

## Karakterisasi Sekuen Lengkap JJ3 yang Diisolasi dari Kedelai Toleran Naungan

### *Characterization of Full Length Sequence of JJ3 Isolated from Shade Tolerant Soybean*

Nurul Khumaida<sup>1</sup>, Kisman<sup>2\*</sup> dan Didy Sopandie<sup>1</sup>

Diterima 21 Januari 2008/Disetujui 23 Juni 2008

#### ABSTRACT

The aim of this study was to characterize full length sequence of JJ3 isolated from shade tolerant soybean. The characterization of full length sequence involved analyses of structure of full length sequence, open reading frame (ORF) or coding sequence (CDS), and homology. The analyses of JJ3 full length sequence structure were done using GeneScanW program, coding sequence (CDS) or open reading frame (ORF) using ORF Finder program, and the homology of JJ3 full length sequence were done using BLAST and clustalW programs. Results showed that the full length sequence of JJ3 consisted of single exon and polyA. Single exon was a coding sequence (CDS) 633 bp produced open reading frame (ORF) with 210 amino acid deduction comprised of 136 conserved amino acids and 77 varied amino acids. The conserved domain of JJ3 produced functional protein, PsaD photosystem I (PSI) subunit, related to photosynthetic transport electron in PSI reaction center. The full length of JJ3 homolog to *psaD*, a gene encoding protein subunit photosystem I (PSI) related to mechanism of plant adaptation to shade stress, in wood tobacco (*Nicotiana glauca*), rice (*Oryza sativa*), tomato (*Lycopersicon esculentum*), barley (*Hordeum vulgare*), spinach (*Spinacia oleracea*), Arabidopsis (*Arabidopsis thaliana*), and potato (*Solanum tuberosum*).

*Key words:* full length sequence, gene, homology, shade tolerant, soybean

#### PENDAHULUAN

Tanaman kedelai yang dikembangkan sebagai tanaman sela di bawah tegakan perkebunan karet, hutan tanaman industri, atau tumpang sari dengan tanaman semusim lainnya mengalami cekaman intensitas cahaya rendah karena naungan. Tanaman kedelai yang beradaptasi pada kondisi lingkungan cahaya terbatas mampu mengembangkan berbagai perubahan atau mekanisme baik pada tingkat morfologi, fisiologi sampai molekuler (Khumaida, 2002; Sopandie, 2006; Kisman, 2007). Pada tingkat molekuler, kemampuan tanaman untuk beradaptasi pada lingkungan intensitas cahaya rendah tergantung dari ada tidaknya gen yang mengendalikan karakter-karakter yang terkait dengan kemampuan tanaman untuk memanfaatkan intensitas cahaya terbatas secara efisien untuk melangsungkan proses fotosintesis maksimum (Tyagi *et al.*, 2000).

Adaptasi kedelai terhadap intensitas cahaya rendah dikendalikan oleh banyak gen (Handayani, 2003). Selanjutnya Kisman (2007); Kisman *et al.* (2007) melaporkan bahwa adaptasi kedelai terhadap intensitas cahaya rendah yang terkait dengan proses fotosintesis dikendalikan sekurang-kurangnya oleh dua gen mayor untuk karakter kandungan klorofil dan banyak gen untuk karakter hasil dan morfologi daun.

Gen-gen yang berperan kunci dalam proses adaptasi tanaman terhadap intensitas cahaya rendah merupakan gen fotosintetik inti (berasal dari inti) dan gen fotosintetik kloroplas (berasal dari kloroplas). Gen-gen tersebut sangat menentukan kelangsungan proses fotosintesis melalui stabilitas transpor elektron di dalam pusat reaksi fotosistem I dan II dalam kondisi stres naungan. Salah satu gen fotosintetik inti adalah gen *psaD*, gen yang mengkode protein subunit fotosistem I (PSI) dan meningkatkan laju transpor elektron pada beberapa tanaman yang toleran terhadap intensitas cahaya rendah (Hiyama, 1997; Klukas *et al.*, 1999; Allen dan Forsberg, 2001; Pfannschmidt, 2003; Fey *et al.* 2005; Vandenbussche *et al.*, 2005).

Khumaida (2002) mengawali kajian molekuler adaptasi kedelai terhadap cekaman naungan dan berhasil melakukan verifikasi dan identifikasi gen-gen yang terkait adaptasi kedelai terhadap cekaman intensitas cahaya rendah menggunakan metode *differential display* (DD). Tiga fragmen cDNA (*JJ3*, *EE2*, dan *E3*) yang diisolasi dari daun kedelai toleran naungan yang dikondisikan stress naungan selama 9 hari merupakan kandidat gen fotosintetik yang positif terkait erat dengan gen yang mengkode protein kompleks membran tilakoid, masing-masing fotosistem I (PSI), sitokrom, dan fotosistem II (PSII). Selanjutnya Sopandie *et al.*

<sup>1</sup> Staf Pengajar Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian IPB, Jl. Meranti Kampus IPB Darmaga 16680

Telp (0251) 8629353 (\* Penulis untuk korespondensi)

<sup>2</sup> Staf Pengajar Fakultas Pertanian, Universitas Mataram. [kismanm@yahoo.com](mailto:kismanm@yahoo.com)

(2006) berhasil membuat sekuen lengkap (*full length sequence*) fragmen cDNA *JJ3* yang berukuran 261 bp menjadi 841 pasang basa nukleotida. Kisman (2007) juga melaporkan hasil analisis pola ekspresi sekuen lengkap *JJ3* pada tanaman kedelai menggunakan teknik RT-PCR, menunjukkan bahwa *JJ3* tereksresi kuat pada kedelai toleran (varietas Ceneng) dibanding kedelai peka naungan (varietas Godek) pada kondisi lima hari gelap total.

Keberhasilan teknologi dan manipulasi gen *JJ3* di masa datang sangat ditentukan tersedianya informasi menyeluruh terutama struktur dan fungsi gen tersebut. Sejauh ini, karakterisasi dan konfirmasi fungsi sekuen lengkap *JJ3* belum dilakukan. Oleh karena itu telah dilakukan penelitian yang bertujuan untuk melakukan karakterisasi sekuen lengkap gen *JJ3* dan tingkat homologinya dengan gen tahan naungan.

#### BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan adalah sekuen lengkap cDNA *JJ3* 841 bp (Sopandie *et al.*, 2006) hasil pemajangan fragmen cDNA *JJ3* (Khumaida, 2002) menggunakan teknik PCR-RACE (*Rapid Amplification of cDNA End*).

Karakterisasi sekuen lengkap *JJ3* dilakukan melalui tahapan: analisis struktur gen menggunakan program GeneScanW (<http://genes.mit.edu/GENSCANS.html>), analisis sekuen pengkodean

(*coding sequence*, CDS), kerangka translasi (*open reading frame*, ORF), dan domain terkonservasi (*conserved domain*) menggunakan program ORF Finder ([www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html)), dan analisis tingkat homologi urutan basa nukleotida dan deduksi asam amino sekuen lengkap cDNA *JJ3* dengan *database* di GenBank menggunakan program BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) melalui ([www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST2](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST2)) dan program clustalW ([www.ebi.ac.uk/clustalW/index.html](http://www.ebi.ac.uk/clustalW/index.html)) (Mount, 2001; Claverie dan Notredame, 2003; Thomson, 2005; Linn, 2006).

#### HASIL DAN PEMBAHASAN

##### Analisis Struktur Sekuen Lengkap Gen *JJ3*

Hasil estimasi struktur sekuen lengkap *JJ3* menggunakan program GeneScanW (<http://genes.mit.edu/GENSCANS.html>) disajikan pada Gambar 1. Terlihat pada Gambar 1A bahwa sekuen lengkap *JJ3* terdiri atas ekson tunggal (*single exon*) dan poly-Adenin (polyA). Sekuen lengkap *JJ3* tidak memiliki intron karena merupakan sekuen cDNA. Ekson tunggal memiliki panjang 633 bp dimulai dari nukleotida nomor 68 sampai 700 (ditunjukkan pada Gambar 1B) dengan nilai probabilitas cukup tinggi (85%). Panjang poly-Adenin (polyA) 6 bp dimulai dari nukleotida nomor 813 sampai 818.

A. Struktur gen <i>JJ3</i> :												
<i>Gn.Ex</i>	<i>Type</i>	<i>S</i>	<i>.Begin</i>	<i>...End</i>	<i>.Len</i>	<i>Fr</i>	<i>Ph</i>	<i>I/Ac</i>	<i>Do/T</i>	<i>CodRg</i>	<i>P....</i>	<i>Tscr..</i>
1.01	<i>Sngl</i>	+	68	700	633	1	0	106	53	397	0.848	33.89
1.02	<i>PlyA</i>	+	813	818	6							-0.45

B. Sekuen pengkodean ( <i>coding sequence</i> , CDS <i>JJ3</i> ): 633 bp												
atggcaatggcaaccacaagcctctctcttaacccaccctctccggtctcaaagccagcgaccgcgc												
tccgtgccatggaagcaaaactccagcctctccttctccagcccgaagccctcaagttctccagaaca												
atcagagcagcagccgcccagcagaccacagagggcaccagcaaaaagtagaggctgcaccggctcgggttc												
acccaccagaacttgacccaaacacccttccccgatcttcgggggcagcaccggcgggctcctgcgc												
aaggcacaggtggaggagttttatgtcattacgtgggactcacccaaagaacagatctttgaaatgcc												
actggcggcgccgctatcatgagggagggtcctaaccttctcaagttggccaggaaggagcagtgttg												
gctcttgggactaggctcaggtccaagtacaagatcaagtaccagttctacagggtcttccctaaggg												
gaggttcagtatgtgaccctaaggatggtgtttaccctgagaaggtcaacgcccggacgccaaggggtg												
ggtcaaaacttcaggtctattggtagaatgtagtctattgaggtcaagttcactggcaagcagccc												
tatgatttgtga												

Gambar 1. Estimasi struktur sekuen lengkap gen *JJ3* (A) dan sekuen pengkodean (*coding sequence*, CDS) *JJ3* (B)

Hasil analisis program ORF Finder ([www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html)) menunjukkan bahwa ekson tunggal merupakan sekuen pengkodean lengkap (*complete coding sequence*, CDS) atau *protein coding segment* yang membentuk *open reading frame* (ORF) tersusun atas 210 asam amino diawali dengan *start codon atg* (Met) dan diakhiri dengan *stop codon tga* (Gambar 2).

Selanjutnya dari hasil analisis ORF Finder ditunjukkan pada Gambar 3 bahwa *protein coding*

*segment* tersebut atas *varied domain* (Gambar 3A) yang merupakan bagian kelompok asam amino beragam atau tidak terkonservasi dengan panjang 77 asam amino yang terletak pada asam amino 1 sampai 77 dan *conserved domain* (Gambar 3B) yang merupakan bagian kelompok asam amino terkonservasi dengan panjang 133 asam amino mulai asam amino 78 sampai 210. *Conserved domain* atau asam amino terkonservasi menghasilkan protein fungsional PsAD.

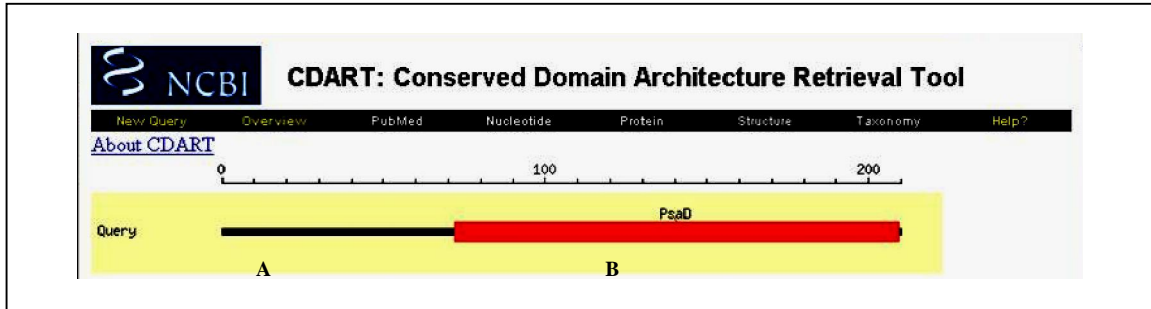
```

68 atggcaatggcaacccaagcctctctcttaaccccacccctctcc
   M A M A T Q A S L L T P P L S
113 ggtctcaaagccagcgcaccgcgctccgtgccatggaagcaaaac
   G L K A S D R A S V P W K Q N
158 tccagcctctccttctccagcccgaagcccctcaagttctccaga
   S S L S F S S P K P L K F S R
203 acaatcagagcagcagccgcccagagaccacagaggcaccagca
   T I R A A A A D E T T E A P A
248 aaagtagaggctgcaccggctcgggttcaccccaccagaacttgac
   K V E A A P V G F T P P E L D
293 ccaaacaccccttccccgatcttcgggggcagcaccggcgggctc
   P N T P S P I F G G S T G G L
338 ctgcgcaaggcacaggtggaggagttttatgtcattacgtgggac
   L R K A Q V E E F Y V I T W D
383 tcacccaaagaacagatctttgaaatgccactggcggcgccgct
   S P K E Q I F E M P T G G A A
428 atcatgagggagggtcctaaccttctcaagttggccaggaaggag
   I M R E G P N L L K L A R K E
473 cagtgccttggtcttgggactaggctcaggtccaagtacaagatc
   Q C L A L G T R L R S K Y K I
518 aagtaccagttctacagggcttccctaataggggagggttcagtat
   K Y Q F Y R V F P N G E V Q Y
563 ttgcaccctaaggatgggtgtttaccctgagaagggtcaacgccgga
   L H P K D G V Y P E K V N A G
608 cgccaaggggtgggtcaaaacttcaggtctattggtaagaatggt
   R Q G V G Q N F R S I G K N V
653 agtcctattgaggtcaagttcactggcaagcagccctatgatggtg
   S P I E V K F T G K Q P Y D L
698 tga 700
      *
    
```

Gambar 2. *Open reading frame* (ORF) yang terdiri atas 210 asam amino deduksi diawali *start codon atg* (Met) dan diakhiri *stop codon tga*

Protein PsAD merupakan protein ekstrinsik subunit fotosistem I (PSI) yang terletak pada sisi stromal pada membran tilakoid kloroplas (Xia *et al.*, 1998). Analisis fungsi dari protein PsAD (BM 15 kDA) menunjukkan

bahwa protein tersebut terkait dengan transpor elektron dalam transduksi signal cahaya pada proses fotosintesis (Kraub dan Saenger, 2001).



Gambar 3. Diagram ORF *JJ3* terdiri atas domain beragam (*varied domain*) (A) dan domain terkonservasi (*conserved domain*) (B)

Lagoutte *et al.* (2001) melaporkan bahwa PsaD terkait dalam menstabilkan docking ferredoksin yang berperan penting dalam transpor elektron selama proses fotosintesis berlangsung. Hal yang sama dilaporkan Jiao *et al.* (2004) bahwa PsaD juga berfungsi sebagai oksidoreduktase dari plastocyanin: ferredoxin yang mengkatalisis transfer elektron dari plastocyanin tereduksi ke ferredoxin teroksidasi di dalam rantai transpor elektron pada membran tilakoid.

#### Analisis Homologi Sekuen Lengkap *JJ3*

Hasil analisis homologi CDS *JJ3* menggunakan program BLAST menunjukkan bahwa *JJ3* yang

diisolasi dari kedelai toleran naungan memiliki tingkat kesamaan nukleotida yang cukup tinggi (sekitar 80%) begitu juga dengan sekuen asam amino (sekitar 95%) dengan gen *psaD* pada tanaman tembakau kayu (*Nicotiana sylvestris*), kemudian diikuti berturut-turut dengan gen *psaD* pada tanaman padi (*Oryza sativa*), bayam (*Spinacia oleracea*), barley (*Hordeum vulgare*), tomat (*Lycopersicon esculentum*), Arabidopsis (*Arabidopsis thaliana*), dan kentang (*Solanum tuberosum*) sebagaimana disajikan pada Tabel 1. Tingkat homologi ini lebih besar dari yang dilaporkan sebelumnya (Hiyama, 1997).

Tabel 1. Tingkat homologi CDS *JJ3* dengan gen *psaD* beberapa spesies tanaman lain

Spesies tanaman	Basa nukleotida		Asam amino deduksi		Fungsi gen
	No. Akses	Homologi (%)	No. Akses	Homologi (%)	
Tembakau kayu <i>N. sylvestris</i>	X60008	340/407 (83)	P29302	56/58 (96)	Gen <i>psaDa</i> PSI-D2
Padi <i>O. sativa</i>	AY224449	262/317 (82)	XM483783	53/58 (91)	Pusat reaksi PSI subunit II
Bayam <i>S. oleracea</i>	X14017	165/199 (82)	P12353	53/58 (91)	Pusat reaksi PSI protein 20 kDa ( <i>psaD</i> )
Barley <i>H. vulgare</i>	M98254	247/302 (81)	P36213	53/58 (91)	Fotosistem I subunit PSI-D ( <i>PsaD</i> )
Tomat <i>L. esculentum</i>	M21344	310/389 (79)	P12372	55/58 (93)	Pusat reaksi PSI subunit II (gen <i>psaD</i> )
Arabidopsis <i>A. thaliana</i>	AJ245906	312/392 (79)	Q9SA56	51/58 (88)	Gen <i>psaD</i> untuk subunit II
Kentang <i>S. tuberosum</i>	AJ556864	323/407 (79)	Q70PN9	51/58 (88)	Pusat reaksi PSI subunit PSI-D ( <i>PsaD</i> )

Hasil pensejajaran ganda (*multi alignment*) sekuen pengkodean CDS *JJ3* dengan gen *psaD* beberapa spesies tanaman lain menggunakan program clustalW juga menunjukkan tingkat homologi dan nukleotida konsensus yang tinggi, sebagaimana disajikan pada

Gambar 4. Demikian juga hasil pensejajaran ganda sekuen asam amino deduksi CDS *JJ3* menunjukkan tingkat kesamaan dan daerah konsensus yang cukup tinggi dengan gen *psaD* beberapa spesies tanaman lain, sebagaimana disajikan pada Gambar 5.

<i>A. thaliana</i>	AAAACAATGGCAACTCAAGCCGCCGGGATCTTCAACTCCGCCATAACAACCGCCGCAACCT-----
<i>H. vulgare</i>	ATGGCCATGGCCACGCAAGCCTCGG---CGGCGACGCGCCACCTGATCACCAGCGGCCTGGT-----
<i>JJ3</i>	ATGGCAATGGCAACCCAAGCCTCTC---TCTTAACCCACCCCTCTCCGGTCTCAAAGCCAGCGACCGC
<i>L. esculentum</i>	ATGGCTATGGCAACTCAAGCTTCCC---TCTTACCCTCTCTCTCCGTCCCCAAATCCA-----
<i>N. sylvestris</i>	ATGGCCATGGCAACTCAAGCTTCTC---TCTTCACTCCAGCTCTCTCTGCCCAAATCTT-----
<i>O. sativa</i>	ATGGCCATGGCCACGCAAGCCTCCG---CCGCCAAGTGCCACCTCTCTCGCCGCCTGGGCAC-----
<i>S. oleracea</i>	ATGGCCATGGCAACTCAAGCCACCCTTCTCTCCCATCTTCTCTCTCCTCCGCAAAAACCCATTGACACC
<i>S. tuberosum</i>	ATGGCCATGGCAACTCAAGCTTCCC---TCTTACCCTGCTCTCTCCGTCCCCAAATCCA-----
	* *
<i>A. thaliana</i>	TTTGAGATGCCGACAGGAGGAGCAGCATCATGAGAGAAGGTCCGAATCTTCTGAAGCTAGCGAGGAAA
<i>H. vulgare</i>	TTCGAGATGCCACCGCGCGGCCATCATGCGCGAGGGCCCCAACCTCCTCAAGCTCGCCCGCAAG
<i>JJ3</i>	TTTGAATGCCACTGGCGCGCCGCTATCATGAGGGAGGGTCTAACCTTCTCAAGTTGGCCAGGAAG
<i>L. esculentum</i>	TTTGAGATGCCAACAGGTGGTGTCTATAATGAGACAAGGACCAAAATTTGTTGAAATTTGGCAAGGAAA
<i>N. sylvestris</i>	TTTGAGATGCCAACTGGTGGTGCAGCTATTATGAGGAAAGGTGCTAATTTGCTGAAATTTGGCGAGGAAA
<i>O. sativa</i>	TTCGAGATGCCACGGGCGGCCGCCATCATGCGCGAGGGCCCCAACCTGCTGAAGCTGGCCAGGAAG
<i>S. oleracea</i>	TTCGAGATGCCAACAGGAGGAGCAGCAATAATGAGGAAAGGACCAAACTTGTAAAATTAGCACGTAAA
<i>S. tuberosum</i>	TTCGAGATGCCAACAGGTGGTGTCTATAATGAGAGAAGGACCAAAATTTGTTGAAATTTGGCCAGGAAA
	** *
<i>A. thaliana</i>	GAGCAGTGTTTAGCTTTGGGGACAAGGCTTAGATCCAAGTACAAGATCACTTACCAGTTTTACAGAGTG
<i>H. vulgare</i>	GAGCAGTGCCCTCGCCCTCGGCAACCGCCTCCGCTCCAAGTACAAGATCGCTACCAGTCTACCAGCGTC
<i>JJ3</i>	GAGCAGTGCTTGGCTCTTGGGACTAGGCTCAGGTCCAAGTACAAGATCAAGTACCAGTTCTACAGGGTC
<i>L. esculentum</i>	GAACAGTGCTTAGCTTGGTACAAGTTGAGATCTAAATACAAGATCAATTACCAGTTTTACAGGGTT
<i>N. sylvestris</i>	GAGCAGTGTTTAGCACTTGGTACTAGGCTTAGGTCAAAGTACAAGATTAACCTACAGGTTTACAGGGTG
<i>O. sativa</i>	GAGCAGTGCTTGGCCCTGGGCACCAGGCTCCGCTCCAAGTACAAGATCAACTACCAGTCTACCAGCGTC
<i>S. oleracea</i>	GAGCAATGTTTAGCACTTGAACAAGACTTAGGTCTAAATACAAGATTAAGTACCAATTTTACAGGGTT
<i>S. tuberosum</i>	GAACAGTGCTTAGCTTGGTACAAGTTGAGATCCAATACAAGATTAACCTACCAGTTTTACAGGGTA
	** *
<i>A. thaliana</i>	TTTCCTAACGGTGAGGTTCAATATCTTCATCTTAAAGATGGTGTATCCAGAGAAGGCGAATCCAGGA
<i>H. vulgare</i>	TTCCCAACGGCGAGGTGCAGTACCTCCACCCCAAGGACGGCGTCTACCCGGAGAAGGTCAACGCCGGC
<i>JJ3</i>	TTCCCTAATGGGGAGGTTCAATATTGACCCCTAAGGATGGTGTTTACCTGAGAAGGTCAACGCCGGA
<i>L. esculentum</i>	TTCCCAATGGCGAGGTGCAATATTTGCATCCCAAGATGGTGTGTACCCTGAAAAAGTGAACCCTGGT
<i>N. sylvestris</i>	TTTCCTAATGGTGAGGTTCAATACTTGCACCTAAGGATGGTGTGTACCCAGAAAAGGTGAACGCTGGC
<i>O. sativa</i>	TTCCCAATGGCGAGGTGCAGTACCTCCACCCCAAGGACGGCGTCTACCCGGAGAAGGTCAACGCCGGC
<i>S. oleracea</i>	TTCCCAAGTGGTGAAGTTCAATATTACACCCTAAGATGGTGTTTACCCAGAAAAGGTTAACCCCTGGT
<i>S. tuberosum</i>	TTCCCAATGGTGAGGTGCAATATTTGCATCCCAAGATGGTGTGTACCCTGAAAAAGGTTAACCCCTGGG
	** *
<i>A. thaliana</i>	AGAGAAGGTGTTGGTCTCAACATGAGATCTATTGGGAAAAATGTTAGTCCCATTGAAGTTAAGTTTACT
<i>H. vulgare</i>	AGGCAGGGCGTGGGACAGAACTTCCGACGATCGGCAAGAACGTCAGCCCCATCGAGGTCAAGTTACCC
<i>JJ3</i>	CGCCAAGGGGTGGGTCAAAACTTCAGGTCTATTGGTAAGAATGTTAGTCTATTGAGGTCAAGTTCACT
<i>L. esculentum</i>	CGTGAAGGAGTGGTTCAGAACTTCAGATCAATTTGGGAAGAACAAAGAGTGCTATTGAAGTCAAGTTTACT
<i>N. sylvestris</i>	CGTCAAGGAGTTGGACAGAACTTCAGATCCATTGGTAAGAACAAAGAGCCCCAATTGAGGTCAAGTTCACT
<i>O. sativa</i>	AGGCAGGGCGTGGCCAGAACTTCCGACGATCGGCAAGAACGTCAGCCCCATCGAGGTCAAGTTACCC
<i>S. oleracea</i>	AGACAAGGTGTTGGGTTAAACATGAGGTCTATTGGTAAGAATGTTAGCCCTATTGAGGTTAAATTTACT
<i>S. tuberosum</i>	CGTGAAGGAGTGGTTCAGAACTTTAGATCCATTGGAAAAGAACAAGAGTGCTATTGAAGTCAAGTTTACT
	* *
<i>A. thaliana</i>	GGCAAACAAGTTATGATTTGTAA
<i>H. vulgare</i>	GGCAAGAACTCCTTCGACATCTAA
<i>JJ3</i>	GGCAAGCAGCCCTATGATTTGTGA
<i>L. esculentum</i>	GGGAAACAAGTGTATGATATTTAA
<i>N. sylvestris</i>	GGCAAACAAGTGTATGATTTGTAA
<i>O. sativa</i>	GGCAAGAACGTCTTCGACATCTAG
<i>S. oleracea</i>	GGCAAGCAACCTTATGATTTGTAA
<i>S. tuberosum</i>	GGGAAACAAGTGTATGATATTTAA
	** * * * * * * * * * *

Gambar 4. Hasil pensejajaran CDS *JJ3* dengan gen *psaD* beberapa spesies tanaman lain. Tanda aktris (\*) menunjukkan nukleotida konsensus.

Hasil analisis tingkat homologi CDS *JJ3* memberikan indikasi kuat bahwa sekuen lengkap cDNA *JJ3* yang diisolasi dari kedelai toleran naungan merupakan gen *psaD* pada tanaman kedelai yang menyebabkan tanaman kedelai mampu beradaptasi pada kondisi stres naungan. Dengan kata lain, over ekspresi gen *JJ3* pada tanaman kedelai akan meningkatkan laju

transpor elektron pada proses fotosintesis sehingga dalam kondisi kurang cahaya fiksasi energi dari fotosintesis dapat berjalan normal. Dilaporkan Muhuria (2007) bahwa laju transpor elektron pada kedelai toleran naungan (Ceneng) lebih tinggi dibanding genotipe peka naungan (Godek).

<i>A. thaliana</i>	--MATQAAGIFSP-AITTTTS-----AVKKLHLFSSSHRPKLSFTKTAIRAECTESSS	51
<i>H. vulgare</i>	MAMATQAS-AATRHLITAAWSPS-----AKPRPATLAMPSSARGPAPLFAAAPD-TPA	51
<i>JJ3</i>	MAMATQAS-LLTP-PLSGLKASDR-ASVPWQNSSLSFSPPKPLKFSRTIRAAAADETTE	57
<i>L. esculentum</i>	MAMATQAS-LFTP-PLSVPKST----TAPWKQ-SLVSFSTPKQLKSTVSVTRPIRAMAEE	53
<i>N. sylvestris</i>	MAMATQAS-LFTP-ALSAPKS----SAPWKQ-SLASFS-PKQLKSTVSAPRPIRAMAEE	51
<i>O. sativa</i>	MAMATQAS-AAKCHLL-AAWAP-----AKPRSSTLSMPTS-RAPTSLRAAAED-QPA	48
<i>S. oleracea</i>	MAMATQAT-LFSPSSLSAKPIDTRLTTSFKQPSAVTFA-SKPASRHHSIRAAAAAEGKA	58
<i>S. tuberosum</i>	MAMATQAS-LFTP-ALSVPKS----TAPWKQ-SLLSFSTPKQLKSTVSVTRPIRAMAEE	52
	*****	
<i>A. thaliana</i>	AA--PAVKEAPVGFPTPPQLDPNTPSPIFAGSTGGLLRKAQVEEFYVITWNSPKEQIFEMP	109
<i>H. vulgare</i>	PAAPP-AEPAPAGFVPPQLDPSTPSPIFGGSTGGLLRKAQVEEFYVITWTSPEQVFEMP	110
<i>JJ3</i>	AP--AKVEAAPVGFPTPELDPNTPSPIFGGSTGGLLRKAQVEEFYVITWDSPEQIFEMP	115
<i>L. esculentum</i>	APAATEEKPAPAGFPTPPQLDPNTPSPIFGGSTGGLLRKAQVEEFYVITWESPEQIFEMP	113
<i>N. sylvestris</i>	A--ATKEAEAPVGFPTPPQLDPNTPSPIFGGSTGGLLRKAQVEEFYVITWESPEQIFEMP	109
<i>O. sativa</i>	AAATEEKPAPAGFVPPQLDPNTPSPIFGGSTGGLLRKAQVEEFYVITWTSPEQVFEMP	108
<i>S. oleracea</i>	AA-ATEEKPAPAGFPTPELDPNTPSPIFAGSTGGLLRKAQVEEFYVITWESPEQIFEMP	117
<i>S. tuberosum</i>	APAATEEKPAPAGFPTPPQLDPNTPSPIFGGSTGGLLRKAQVEEFYVITWESPEQIFEMP	112
	** *	
<i>A. thaliana</i>	TGGAAIMREGPNLLKLARKEQCLALGTRLRSKYKITYQFYRVFPNGEVQYLHPKDGVPYE	169
<i>H. vulgare</i>	TGGAAIMREGPNLLKLARKEQCLALGNRLRSKYKIAYQFYRVFPNGEVQYLHPKDGVPYE	170
<i>JJ3</i>	TGGAAIMREGPNLLKLARKEQCLALGTRLRSKYKIKYQFYRVFPNGEVQYLHPKDGVPYE	175
<i>L. esculentum</i>	TGGAAIMRQGPNNLLKLARKEQCLALGTRLRSKYKINYQFYRVFPNGEVQYLHPKDGVPYE	173
<i>N. sylvestris</i>	TGGAAIMREGANLLKLARKEQCLALGTRLRSKYKINYRFYRVFPNGEVQYLHPKDGVPYE	169
<i>O. sativa</i>	TGGAAIMREGPNLLKLARKEQCLALGTRLRSKYKINYQFYRVFPNGEVQYLHPKDGVPYE	168
<i>S. oleracea</i>	TGGAAIMREGPNLLKLARKEQCLALGTRLRSKYKIKYQFYRVFPNGEVQYLHPKDGVPYE	177
<i>S. tuberosum</i>	TGGAAIMREGPNLLKLARKEQCLALGTRLRSKYKINYQFYRVFPNGEVQYLHPKDGVPYE	172
	***** * ***** * ***** * ***** *****	
<i>A. thaliana</i>	KANPGREGVGLNMRSIGKNVSPIEVKFTGKQSYDL	204
<i>H. vulgare</i>	KVNAGRQGVGNFRSIGKNVSPIEVKFTGKNSTFDI	205
<i>JJ3</i>	KVNAGRQGVGNFRSIGKNVSPIEVKFTGKQPYDL	210
<i>L. esculentum</i>	KVNPGREGVGNFRSIGKNKSAIEVKFTGKQVYDI	208
<i>N. sylvestris</i>	KVNAGRQGVGNFRSIGKNKSAIEVKFTGKQVYDL	204
<i>O. sativa</i>	KVNAGRQGVGNFRSIGKNVSPIEVKFTGKNVFDI	203
<i>S. oleracea</i>	KVNPGREGVGLNMRSIGKNVSPIEVKFTGKQPYDL	212
<i>S. tuberosum</i>	KVNPGREGVGNFRSIGKNKSAIEVKFTGKQVYDI	207
	* *	

Gambar 5. Hasil penjejajaran sekuen lengkap asam amino *JJ3* dengan spesies tanaman lain. Tanda aktris (\*) menunjukkan daerah konsensus

**KESIMPULAN**

1. Struktur sekuen lengkap *JJ3* tersusun atas ekson tunggal yang merupakan sekuen pengkodean (*coding sequence*, CDS) dan poly-A.
2. Sekuen pengkodean (CDS) *JJ3* 633 bp dengan *open reading frame* (ORF) 210 asam amino terdiri

- atas atas 136 asam amino terkonservasi (*conserved domain*) dan 77 asam amino beragam (*varied domain*).
3. *Conserved domain JJ3* menghasilkan protein fungsional PsaD subunit PSI yang fungsinya terkait dengan transport elektron fotosintesis pada pusat reaksi PSI

4. Sekuen lengkap *JJ3* homolog dengan gen *psaD* pada tanaman tembakau liar (*Nicotiana glauca*), padi (*Oryza sativa*), bayam (*Spinacia oleracea*), barley (*Hordeum vulgare*), tomat (*Lycopersicon esculentum*), Arabidopsis (*Arabidopsis thaliana*), dan kentang (*Solanum tuberosum*).

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Makalah ini sebagian merupakan hasil penelitian yang didanai Hibah Tim Pascasarjana dan Hibah Insentif Riset Dasar 2007.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Allen, J.F., J. Forsberg. 2001. Molecular recognition in thylakoid structure and function. *Trends Plant Sci.* 6:317–326.
- Claverie, J-M., C. Notredame. 2003. *Bioinformatics for Dummies*. Indiana: Wiley Publishing, Inc. 452 p.
- Fey, V., R. Wagner, K. Bräutigam, T. Pfannschmidt. 2005. Photosynthetic redox control of nuclear gene expression. *J. Exp. Bot.* 56:1491-1498.
- Handayani, T. 2003. Pola pewarisan sifat toleran terhadap intensitas cahaya rendah pada kedelai (*Glycine max* L. Merr) dengan penciri spesifik karakter anatomi, morfologi dan molekuler (Disertasi). Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 175 hal.
- Hiyama, T. 1997. Fotosystem I: Structures and Functions. In Pessaraki (ed.). *Hand Book of Photosynthetic*. New York: Marcel Dekker, Inc. p. 195-218.
- Jiao, D.M., H.Y. Tong, J.X. Zhang. 1993. Identification of photosynthetic characteristics adapted to wide range of light intensities in rice varieties. *Chinese J. Rice. Sci.* 7:243-246.
- Khumaida, N., Y. Takami, N. Sugiyama, D. Sopandie, T. Takano. 2003. Adaptability of soybean to shade stress: Photosynthetic properties of LI-tolerant and LI-sensitive soybean. *Proceedings of the 2<sup>nd</sup> Seminar on "Toward Harmonization between Development and Environmental Conservation in Biological Production"*, The University of Tokyo, Japan, February 15-26, 2003.
- Khumaida, N. 2002. Studies on adaptability of soybean and upland rice to shade stress (Dissertation). The University of Tokyo. Tokyo. 98 p.
- Kisman, 2007. Analisis genetik dan molekuler adaptasi kedelai terhadap intensitas cahaya rendah berdasarkan karakter morfo-fisiologi daun (Disertasi). Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 143 hal.
- \_\_\_\_\_, Lestari, N. Khumaida, D. Sopandie. 2005. Fisiologi dan molekuler efisiensi penggunaan intensitas cahaya rendah pada kedelai toleran naungan. Makalah pada Seminar Nasional Kongres III dan Seminar Nasional Perhimpunan Bioteknologi Pertanian Indonesia di Universitas Brawijaya Malang pada 12-13 April 2005
- \_\_\_\_\_, N. Khumaida, Trikoesoemaningtyas, Sobir, D. Sopandie. 2007. Karakter morfo-fisiologi daun, penciri adaptasi kedelai terhadap intensitas cahaya rendah. *Bul. Agron.* 35:96-102
- Klukas, O., S. Wolf-Dieter, P. Jordan, N. Krauß, P. Fromme, H.T. Witt, W. Saenger. 1999. Photosystem I, an improved model of the stromal subunits PsaC, PsaD, and PsaE. *J. Biol. Chem.* 274: 7351-7360.
- Kraub, N., W. Saenger. 2001. Photosystem I. *Encyclopedia of Life Sciences*. Nature Publishing Group / [www.els.net](http://www.els.net).
- Lagoutte, B., J. Hanley, H. Bottin. 2001. Multiple functions for the C terminus of the PsaD subunit in the cyanobacterial photosystem I complex. *Plant Physiol.* 126:307-316.
- Lynn, D. 2006. *Introduction to bioinformatics*. The Conway Institute of Biomolecular and Biomedical Research University College Dublin. International Livestock Research Institute. Kenya. 123 p.
- Mount, D.W. 2001. *Bioinformatics: Sequence and Genome Analysis*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York.
- Muhuria, L. 2007. Mekanisme fisiologi dan pewarisan sifat toleransi kedelai (*Glycine max* L. Merrill) terhadap intensitas cahaya rendah (Disertasi). Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 163 hal.
- Pfannschmidt, T. 2003. Chloroplast redox signals: how photosynthesis controls its own genes. *Trends in Plant Sci.* 8: 33-41.
- Sopandie, D., Trikoesoemaningtyas, N. Khumaida. 2006. Fisiologi, genetik, dan molekuler adaptasi kedelai terhadap intensitas cahaya rendah: Pengembangan varietas unggul kedelai sebagai

- tanaman sela. Laporan Akhir Penelitian Hibah Penelitian Tim Pascasarjana-HPTP Angkatan II Tahun 2004-2006. Dirjen Dikti Depdiknas.
- \_\_\_\_\_. 2006. Perspektif Fisiologi dalam Pengembangan Tanaman Pangan di Lahan Marjinal. Orasi Ilmiah Guru Besar Tetap Fisiologi Tanaman. Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor, 16 September 2006. 120 hal.
- Thomson, M. 2005. The Role of bioinformatics in agricultural biotechnology. Makalah pada Seminar Nasional Kongres III dan Seminar Nasional Perhimpunan Bioteknologi Pertanian Indonesia di Universitas Brawijaya Malang 12-13 April 2005.
- Tyagi, A.K., A. Dhingra, Raghuvanshi. 2000. Light-regulated expression of photosynthesis-related genes. *In* Yunus M., U. Pathre, P. Mohanty (eds). Probing Photosynthesis. Mechanisms, regulation and adaptation. Taylor & Francis. London. p. 324-341.
- Tyas, K.N. 2006. Adaptasi kedelai terhadap intensitas cahaya rendah melalui efisiensi penangkapan cahaya. (Tesis). Sekolah Pascasarjana IPB, Bogor. 68h.
- Vandenbussche, F., R. Pierik, F.F. Millenaar, L.A.C.J. Voesenek, D. Van Der Straeten. 2005. Reaching out of the shade. *Curr. Opinion in Plant Biol.* 8:462-468.
- Xia, Z., R.W. Broadhurst, E.D. Laue, D.A. Bryant, J.H. Golbeck, D.S. Bendall. 1998. Structure and properties in solution of PsaD, an extrinsic polypeptide of photosystem I. *Europ. J. Biochem.* 255: 309-316.