

Info Artikel Diterima Januari 2026
Disetujui April 2026
Dipublikasikan Juli 2026

Karakterisasi In Silico Gen GBSSI (*Granule-Bound Starch Synthase I*) pada Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.)

In Silico Characterization of the GBSSI (*Granule-Bound Starch Synthase I*) Gene in Rice Plant (*Oryza sativa* L.)

Susi Indriani¹, Andi Besse Poleuleng², Dian Magfirah Hala², Muh. Dzulkifly Ashan³, Yulius Budi Prastiyo³

**¹Program Studi Teknologi Produksi Tanaman Pangan
Jurusan Teknologi Produksi Pertanian
Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene Kepulauan**

**²Program Studi Teknologi Produksi Tanaman Perkebunan
Jurusan Teknologi Produksi Pertanian
Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene Kepulauan**

**³Program Studi Teknologi Produksi Tanaman Hortikultura
Jurusan Teknologi Produksi Pertanian
Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene Kepulauan**

Email: indrianisusi@polipangkep.ac.id

Abstract

*Granule-Bound Starch Synthase I (GBSSI) is a key enzyme in amylose biosynthesis that determines starch functionality in rice plant (*Oryza sativa* L.). This study aimed to investigate the molecular characteristics of the GBSSI gene through in silico analyses, including sequence characterization, nucleotide conservation, domain annotation, and protein structure prediction. Thirteen transcript–protein pairs were retrieved from the NCBI database, comprising curated RefSeq sequences (NM/NP) and predicted models (XM/XP). The coding sequence lengths ranged from 1,827 to 1,836 nucleotides, while the encoded proteins consisted of 608–611 amino acids, indicating a high degree of homogeneity among GBSSI isoforms. Multiple sequence alignment performed using Clustal Omega revealed extensive conservation across the CDS regions, particularly at the 5' end of the gene, with only limited variation that is unlikely to disrupt the core catalytic function. One RefSeq sequence, NM_001402723.1, was selected as a representative for subsequent analyses. Open reading frame identification confirmed the presence of a complete coding region, and domain annotation detected hallmark glycosyltransferase motifs and ADP-glucose-binding sites typical of plant starch synthases. Three-dimensional structure prediction using AlphaFold produced a high-confidence model that exhibited complete sequence identity with the UniProt reference protein. Collectively, these findings highlight the strong structural conservation of GBSSI in rice and provide a molecular framework for interpreting the functional implications of sequence variation within starch metabolic pathways and rice grain quality traits.*

Keywords: GBSSI; *Oryza sativa*; in silico analysis; starch biosynthesis

Abstrak

*Granule-Bound Starch Synthase I (GBSSI) merupakan enzim kunci dalam biosintesis amilosa yang menentukan sifat fungsional pati pada tanaman padi (*Oryza sativa* L.). Penelitian ini bertujuan mengkaji karakteristik molekuler gen GBSSI secara in silico melalui analisis sekuens, konservasi nukleotida, anotasi domain, serta prediksi struktur protein. Sebanyak 13 pasangan transkrip–protein diperoleh dari basis data NCBI, mencakup sekuens terkurasi RefSeq (NM/NP) dan hasil prediksi (XM/XP). Panjang coding sequence berkisar antara 1.827–1.836 nukleotida dengan panjang protein 608–611 asam amino, menunjukkan tingkat homogenitas yang tinggi antar isoform. Multiple sequence alignment menggunakan Clustal Omega mengungkap dominasi wilayah konservatif pada CDS, terutama di bagian awal gen, disertai variasi terbatas yang diduga tidak mengganggu fungsi katalitik utama. Salah satu sekuens RefSeq, NM_001402723.1, dipilih sebagai representatif untuk analisis lanjutan. Translasi dan penentuan open reading frame menunjukkan keberadaan kerangka baca lengkap, sementara anotasi domain mengidentifikasi motif glikosiltransferase serta situs pengikatan ADP-glukosa khas starch synthase tanaman. Prediksi struktur tiga dimensi berbasis AlphaFold menghasilkan model dengan tingkat kepercayaan tinggi dan kesesuaian penuh terhadap protein referensi UniProt. Secara keseluruhan, hasil ini menegaskan konservasi struktural GBSSI pada padi dan menyediakan kerangka molekuler untuk menafsirkan implikasi variasi sekuens terhadap jalur metabolisme pati serta sifat mutu beras.*

Kata kunci: GBSSI, *Oryza sativa*, analisis in silico, Biosintesis pati

PENDAHULUAN

Starch adalah komponen dominan dari biji tanaman padi (*Oryza sativa* L.), menyumbang sebagian besar kandungan karbohidrat yang menjadi sumber energi utama bagi lebih dari setengah populasi dunia (Farooq & Yu, 2025). Starch tersusun dari dua polisakarida utama, yaitu amilosa dan amilopektin, yang secara kolektif menentukan sifat fungsional dan kualitas pangan beras, termasuk tekstur setelah dimasak serta indeks glikemik yang berpengaruh pada kesehatan metabolik manusia, seperti diabetes dan obesitas (Chaichoompu *et al.*, 2024). Pembentukan amylose secara khusus dikendalikan oleh enzim *granule-bound starch synthase I* (GBSSI), yang dikodekan oleh gen *waxy* di kromosom 6 pada padi dan menjadi penentu kadar amylose dalam endosperma biji padi (Wu *et al.*, 2024; Wang *et al.*, 2025). Variasi genetik dan regulasi ekspresi dari gen ini menunjukkan korelasi yang kuat dengan perbedaan fenotipik dalam profil starch pada berbagai varietas tanaman padi (Maung *et al.*, 2021).

Pendekatan in silico telah menjadi alat penting dalam menggali informasi struktur, variasi sekuens, dan interaksi fungsional gen GBSSI tanpa memerlukan seluruh proses eksperimental laboratorium untuk langkah awal analisis (Rathinasabapathi *et al.*, 2015). Metode ini memanfaatkan data genom dan algoritma komputasi untuk memprediksi domain protein, analisis mutasi

fungsi, serta hubungan evolusioner antara haplotipe GBSSI pada populasi padi yang luas (Zhang *et al.*, 2021). Hasil studi menunjukkan adanya variasi single-nucleotide polymorphisms (SNPs) fungsi yang signifikan dalam gen GBSSI antara kelompok padi liar dan yang dibudidayakan, yang berimplikasi pada profil amilosa dan potensi pemilihan varietas dalam program pemuliaan (Maung *et al.*, 2021; Singh *et al.*, 2017).

Selain itu, profil metabolit biji padi yang komprehensif juga berkembang sebagai parameter penting untuk mengevaluasi pengaruh gen terhadap sifat biokimia tanaman. Analisis metabolomik pada tanaman padi (*Oryza sativa* L.) telah mengidentifikasi puluhan hingga ratusan metabolit primer dan sekunder yang sesuai dengan karakter genetik dan perlakuan lingkungan, termasuk senyawa gula sederhana, asam amino, dan flavonoid yang berdampak pada kualitas nutrisi dan fisik endosperma (Zhang *et al.*, 2022; Zhao *et al.*, 2024). Kombinasi antara data genomik dan profil metabolit membuka wawasan baru dalam memahami bagaimana variasi genetik, khususnya pada enzim biosintesis amilosa seperti GBSSI, mempengaruhi jalur metabolik secara keseluruhan dalam biji padi (Feng *et al.*, 2025; Kim *et al.*, 2013).

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan melakukan karakterisasi *in silico* gen GBSSI pada tanaman padi (*Oryza sativa* L.) serta menelaah implikasinya terhadap profil metabolit serta memberikan dasar struktur, susunan nukleotida, serta sifat molekuler gen GBSSI yang berperan dalam biosintesis pati pada padi.

METODE PENELITIAN

1) Pengambilan dan Pengolahan Data Genomik

Sekuen gen GBSSI (Waxy) diperoleh dari basis data publik seperti NCBI GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) untuk sejumlah akses padi yang representatif. Data mentah diperiksa kualitasnya dan disiapkan untuk analisis lebih lanjut melalui pemformatan standar FASTA dan filtering untuk memastikan integritas setiap sekuen (Jayhoon & Kumar, 2024).

2) Multiple Sequence Alignment dan Identifikasi Variasi

Setelah pengambilan data sekuens, dilakukan multiple sequence alignment (MSA) menggunakan Clustal Omega (<https://www.ebi.ac.uk/jdispatcher/>) untuk mendeteksi variasi seperti single nucleotide polymorphisms (SNP) dan Indels yang terdapat dalam gen GBSSI. Pola variasi ini kemudian dianalisis untuk menilai potensi fungsionalnya, baik yang bersifat konservatif maupun yang berimplikasi terhadap fungsi enzimatis (Jayhoon & Kumar, 2024).

3) Analisis Domain dan Prediksi Struktur Protein GBSSI

Analisis domain dan pemodelan struktur tiga dimensi difokuskan pada sekuens mRNA kurasi RefSeq (NM_) yang dipilih sebagai representatif setelah tahap penyelarasan multipel. Sekuen protein GBSSI yang telah dikurasi pada tahap sebelumnya diterjemahkan dari CDS menggunakan perangkat lunak ExPASy Translate Tool (<https://web.expasy.org/translate/>). Identifikasi domain konservatif dilakukan menggunakan InterProScan versi daring (<https://www.ebi.ac.uk/interpro/search/sequence/>). Sekuen asam amino hasil translasi kemudian dibandingkan dengan sekuens protein referensi pada basis data

UniProtKB untuk memverifikasi identitas protein serta anotasi fungsional awal (<https://www.uniprot.org/>).

HASIL DAN PEMBAHASAN

1) Data Genomik NCBI

Tabel 1. Daftar sekuens gen GBSSI (Granule-Bound Starch Synthase I) tanaman padi (*Oryza sativa* L) yang digunakan dalam analisis in silico

No	Gene ID NCBI	Transkrip mRNA	Protein	Panjang CDs (nt)	Panjang protein (aa)	Status
1	LOC4340018	XM_015789003.3	XP_015644489.1	1,836	611	Komplit
2	LOC4340018	XM_066311128.1	XP_066167225.1	1,836	611	Komplit
3	LOC4340018	XM_066311129.1	XP_066167226.1	1,830	609	Komplit
4	LOC4340018	XM_015789002.3	XP_015644488.1	1,836	611	Komplit
5	LOC4340018	NM_001402723.1	NP_001389652.1	1,830	609	Komplit
6	LOC4340018	XM_015789004.3	XP_015644490.1	1,830	609	Komplit
7	LOC4340018	XM_066311130.1	XP_066167227.1	1,830	609	Komplit
8	LOC4340018	NM_001402724.1	NP_001389653.1	1,830	609	Komplit
9	LOC4343010	XM_015791724.2	XP_015647210.1	1,827	608	Komplit
10	LOC127775665	XM_052301942.1	XP_052157902.1	1,836	611	Komplit
11	LOC127775665	XM_052301944.1	XP_052157904.1	1,830	609	Komplit
12	LOC127775665	XM_052301943.1	XP_052157903.1	1,836	611	Komplit
13	LOC127779190	XM_052305914.1	XP_052161874.1	1,827	608	Komplit

Pada tahap awal penelitian, sekuens gen granule-bound starch synthase I (GBSSI) dikumpulkan dari basis data NCBI dengan merujuk pada beberapa Gene ID, terutama LOC4340018, LOC4343010, LOC127775665, LOC127779190 serta lokus terkait lainnya yang merepresentasikan isoform homolog dalam genom padi. Dataset yang digunakan terdiri atas 13 pasangan transkrip–protein (XM/NM dan XP/NP) yang seluruhnya berstatus lengkap, sehingga memenuhi syarat untuk dianalisis lebih lanjut. Pemanfaatan data RefSeq terkurasi (NM/NP) bersama sekuens hasil prediksi (XM/XP) mengikuti praktik umum dalam studi genomik in silico guna memperoleh cakupan variasi transkrip yang lebih luas.

Berdasarkan Tabel 1, panjang CDS berkisar antara 1.827–1.836 nt, sedangkan panjang protein berada pada rentang 608–611 asam amino, menunjukkan tingkat homogenitas yang tinggi antar isoform GBSSI. Keceragaman ukuran ini sejalan dengan karakter enzim GBSSI sebagai protein kunci dalam biosintesis amylose, di mana domain katalitiknya cenderung terjaga secara struktural. Variasi kecil pada panjang CDS dan protein kemungkinan mencerminkan perbedaan isoform atau hasil anotasi alternatif, sebagaimana dilaporkan dalam studi transkriptomik padi dan analisis keluarga gen sintesis pati (Hasan *et al.*, 2022). Seluruh sekuens yang telah dikurasi ini kemudian digunakan sebagai dasar untuk analisis lanjutan pada tahap multiple sequence alignment.

2) Multiple Sequence Alignment dan Identifikasi Variasi

ref	XM_015791724.2	:1-2279	GCAAAGGAATGTATGTGAATGCTAAGGTTGCTTTCTGCATTACAATATTGCCTACCAG	902
ref	XM_052305914.1	:1-2338	GCAAAGGAATGTATGTGAATGCTAAGGTTGCTTTCTGCATTACAATATTGCCTACCAG	976
ref	NM_001402723.1	:1-2256	CCCAATGGCATCTACAGGAATGCAAAGGTTGCTTTCTGCATCCACAACATCTCCTACCAG	977
ref	XM_052301942.1	:1-2206	CCCAATGGCATCTACAGGAATGCAAAGGTTGCTTTCTGCATCCACAACATCTCCTACCAG	949
ref	XM_066311128.1	:1-2263	CCCAATGGCATCTACAGGAATGCAAAGGTTGCTTTCTGCATCCACAACATCTCCTACCAG	990
ref	XM_052301944.1	:1-2200	CCCAATGGCATCTACAGGAATGCAAAGGTTGCTTTCTGCATCCACAACATCTCCTACCAG	949
ref	XM_052301943.1	:1-2201	CCCAATGGCATCTACAGGAATGCAAAGGTTGCTTTCTGCATCCACAACATCTCCTACCAG	944
ref	NM_001402724.1	:1-2150	CCCAATGGCATCTACAGGAATGCAAAGGTTGCTTTCTGCATCCACAACATCTCCTACCAG	871
ref	XM_015789004.3	:1-3362	CCCAATGGCATCTACAGGAATGCAAAGGTTGCTTTCTGCATCCACAACATCTCCTACCAG	2095
ref	XM_015789003.3	:1-2249	CCCAATGGCATCTACAGGAATGCAAAGGTTGCTTTCTGCATCCACAACATCTCCTACCAG	976
ref	XM_066311129.1	:1-2257	CCCAATGGCATCTACAGGAATGCAAAGGTTGCTTTCTGCATCCACAACATCTCCTACCAG	990
ref	XM_015789002.3	:1-2255	CCCAATGGCATCTACAGGAATGCAAAGGTTGCTTTCTGCATCCACAACATCTCCTACCAG	982
ref	XM_066311130.1	:1-2135	CCCAATGGCATCTACAGGAATGCAAAGGTTGCTTTCTGCATCCACAACATCTCCTACCAG	868

Gambar 1. Hasil multiple sequence alignment (MSA) CDS gen GBSSI padi menggunakan Clustal Omega

Cuplikan alignment memperlihatkan penyelarasan awal CDS gen GBSSI dari 13 transkrip NCBI (XM_ dan NM_) pada posisi 1–±2300 nukleotida. Baris paling bawah berisi simbol konsensus Clustal: (* = nukleotida identik pada seluruh sekuens; : = konservasi sangat tinggi; . = konservasi sedang dan tanda spasi = posisi bervariasi). Dominasi simbol * di sepanjang kolom menunjukkan bahwa sebagian besar wilayah awal CDS GBSSI sangat terkonservasi antar isoform dan lokus genom padi. Pola ini mengindikasikan tekanan seleksi yang kuat terhadap bagian awal gen, yang umumnya berkaitan dengan wilayah penting untuk inisiasi translasi dan pembentukan domain katalitik protein. Tingginya konservasi sejalan dengan fungsi esensial GBSSI dalam sintesis amilosa di amiloplas, sebagaimana umum ditemukan pada enzim metabolisme primer tanaman (Sievers *et al.*, 2011).

Meskipun konservasi dominan, terlihat beberapa posisi dengan tanda koma (.) atau spasi, khususnya pada bagian awal motif “GCAAAGGAATGTATGTGAAT...”. Hal ini menunjukkan adanya substitusi nukleotida terbatas antar transkrip, misalnya perbedaan awalan “GCAAAGGA...” pada XM_015791724.2 dan XM_052305914.1 dibandingkan kelompok XM/NM lainnya yang diawali “CCCAATGGCAT...”. Variasi semacam ini lazim ditemukan antar isoform prediksi dan antar lokus homolog dalam genom padi, serta tidak selalu mempengaruhi kerangka baca jika tetap mempertahankan panjang CDS dan posisi kodon penting (Sievers & Higgins, 2018).

Kombinasi antara konservasi tinggi dan variasi terbatas pada ujung CDS mendukung hipotesis bahwa GBSSI merupakan gen yang sangat terpelihara secara evolusioner, sementara perubahan kecil kemungkinan terjadi pada posisi yang tidak langsung memengaruhi aktivitas katalitik enzim. Informasi ini penting sebagai dasar untuk tahap analisis berikutnya, seperti pemetaan domain protein atau pemodelan struktur tiga dimensi, karena residu yang berada di wilayah sangat konservatif sering kali berkaitan dengan fungsi inti protein.

3) Analisis Domain dan Prediksi Struktur Protein GBSSI

Analisis lanjutan pada tahap ini difokuskan pada sekuens mRNA terkurasi RefSeq (NM_) yang dipilih yaitu sekuens mRNA NM_001402723.1 sebagai representatif setelah penyelarasan multipel pada tahap sebelumnya menunjukkan tingkat konservasi CDS yang tinggi antar isoform GBSSI. Hasil translasi sekuens

gambar 2. menggunakan ExPASy pada orientasi 5'–3' menunjukkan bahwa frame ke-3 menghasilkan rantai polipeptida panjang dan relatif kontinu, tanpa ditemukannya stop codon prematur pada sebagian besar wilayah sekuens. Pola ini mengindikasikan bahwa reading frame tersebut merupakan kandidat kuat sebagai kerangka baca utama (open reading frame, ORF) bagi gen GBSSI, dibandingkan dua frame lainnya yang umumnya menghasilkan sekuens lebih pendek atau terfragmentasi. Keberadaan ORF panjang merupakan kriteria utama dalam identifikasi CDS fungsional pada analisis in silico gen tanaman (Artimo *et al.*, 2012).

5'3' Frame 3

```

HSFSSLSISRHK-LQSLSLSLSLSLCFTSLVLVFCSSGR TSAKIFHSNS-TTMSALTTSQLATSATGFGIADRSAPSSLLRHG
FQGLKPRSPAGGDATSLSVTTSARATPKQQRSVQRGSRFP SVVYATGAGMNVVFVGAEMAPWSKTGGLGDVLGGLPPAMAANGHR
VMVISPRYDQYKDAWDTSVVAEIKVADRYERVFFHCYKRGVDRV FIDHPSFLEKVGKTGEKIYGPDTGVDYKDNQMRFSLLCQAA
LEAPRILNLNPNPYFKGTYGEDVVFVNCNDWHTGPLASYLKNNYQ PNGIYRNAKVAFCIHNISYQGRFAFEDYPELNLSEFRSSFDE
IDGYDTPVEGRKINWMKAGILEADRVLTVPYAEELISGIARGCELDN IMRLTGITGIVNGMDVSEWDPSKDYITAKYDATTAE
AKALNKEALQAEAGLPVDRKIPLIAFIGRLEEKGPDVMAAAIPELM QEDVQIVLLGTGKKKFEKLLKSMEEKYPGKVRVVKFNAP
LAHLIMAGADVLA VPSRFEPGLIQLQGMRYGTPCACASTGGLVD TVIEGKTGFHMGRLSVDCKVVEPSDVKKVAATLKRAIKVVG T
PAYEEMVRNCMNQDL SWKGPKNWENVLLGLGVAGSAPGIEGDEIAP LAKENVAAP-RA-DLHME-LINIAVYG-ETNEPVVCLL--
ICSYSQLYRLISLMLYSSGCA-VSYRTLNL CVWLIANNIK--R VYIIIVIL-K

```

Gambar 2. Hasil translasi CDS sekuens mRNA NM_001402723.1 representatif menggunakan ExPASy

Anotasi domain menggunakan InterProScan mengungkap keberadaan domain glikosiltransferase khas keluarga starch synthase beserta motif pengikat ADP-glukosa yang terdistribusi pada bagian tengah hingga C-terminal protein. Susunan domain ini sejalan dengan arsitektur enzimatik yang telah dilaporkan pada starch synthase tanaman, di mana wilayah katalitik utama berada pada domain GT-B fold, sementara segmen N-terminal berperan dalam penargetan plastida (Mitchell *et al.*, 2015).

☐
Starch synthase, chloroplastic/amyloplastic

AF-A0A8J8YHT8-F1-v6 • Google Deepmind dataset

Protein	Starch synthase, chloroplastic/amyloplastic		
Gene	OsJ_20013		
Source organism	Oryza sativa subsp. japonica search this organism		
UniProt	A0A8J8YHT8 go to UniProt		
Experimental structures	None available in the PDB		
Average pLDDT	84.31 (High)		
Sequence length	609		

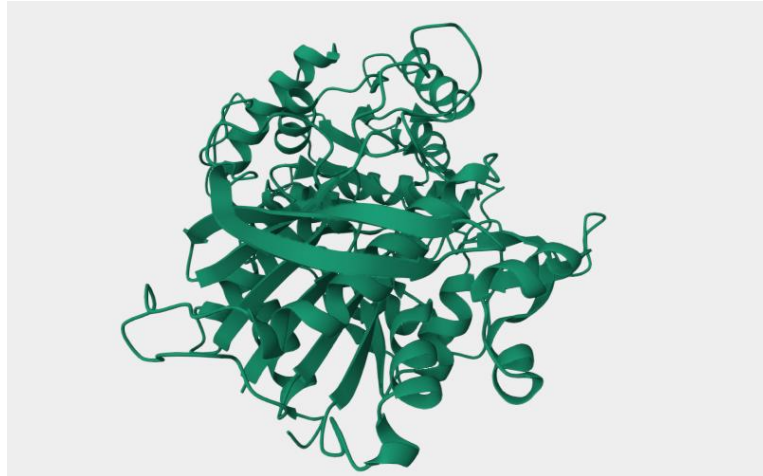
Sequence match	HSP score: 3182	E-value: 0	
	Identity: 100%	Positives: 609/609 (100%)	Gaps: 0/609 (0%)
Your query	1 MSALTTSQLATSATGFGIADRSAPSSLLRHGFQGLKPRSPAGGDATSLSVTTSARATPKQ	60	
	MSALTTSQLATSATGFGIADRSAPSSLLRHGFQGLKPRSPAGGDATSLSVTTSARATPKQ		
A0A8J8YHT8	1 MSALTTSQLATSATGFGIADRSAPSSLLRHGFQGLKPRSPAGGDATSLSVTTSARATPKQ	60	
Your query	61 QRSVQRGSRFRPSVVVYATGAGMNVFVGAEMAPWSKTGGLGDLGGLPPAMAANGHRVM	120	

Gambar 3. Hasil Identifikasi domain konservatif menggunakan InterProScan

Hasil gambar 3, protein yang dikodekan oleh gen OsJ_20013 pada tanaman padi (*Oryza sativa* L.) subsp. japonica merupakan Granule-Bound Starch Synthase I (GBSSI), enzim kunci dalam biosintesis amilosa pada endosperma padi. Pencocokan sekuens memperlihatkan tingkat kesamaan 100% dengan protein referensi UniProt A0A8J8YHT8, tanpa adanya mutasi struktural, yang menegaskan konservasi tinggi gen GBSSI. Enzim ini berperan dalam pembentukan ikatan α -1,4 glikosidik yang menentukan panjang rantai amilosa, sehingga secara langsung memengaruhi kadar dan karakteristik amilosa beras. Prediksi struktur tiga dimensi berbasis AlphaFold menunjukkan nilai pLDDT rata-rata 84,31, mengindikasikan keandalan model yang memadai untuk analisis struktur–fungsi. Tingginya stabilitas dan konservasi struktural GBSSI memperkuat perannya sebagai determinan utama variasi sifat pati, khususnya kandungan amilosa, yang berimplikasi pada tekstur dan mutu fungsional beras (Jumper *et al.*, 2021).

Model struktur tiga dimensi GBSSI yang diprediksi menggunakan AlphaFold dengan pencocokan sekuens memperlihatkan tingkat kesamaan 100% dengan protein referensi UniProt (Gambar 4.) memperlihatkan lipatan protein yang stabil dengan skor kepercayaan tinggi pada sebagian besar residu, khususnya di wilayah domain katalitik. Visualisasi struktur menunjukkan kedekatan spasial residu-residu yang terlibat dalam pengikatan substrat ADP-glukosa dan elongasi rantai glukosa, sebagaimana telah dideskripsikan pada homolog starch synthase dari spesies tanaman lain. Dengan demikian, hasil pemodelan ini menguatkan bahwa sekuens NM_ yang dianalisis merepresentasikan bentuk fungsional GBSSI dan dapat digunakan sebagai rujukan struktural untuk menginterpretasikan implikasi

variasi sekuens terhadap jalur metabolisme pati (Butardo *et al.*, 2017; Jumper *et al.*, 2021).



Gambar 4. Sekuens protein Starch synthase, chloroplastic/amyloplastic pada basis data UniProtKB

KESIMPULAN DAN SARAN

Analisis *in silico* terhadap gen GBSSI tanaman padi menunjukkan bahwa 13 sekuens yang dikaji, baik dari data RefSeq maupun hasil prediksi, memiliki panjang CDS dan protein yang hampir identik. Pola ini menegaskan tingginya konservasi gen tersebut, sejalan dengan perannya sebagai enzim utama dalam pembentukan amilosa. Hasil multiple sequence alignment memperlihatkan dominasi wilayah terjaga pada bagian awal sekuens, sementara variasi yang muncul bersifat terbatas dan kemungkinan berkaitan dengan perbedaan isoform tanpa mengganggu fungsi inti protein. Kajian lebih lanjut terhadap sekuens NM_001402723.1 mengungkap kerangka baca yang utuh, keberadaan domain glikosiltransferase khas starch synthase, serta motif pengikat ADP-glukosa yang sesuai dengan laporan sebelumnya. Prediksi struktur tiga dimensi berbasis AlphaFold menghasilkan model dengan tingkat kepercayaan tinggi dan kecocokan penuh terhadap protein referensi, sehingga menguatkan bahwa sekuens tersebut merepresentasikan bentuk fungsional GBSSI. Temuan ini memberikan dasar molekuler yang kuat untuk mengaitkan variasi sekuens dengan karakteristik pati pada biji tanaman padi.

Penelitian berikutnya sebaiknya melakukan validasi eksperimental melalui analisis ekspresi atau uji aktivitas enzim akan sangat membantu memperkuat hasil komputasi serta mendukung pemanfaatan GBSSI sebagai target dalam pemuliaan tanaman padi berbasis mutu pati.

DAFTAR PUSTAKA

- Artimo, P., Jonnalagedda, M., Arnold, K., Baratin, D., Csardi, G., de Castro, E., Duvaud, S., Flegel, V., Fortier, A., Gasteiger, E., Grosdidier, A., Hernandez, C., Ioannidis, V., Kuznetsov, D., Liechti, R., Moretti, S., Mostaguir, K., Redaschi, N., Rossier, G., Xenarios, I., Stockinger, H.,

- (2012). ExPASy: SIB bioinformatics resource portal, *Nucleic Acids Research*, Volume 40, Issue W1, 1 July 2012, Pages W597–W603, <https://doi.org/10.1093/nar/gks400>
- Butardo, V.M., Anacleto, A., Parween, S., Samson, I., de Guzman, K., Alhambra, C.M., Misra, G., Sreenivasulu, N. (2017). Systems Genetics Identifies a Novel Regulatory Domain of Amylose Synthesis, *Plant Physiology*, Volume 173, Issue 1, Pages 887–906, <https://doi.org/10.1104/pp.16.01248>
- Chaichoompu, E., Ruengphayak, S., Wattanavanitchakorn, S., Wansuksri, R., Yonkoksung, U., Suklaew, P. O., Chotineerarat, S., Raungrusmee, S., Vanavichit, A., Toojinda, T., & Kamolsukyeunyong, W. (2024). Development of Whole-Grain Rice Lines Exhibiting Low and Intermediate Glycemic Index with Decreased Amylose Content. *Foods*, 13(22), 3627. <https://doi.org/10.3390/foods13223627>
- Farooq, M. A., & Yu, J. (2025). Starches in Rice: Effects of Rice Variety and Processing/Cooking Methods on Their Glycemic Index. *Foods*, 14(12), 2022. <https://doi.org/10.3390/foods14122022>
- Feng, H., Li, Y., Dai, G. et al. (2025). Integrative phenomics, metabolomics and genomics analysis provides new insights for deciphering the genetic basis of metabolism in polished rice. *Genome Biol* 26, 55. <https://doi.org/10.1186/s13059-025-03513-w>
- Hasan, S., Huang, L., Liu, Q. et al. (2022). The Long Read Transcriptome of Rice (*Oryza sativa* ssp. *japonica* var. *Nipponbare*) Reveals Novel Transcripts. *Rice* 15, 29. <https://doi.org/10.1186/s12284-022-00577-1>
- Jayhoon, A.S., Kumar, P. (2024). In-silico characterization and expression analysis of the Waxy gene in rice (*Oryza sativa* L.). *agriRxiv*. <https://doi.org/10.31220/agriRxiv.2024.00260>
- Jumper, J., Evans, R., Pritzel, A. et al. (2021). Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature* 596, 583–589. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2>
- Maung TZ, Yoo J-M, Chu S-H, Kim K-W, Chung I-M, Park Y-J. (2021). Haplotype Variations and Evolutionary Analysis of the Granule-Bound Starch Synthase I Gene in the Korean World Rice Collection. *Frontiers in Plant Science*. PMID: 34504507. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34504507/>
- Mitchell, A., Chang, H., Daugherty, L., Fraser, M., Hunter, S., Lopez, R., et al. (2015). The InterPro protein families database: the classification resource after 15 years, *Nucleic Acids Research*, Volume 43, Issue D1, Pages D213–D221, <https://doi.org/10.1093/nar/gku1243>

- Kim JK, Park Y, et al. Comparative metabolic profiling of pigmented rice (*Oryza sativa* L.) cultivars reveals primary metabolites are correlated with secondary metabolites. *Journal of Cereal Science*. (2013). <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S073352101200210X>
- Rathinasabapathi, P., Purushothaman, N., VL., R., Parani, M. (2015) . Whole genome sequencing and analysis of Swarna, a widely cultivated indica rice variety with low glycemic index. *Sci. Rep.* 5, 11303;., <https://doi.org/10.1038/srep11303>
- Sievers F, Wilm A, Dineen D, Gibson TJ, Karplus K, Li W, Lopez R, McWilliam H, Remmert M, Söding J, Thompson JD, Higgins DG. (2011). Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega. *Mol Syst Biol.* 11;7:539. doi: 10.1038/msb.2011.75. PMID: 21988835; PMCID: PMC3261699.
- Sievers F, Higgins DG. (2018). Clustal Omega for making accurate alignments of many protein sequences. *Protein Sci.* 27(1):135-145. doi: 10.1002/pro.3290. PMID: 28884485; PMCID: PMC5734385.
- Singh, N., Singh, B., Rai, V., Sidhu, S., Singh, A. K., & Singh, N. K. (2017). Evolutionary Insights Based on SNP Haplotypes of Red Pericarp, Grain Size and Starch Synthase Genes in Wild and Cultivated Rice. *Frontiers in Plant Science*, 8(16). <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00972>
- Wang C.X., Cai X.G., and Qian Q.S. (2025). Regulation of starch biosynthesis pathway for improved grain quality in rice, *Rice Genomics and Genetics*, 16(4): 219-236. <https://doi.org/10.5376/rgg.2025.16.0019>
- Wu, H., Wang, S., & Wu, M. (2024). The Waxy Gene Has Pleiotropic Effects on Hot Water-Soluble and -Insoluble Amylose Contents in Rice (*Oryza sativa*) Grains. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(12), 6561. <https://doi.org/10.3390/ijms25126561>
- Zhang Z, Zhang F, Deng Y, Sun L, Mao M, Chen R, Qiang Q, Zhou J, Long T, Zhao X, Liu X, Wang S, Yang J, Luo J. (2022). Integrated Metabolomics and Transcriptomics Analyses Reveal the Metabolic Differences and Molecular Basis of Nutritional Quality in Landraces and Cultivated Rice. *Metabolites*;12(5):384. <https://doi.org/10.3390/metabo12050384>.
- Zhang, H., Jang, S.-G., Lar, S. M., Lee, A.-R., Cao, F.-Y., Seo, J., & Kwon, S.-W. (2021). Genome-Wide Identification and Genetic Variations of the Starch Synthase Gene Family in Rice. *Plants*, 10(6), 1154. <https://doi.org/10.3390/plants10061154>

Zhao, M., Huang, J., Ren, J., Xiao, X., Li, Y., Zhai, L., Yan, X., Yun, Y., Yang, Q., Tang, Q., Xing, F., & Qiao, W. (2024). Metabolomic Insights into Primary and Secondary Metabolites Variation in Common and Glutinous Rice (*Oryza sativa* L.). *Agronomy*, 14(7), 1383. <https://doi.org/10.3390/agronomy14071383>