OP787125.1	<i>D. alata</i> cultivar TDa95/00328	—	—	—	—	—	—	—

MZ848367.1	<i>D. alata</i> cultivar TDa95/00328	–	–	–	–	–	–	–	–
OP787124.1	<i>D. alata</i> voucher CDa017	–	–	–	–	–	–	–	–
NC 062811.1	<i>D. brevipetiolata</i>	–	G	–	–	–	–	–	–
OM256444.1	<i>D. polystachya</i>	–	–	C	–	–	–	–	–
NC 057066.1	<i>D. japonica</i>	–	–	C	–	–	–	–	–
MG805604.1	<i>D. bulbifera</i>	–	T	–	C	G	–	–	–
NC 039691.1	<i>D. dumetorum</i>	A	T	–	C	–	T	A	A
NC 052854.1	<i>D. esculenta</i>	–	T	–	–	–	–	–	A

Tabel 2 (lanjutan). Penyelarasan sekuens gen rbcl pada *Dioscorea spp.*

Aksesio	Spesies	Posisi Nukleotida								
		696	754	812	870	928	1160	1334	1392	1434
OR753378.1	<i>D. alata</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–
MW463053.1	<i>D.alata</i> strain DACHR5201	–	–	–	–	–	–	–	–	–
OP787125.1	<i>D. alata</i> cultivar TDa95/00328	–	–	–	–	–	–	–	–	–
MZ848367.1	<i>D. alata</i> cultivar TDa95/00328	–	–	–	–	–	–	–	–	–
OP787124.1	<i>D. alata</i> voucher CDa017	–	–	–	–	–	–	–	–	–
NC_062811.1	<i>D. brevipetiolata</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–
OM256444.1	<i>D. polystachya</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–
NC_057066.1	<i>D. japonica</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–
MG805604.1	<i>D.bulbifera</i>	–	C	G	T	C	–	–	–	–
NC_039691.1	<i>D. dumetorum</i>	A	–	G	T	C	T	–	G	G
NC_052854.1	<i>D. esculenta</i>	A	C	–	T	C	T	C	C	G

Penyelarasan sekuens ini selanjutnya digunakan untuk membangun pohon filogenetik menggunakan aplikasi MEGA XII. Pohon filogenetik yang dihasilkan menunjukkan hubungan evolusioner antara *D. alata* dengan spesies lain dalam genus *Dioscorea* dan spesies pembanding lainnya.



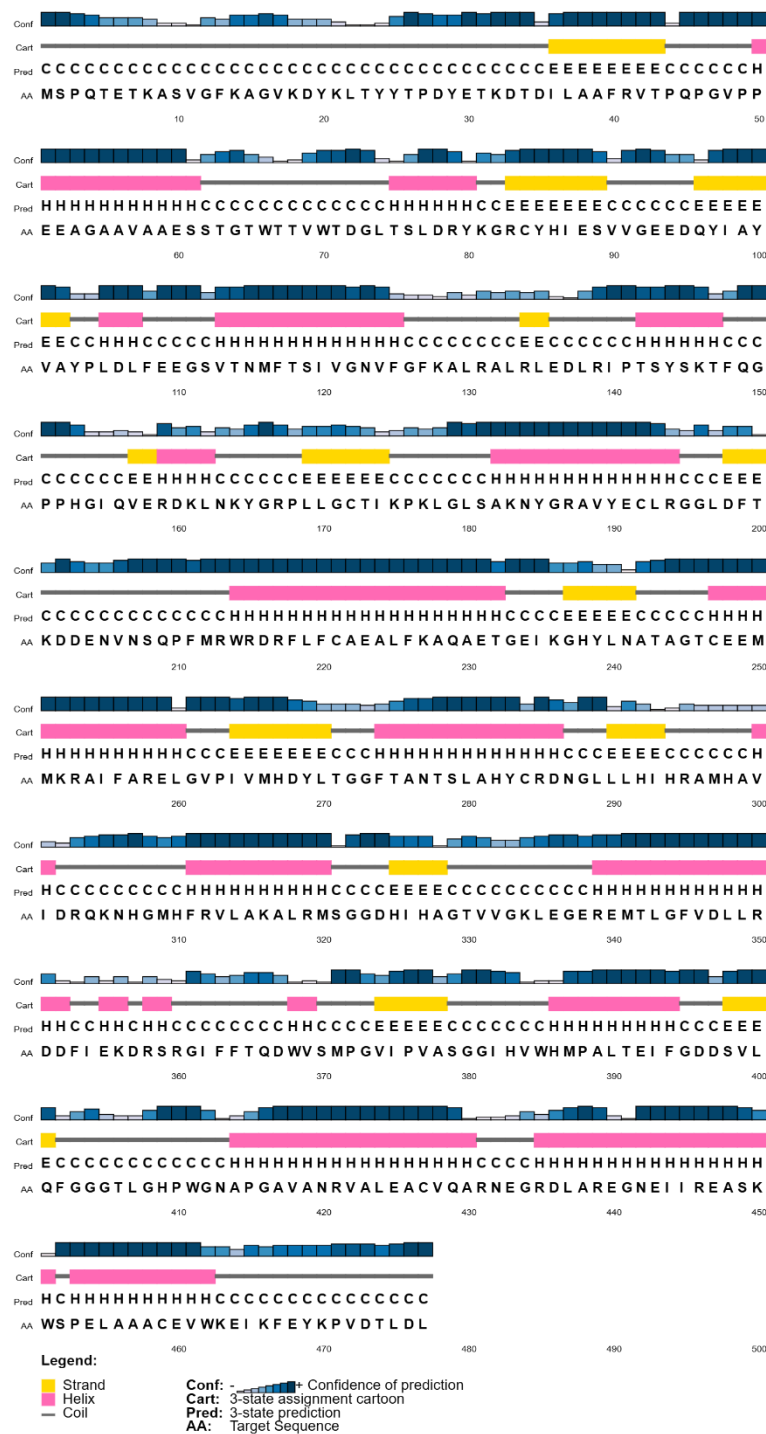
Gambar 1. Pohon filogenetik *D. alata* dan spesies lainnya

Selain itu, jarak genetik antar sampel dihitung menggunakan metode *Pairwise Distance* yang dilakukan melalui perangkat lunak MEGA XII. Hasil perhitungan menunjukkan adanya variasi genetik antara spesies *D. alata* dengan spesies lain dalam genus *Dioscorea*. Nilai jarak genetik yang dihitung memberikan gambaran tentang tingkat kedekatan antar spesies berdasarkan urutan genetik *rbcl*.

Tabel 3. Jarak genetik antar spesies pada *Dioscorea spp.*

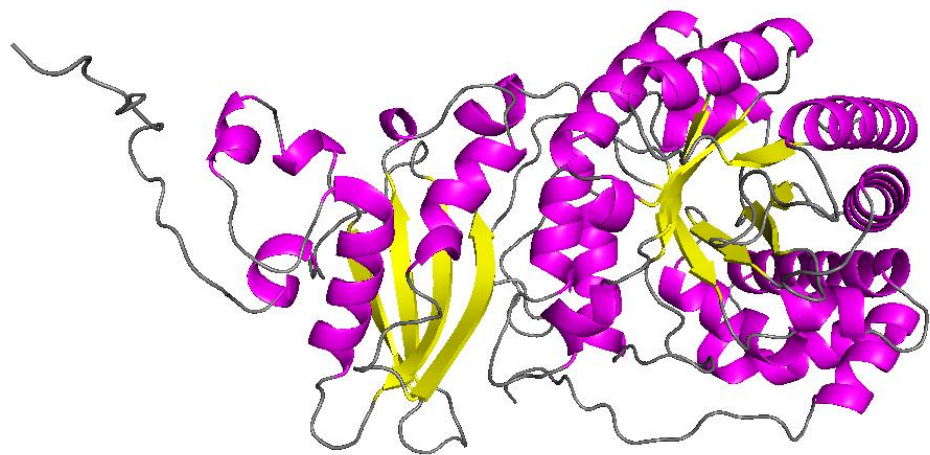
	OR75 3378.1	MW46 3053.1	OP78 7125.1	MZ84 8367.1	OP78 7124.1	NC06 2811.1	OM25 6444.1	NC05 7066.1	MG80 5604.1	NC03 9691.1	NC 05 2854.1
OR753378.1											
MW463053.1	0.00										
OP787125.1	0.00	0.00									
MZ848367.1	0.00	0.00	0.00								
OP787124.1	0.00	0.00	0.00	0.00							
NC 062811.1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00						
OM256444.1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00					
NC 057066.1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00				
MG805604.1	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01			
NC 039691.1	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01		
NC 052854.1	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	

Setelah sekuens genetik *rbcl* diperoleh, tahap berikutnya adalah menerjemahkan sekuens nukleotida menjadi sekuens asam amino dengan menggunakan Expsy Translate Tool. Prediksi struktur sekunder protein yang dihasilkan menunjukkan adanya elemen struktural penting seperti heliks alfa dan lembaran beta, yang diidentifikasi melalui penggunaan PSIPRED. Hasil ini menunjukkan bahwa protein *rbcl* memiliki struktur sekunder yang mendukung fungsinya dalam fotosintesis.



Gambar 2. Struktur sekunder protein rbcL pada *D. Alata*

Selanjutnya, model tiga dimensi dari struktur tersier protein dibangun menggunakan AlphaFold. Model 3D ini memberikan gambaran yang lebih mendalam tentang bentuk spasial dari protein rbcL, yang berfungsi dalam pengikatan karbon selama fotosintesis. Struktur protein yang lebih lengkap ini memperlihatkan konfigurasi yang sangat penting bagi fungsionalitasnya dalam siklus Calvin.



Gambar 3. Model 3D struktur protein rbcL pada *D. alata*

Selain analisis struktur, motif dan domain fungsional pada protein rbcL juga dianalisis menggunakan database InterPro. Hasil analisis menunjukkan bahwa protein ini mengandung beberapa domain yang penting untuk fungsinya dalam proses fotosintesis, terutama dalam pengikatan karbon yang terjadi dalam siklus Calvin.

Tabel 4. Hasil Analisis motif dan domain fungsional protei rbcL pada *D. alata*

Kategori	Deskripsi	Aksesio n/ID	Keterangan tambahan
Keluarga Protein	RuBisCO	IPR033966	Enzim utama fiksasi karbon dalam fotosintesis
	<i>Ribulose bisphosphate carboxylase large subunit, type I</i>	IPR020888	Subunit besar RuBisCo tipe I
Proses Biologis Fungsi Molekuler	<i>Carbon fixation</i>	GO:0015977	Proses utama dalam siklus Calvin
	<i>Ribulose-bisphosphate carboxylase activity</i>	GO:0016984	Aktivitas enzim dalam fiksasi karbon
	<i>Magnesium ion binding</i>	GO:0000287	Mengikat Mg ²⁺ untuk aktivitas enzim
Komponen seluler	Tidak tersedia	-	Tidak terdeteksi

Tabel 5. Detail Domain dan Superfamily protein rbcL pada *D. alata*

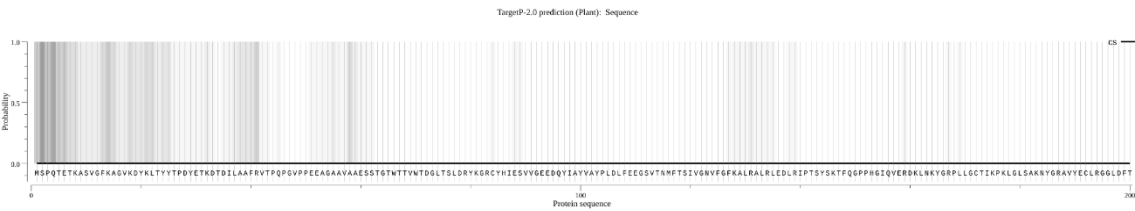
Aksesio n	Nama Domain	Keterangan
IPR033966	RuBisCO	Keluarga besar RuBisCO
IPR020888	<i>RuBisCO Large Subunit Type I</i>	Subunit besar RuBisCO tipe I
IPR017443	<i>RuBisCO Large Subunit, Ferredoxin-like N-terminal</i>	Bagian N-terminal mirip ferredoksin
IPR036376	<i>RuBisCO Large Subunit, C-terminal Superfamily</i>	Domain C-terminal
IPR020878	<i>RuBisCO Large Chain Active Site</i>	Situs aktif pada rantai besar
IPR000685	<i>RuBisCO Large Subunit, C-terminal</i>	Domain terminal-C
IPR036422	<i>RuBisCO Large Subunit, N-terminal</i>	Superfamily domain terminal-N

terminal Superfamily

Prediksi lokasi subseluler protein *rbcl* menggunakan TargetP menunjukkan bahwa protein ini kemungkinan besar berfungsi di kloroplas, tempat terjadinya proses fotosintesis. Prediksi ini mendukung pemahaman bahwa protein *rbcl* memainkan peran penting dalam metabolisme karbon di dalam sel, yang sangat relevan dengan fungsinya dalam fotosintesis.

Tabel 6. Prediksi lokasi subseluler protein *rbcl* pada *D. alata*

Tipe Protein	Other	Sinyal peptida	mTP	cTP	ITP
Likelihood	0.9996	0.0004	0.0000	0.0000	0.0000



Gambar 4. Visualisasi probabilitas sinyal target subseluler protein *rbcl* *D. alata*

Pembahasan

Analisis sekuens genetik *rbcl* pada *Dioscorea alata* yang dilakukan dalam penelitian ini menunjukkan tingkat konservasi yang tinggi di antara berbagai varietas, dengan identitas sekuens mencapai 100% pada beberapa sampel, sebagaimana tercermin dalam hasil BLAST dan penyelarasan sekuens. Hasil BLAST yang ditunjukkan pada Tabel 1 memperlihatkan kesamaan sempurna (100%) antara berbagai aksesori *Dioscorea alata* yang dianalisis, seperti OR753378.1, MW463053.1, OP787125.1, MZ848367.1, dan OP787124.1. Homologi penuh ini menunjukkan bahwa *rbcl* merupakan gen yang sangat konservatif dalam spesies ini. Ketahanan struktur genetik ini sejalan dengan laporan Kipkiror et al. (2022) yang menyatakan bahwa *rbcl* pada banyak tanaman bersifat konservatif karena perannya yang krusial dalam fotosintesis, sehingga seleksi alam mempertahankan strukturnya.

Namun, dalam Tabel 2 terlihat adanya variasi nukleotida pada spesies lain seperti *D. brevipetiolata*, *D. polystachya*, dan *D. bulbifera*. Perbedaan ini memperlihatkan adanya spesifisitas evolusioner antar spesies. Misalnya, substitusi G pada posisi 232 di *D. brevipetiolata* atau T di *D. dumetorum* pada berbagai posisi menunjukkan akumulasi mutasi titik (*point mutations*) yang dapat berkontribusi pada adaptasi ekologis spesifik, sebagaimana dijelaskan dalam teori mutasi netral Kimura (1983), kebanyakan variasi genetik antar individu atau antar spesies terjadi bukan karena adaptasi, tetapi karena perubahan acak yang tidak berpengaruh pada kelangsungan hidup atau reproduksi organisme tersebut. Teori ini diperkuat oleh Shaw et al. (2016). Dalam konteks ini, Shaw et al. (2016) menemukan bahwa sebagian besar perbedaan DNA pada genom kloroplas tanaman, terutama pada gen konservatif seperti *rbcl*, bersifat stabil dan tidak banyak dipengaruhi oleh tekanan seleksi.

Dalam penelitian ini, pohon filogenetik menunjukkan hasil penyelarasan sekuen *rbcl*. Semua aksesori *D. alata* membentuk satu klad yang sangat rapat, hal ini mempertegas homogenitas genetiknya. Jarak filogenetik yang sangat kecil hampir mendekati nol, sebagaimana ditampilkan dalam Tabel 3, mendukung gagasan tentang *bottleneck* genetik yang mungkin terjadi akibat domestikasi panjang (Sharif et al., 2020). Dalam genus *Dioscorea*, *D. bulbifera*, *D. dumetorum*, dan *D. esculenta* sedikit lebih jauh kekerabatannya dibanding *D. brevipetiolata* atau *D. japonica*. Ini sesuai dengan temuan Dossa et al. (2024) yang menunjukkan bahwa adaptasi ekologis menyebabkan divergensi molekuler dalam genus *Dioscorea*.

Prediksi struktur sekunder protein *rbcl* menunjukkan adanya pola heliks alfa (ditandai warna merah muda), lembar beta (kuning), dan daerah coil (abu-abu). Heliks alfa yang mendominasi struktur ini berfungsi penting untuk menjaga kestabilan protein, sehingga protein tetap bisa bekerja dengan baik dalam proses pengikatan karbon dioksida dan oksigen. Menurut teori struktur protein yang dikemukakan oleh Branden dan Tooze (1999), heliks alfa membantu meningkatkan ketahanan protein terhadap suhu tinggi, hal yang sangat penting bagi tanaman yang hidup di lingkungan tropis. Sementara itu, bagian coil (warna abu-abu) memberikan kelenturan pada struktur protein, sehingga protein dapat berubah bentuk dengan mudah saat terlibat dalam reaksi-reaksi siklus Calvin.

Gambar 3 menunjukkan model 3D dari protein *rbcl* yang diprediksi menggunakan AlphaFold. Model ini memperlihatkan lipatan berbentuk globular, yang merupakan ciri khas protein yang berperan dalam fotosintesis. Bentuk lipatan ini membantu protein mengikat molekul ribulosa-1,5-bisfosfat dan karbon dioksida secara efisien, sesuai dengan cara kerja enzim RuBisCO yang dijelaskan oleh Andersson dan Backlund (2008). Kesamaan antara model ini dan teori yang sudah ada menunjukkan bahwa sedikit variasi dalam urutan gen tidak banyak mengubah bentuk protein, sehingga fungsi utamanya tetap terjaga.

Analisis menggunakan InterPro menunjukkan bahwa protein *rbcl* termasuk dalam keluarga besar RuBisCO (IPR033966) yang berperan penting dalam proses fiksasi karbon (GO:0015977). Hasil ini sejalan dengan penelitian Kipkiror et al. (2022) yang menyebutkan bahwa dalam studi DNA barcoding, *rbcl* diidentifikasi berdasarkan fungsi katalitiknya yang stabil dan penting. Selain itu, aktivitas protein ini dalam mengikat ion magnesium (GO:0000287) juga sangat vital, karena ion magnesium membantu menstabilkan reaksi kimia yang terjadi saat protein bekerja, seperti dijelaskan oleh Spreitzer dan Salvucci (2002). Tabel 5 menunjukkan adanya domain spesifik seperti *RuBisCO Large Chain Active Site* (IPR020878), yang berfungsi sebagai tempat pengikatan substrat. Hal ini sesuai dengan ulasan dari Whitney et al. (2011) yang menekankan bahwa perubahan bentuk domain ini penting untuk menjaga efisiensi kerja RuBisCO. Selain itu, superfamilies di bagian N-terminal dan C-terminal menunjukkan bahwa meskipun ada perubahan evolusi, fungsi katalitik utamanya tetap terjaga, sebagaimana dijelaskan oleh Kapralov et al. (2012).

Prediksi lokasi subseluler menggunakan TargetP menunjukkan bahwa protein *rbcl* diklasifikasikan sebagai "other" dengan tingkat keyakinan 0,9996. Ini mengindikasikan bahwa protein tersebut tidak memiliki sinyal peptida N-terminal yang mengarahkan translokasinya ke mitokondria, kloroplas, atau lumen tilakoid. Hasil anotasi dari InterPro juga mengidentifikasi bahwa protein ini sebagai *Ribulose*

bisphosphate carboxylase large subunit (*rbcL*), tipe I, yaitu subunit besar dari enzim Rubisco yang disandikan oleh genom kloroplas, dan proses translasi umumnya terjadi langsung di dalam stroma kloroplas, sehingga tidak memerlukan sinyal peptida N-terminal dari sitoplasma. Hasil ini sejalan dengan temuan sebelumnya yang menyatakan bahwa gen *rbcL* merupakan bagian dari genom plastida dan tidak mengalami translokasi dari sitoplasma ke kloroplas seperti halnya gen nuklir lain yang menyandikan protein kloroplas (Kanevski & Maliga, 1994).

Hasil-hasil penelitian ini menunjukkan bahwa gen *rbcL* sangat stabil dan penting bagi proses fotosintesis, serta tidak banyak berubah antar spesies tumbuhan *Dioscorea*. Gen ini hampir seragam dalam spesies *Dioscorea alata*, kemungkinan karena tumbuhan ini telah lama dibudidayakan secara intensif. Sebaliknya, perbedaan genetik yang terlihat antara spesies *Dioscorea* yang berbeda mengindikasikan adanya penyesuaian terhadap lingkungan yang berbeda-beda. Temuan ini memperkuat anggapan bahwa gen *rbcL* cocok digunakan sebagai penanda utama dalam identifikasi DNA (*DNA barcoding*) dan studi evolusi tumbuhan tropis. Namun, jika ingin meneliti keragaman genetik dalam satu spesies secara lebih mendalam, perlu juga menggunakan penanda genetik lain seperti *matK* atau ITS agar hasilnya lebih lengkap (Li et al., 2011).

Dengan mempertimbangkan berbagai temuan dan mengaitkannya dengan teori evolusi molekuler, struktur protein, dan fungsi fotosintesis, eksplorasi ini tidak hanya memperkaya pemahaman tentang genetik *Dioscorea alata*, namun juga mendukung arah penelitian lanjutan dalam konservasi genetik dan pemuliaan tanaman adaptif.

Kesimpulan

Penelitian ini menunjukkan bahwa gen *rbcL* pada *Dioscorea alata* sangat stabil dan hampir tidak mengalami perubahan, menandakan pentingnya gen ini dalam proses fotosintesis dan keberlangsungan hidup tanaman. Keseragaman genetik antar varietas mencerminkan sejarah domestikasi yang panjang, sementara perbedaan dengan spesies lain dalam genus *Dioscorea* mencerminkan adaptasi terhadap lingkungan yang berbeda. Temuan ini menegaskan bahwa gen *rbcL* dapat diandalkan sebagai penanda molekuler dalam studi evolusi dan identifikasi spesies. Namun, untuk memahami keragaman genetik dalam satu spesies lebih dalam, gen ini perlu dikombinasikan dengan penanda lain seperti *matK* atau ITS. Eksplorasi in silico ini juga membuka peluang besar bagi pengembangan varietas unggul *D. alata* demi mendukung ketahanan pangan berbasis sumber daya lokal.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak yang telah menyediakan data sekunder melalui NCBI yang menjadi sumber utama dalam penelitian ini. Selain itu, penulis juga mengapresiasi perangkat lunak dan alat analisis yang telah digunakan dalam penelitian ini, yang sangat mendukung dalam eksplorasi keragaman genetik *Dioscorea alata*.

Daftar Pustaka

- Andersson, I., & Backlund, A., 2008. Structure and function of Rubisco. *Plant Physiology and Biochemistry*, 46(3): 275–291.
- Bakayoko, L., Pokou, D.N., Kouassi, A.B., Agre, P.A., Kouakou, A.M., Dibi, K.E.B., Nzue, B., Mondo, J.M., Adebola, P., Akintayo, O.T., Asfaw, A., & N'Guetta, A.S.P., 2021. Diversity of Water Yam (*Dioscorea alata* L.) Accessions from Côte d'Ivoire Based on SNP Markers and Agronomic Traits. *Plants*, 10(12): 2562.
- Branden, C., & Tooze, J., 1999. *Introduction to Protein Structure*. Garland Publishing (in New York), 67 p
- Dossa, K., Hounbo, M.E., Lechaudel, M., Malédon, E., Zoclanclounon, Y.A.B., Irep, J.L., & Cornet, D., 2024. Detecting the genetic variants associated with key culinary traits in *Dioscorea alata*. *LWT - Food Science and Technology*, 202: 116301
- Kanevski, Igor & Maliga, Pal. 1994. Relocation of the plastid *rbcl* gene to the nucleus yields functional ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase in tobacco chloroplasts. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(5): 1969–1973.
- Kapralov, M. V., Smith, J. A. C., & Filatov, D. A., 2012. Rubisco evolution in C4 eudicots: an analysis of Amaranthaceae sensu lato. *PLOS ONE*, 7(12): e52974.
- Kimura, M., 1983. *The Neutral Theory of Molecular Evolution*. Cambridge University Press (in Cambridge), 15 p
- Kipkiror, N., Muge, E., Ochieno, D., & Nyaboga, E. N., 2022. DNA barcoding markers provide insight into species discrimination, genetic diversity and phylogenetic relationships of yam (*Dioscorea* spp.). *Biologia*, 78: 689–705.
- Li, D. Z., Gao, L. M., Li, H. T., Wang, H., Ge, X. J., Yang, J. B., Zhang, Z. R., & Ma, P. F., 2011. Comparative analysis of a large dataset indicates that internal transcribed spacer (ITS) should be incorporated into the core barcode for seed plants. *PNAS*, 108(49): 19641–19646.
- Sharif, B., Burgarella, C., Cormier, F., Mournet, P., Causse, S., Van, K., Rabier, C., & Chair, H., 2020. Genome-wide genotyping elucidates the geographical diversification and dispersal of the polyploid and clonally propagated yam (*Dioscorea alata*). *Annals of Botany*, 126(6): 1029–1038.
- Shaw, J., Lickey, E. B., Schilling, E. E., & Small, R. L., 2016. Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: The tortoise and the hare III. *American Journal of Botany*, 94(3): 275–288.
- Slamet Santosa, E. & Soekendarsi, E., 2017. Potensi sedimen mangrove dalam mendekomposisi limbah sayuran. *Prosiding Semnas Biologi XXIX*, Unsrat, Manado, 23–24 Agustus 2017.

- Spreitzer, R. J., & Salvucci, M. E., 2002. Rubisco: structure, regulatory interactions, and possibilities for a better enzyme. *Annual Review of Plant Biology*, 53: 449–475.
- Whitney, S. M., Houtz, R. L., & Alonso, H., 2011. Advancing our understanding and capacity to engineer nature's CO₂-sequestering enzyme, Rubisco. *Plant Physiology*, 155(1): 27–35.
- Wuryantoro, W., Wardhani, R., & Puspitawati, I. R., 2019. Yield test of 13 accession groups of Yam (*Dioscorea alata* L.) on three various agroecology. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 347: 012067.