JURNAL BIOSENSE
Jurnal Penelitian Biologi dan Terapannya
Volume 9 No. 4, Oktober 2026, Hal 992 - 1015 E-ISSN: 2622 - 6286

ANALISIS *IN SILICO* FAMILI GEN *SMALL HEAT SHOCK PROTEIN* (*HSP20*) PADA *Acorus americanus*

Udaibah Nadilla Zurni, Gita Rahmania Putri, Nurul Rahmadhani, Putri Saniyyah Rahmalisa Az Zahra, Merdi Amirah Nur Halisa, Edia Fitri Dwinianti, Dwi Indahning Rohmah*
Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember
Jl. Kalimantan No. 37 Sumbersari Jember, Jawa Timur 68121, Indonesia
e-mail: indah.fmipa@unej.ac.id

Abstrak

Small heat shock proteins (*sHSP*) berperan penting dalam mempertahankan stabilitas protein dan melindungi sel dari cekaman lingkungan. Protein-protein ini tersebar luas pada tumbuhan dan berkontribusi terhadap toleransi terhadap kondisi yang merugikan, seperti kekeringan, suhu ekstrem, dan cekaman oksidatif. Namun, informasi mengenai famili gen *sHSP* pada *Acorus americanus* masih terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan mengkarakterisasi famili gen *sHSP* pada *A. americanus* melalui pendekatan *in silico*. Karakterisasi gen dan protein, analisis motif konservatif, hubungan filogenetik, serta analisis promotor dilakukan untuk mengkaji karakteristik struktural dan regulasi famili gen tersebut. Hasil penelitian menunjukkan bahwa seluruh protein yang teridentifikasi memiliki domain alfa-kristalin (*alpha-crystallin domain*) yang sangat konservatif, yang mengindikasikan potensi fungsinya sebagai *molecular chaperone*. Analisis promotor mengidentifikasi berbagai elemen cis-regulator yang berkaitan dengan respon terhadap cahaya, pensinyalan hormon, dan respon terhadap cekaman abiotik. Elemen yang responsif terhadap cahaya merupakan elemen yang paling melimpah, diikuti oleh elemen yang berkaitan dengan asam absisat, metil jasmonat, asam salisilat, kekeringan, dan respons terhadap suhu rendah. Temuan ini menunjukkan bahwa ekspresi gen *small heat shock protein* pada *A. americanus* diatur oleh berbagai sinyal lingkungan dan hormonal, yang mendukung potensi perannya dalam adaptasi tumbuhan terhadap kondisi cekaman. Penelitian ini dapat menjadi dasar bagi penelitian lebih lanjut mengenai fungsi gen yang responsif terhadap cekaman pada *A. americanus*. Konfirmasi lebih lanjut melalui analisis ekspresi dan validasi eksperimental masih diperlukan untuk mengetahui fungsi spesifik masing-masing anggota AaHSP20.

Kata kunci: *analisis promotor; identifikasi gen; in silico; stres abiotik; Sweet flag*

Abstract

Small heat shock proteins (*sHSP*) play a crucial role in maintaining protein stability and protecting cells from environmental stress. These proteins are widespread in plants and contribute to tolerance of adverse conditions, such as drought, extreme temperatures, and oxidative stress. However, information regarding the *sHSP* gene family in *Acorus americanus* remains limited. This study aims to identify and characterize the *sHSP* gene family in *A. americanus* using an in silico approach. Gene and protein characterization, analysis of conserved motifs, phylogenetic relationships, and promoter analysis were conducted to examine the structural and regulatory characteristics of this gene family. The results showed

JURNAL BIOSENSE
Jurnal Penelitian Biologi dan Terapannya
Volume 9 No. 4, Oktober 2026, Hal 992 - 1015 E-ISSN: 2622 - 6286

that all identified proteins possess a highly conserved alpha-crystallin domain, indicating their potential function as molecular chaperones. Promoter analysis identified various cis-regulatory elements associated with light response, hormone signaling, and abiotic stress responses. Light-responsive elements were the most abundant, followed by elements associated with abscisic acid, methyl jasmonate, salicylic acid, drought, and low-temperature responses. These findings indicate that the expression of the small heat shock protein gene in *A. americanus* is regulated by various environmental and hormonal signals, supporting its potential role in plant adaptation to stress conditions. This study can serve as a foundation for further research on the functions of stress-responsive genes in *A. americanus*. Further confirmation through expression analysis and experimental validation is still needed to determine the specific functions of each member of the AaHSP20 family.
Keywords: *promotor analysis; gene identification; in silico;abiotic stress; sweet flag*

1. PENDAHULUAN

Perubahan iklim merupakan salah satu tantangan global yang berpotensi memberikan dampak signifikan terhadap keanekaragaman hayati melalui berbagai mekanisme yang kompleks. Perubahan tersebut ditandai oleh peningkatan suhu dan perubahan pola curah hujan yang dapat mengubah kondisi lingkungan tempat organisme hidup dan berkembang (Qutbi et al., 2024). Peningkatan suhu lingkungan hingga kisaran 32–35 °C dapat menyebabkan cekaman panas pada berbagai tanaman yang tumbuh pada musim panas di wilayah tropis dan subtropis. Sementara itu, pada tanaman yang beradaptasi terhadap kondisi musim dingin, suhu sekitar 25 °C dapat menjadi ambang yang berpotensi menimbulkan kerusakan akibat cekaman panas (Mishra et al., 2023).

Kondisi suhu yang berada di luar kisaran optimum pertumbuhan dapat mengganggu keseimbangan fisiologis tanaman dan memicu berbagai mekanisme respons terhadap cekaman. Peningkatan suhu dapat menurunkan laju pertumbuhan serta mengganggu proses fisiologis penting, seperti fotosintesis, respirasi, penyerapan nutrisi, dan keseimbangan air. Cekaman suhu yang tinggi juga dapat menyebabkan kerusakan membran sel dan mengganggu fungsi metabolisme tanaman (Qutbi et al., 2024).

Gangguan terhadap proses fisiologis tersebut selanjutnya dapat memengaruhi kemampuan tanaman dalam memperoleh dan memanfaatkan nutrisi. Saat mengalami

cekaman, ekspresi gen yang berkaitan dengan penyerapan dan pemanfaatan nutrisi dapat mengalami perubahan sehingga tanaman mengoptimalkan mekanisme penyerapan melalui regulasi gen yang lebih spesifik sebagai respons terhadap keterbatasan nutrisi. Regulasi gen yang berkaitan dengan penyerapan nutrisi merupakan salah satu mekanisme adaptasi tanaman untuk mempertahankan pertumbuhan dan fungsi fisiologis ketika menghadapi perubahan kondisi lingkungan (Mishra et al., 2023).

Pada tingkat molekuler, respons tanaman terhadap cekaman lingkungan melibatkan aktivasi sejumlah gen yang mengode protein dengan fungsi protektif, termasuk *molecular chaperone*, protease, dan protein-protein lain yang berperan dalam mempertahankan serta memulihkan fungsi sel akibat gangguan fisiologis. Tanaman memiliki mekanisme respons yang memungkinkan beberapa protein mengalami peningkatan ekspresi ketika tanaman berada dalam kondisi cekaman. Salah satu kelompok protein yang berperan penting dalam respons tanaman terhadap berbagai kondisi stres adalah *Heat Shock Protein* (HSP). HSP merupakan kelompok protein yang berfungsi sebagai *molecular chaperone* dan berperan penting dalam mempertahankan stabilitas serta fungsi protein di dalam sel. Protein ini membantu proses pelipatan protein (*protein folding*), mencegah agregasi protein, serta mendukung proses transportasi dan degradasi protein yang mengalami kerusakan. Produksi HSP dapat diinduksi oleh berbagai jenis cekaman lingkungan, termasuk suhu ekstrem, kekeringan, salinitas, paparan logam berat, intensitas cahaya tinggi, dan kerusakan jaringan tanaman. Selain berperan dalam toleransi terhadap cekaman, HSP juga terlibat dalam berbagai proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman, seperti embriogenesis serta perkembangan biji, buah, dan umbi (Anugrah et al., 2022).

Salah satu kelompok HSP yang memiliki peran penting dalam respons tanaman terhadap cekaman adalah *HSP20* atau *small heat shock proteins* (*sHSPs*). Pada tumbuhan, famili *HSP20* dikelompokkan berdasarkan lokasi subselulernya menjadi beberapa subfamili, yaitu sitoplasma (CI–CVI), mitokondria (MTI dan MTII), retikulum endoplasma (ER), kloroplas (CP), dan peroksisom (PX). Keberadaan

berbagai subfamili tersebut menunjukkan bahwa *HSP20* dapat menjalankan fungsi protektif pada berbagai kompartemen sel dan berkontribusi dalam mempertahankan homeostasis protein (Waters, 2013).

Secara struktural, seluruh anggota famili *HSP20* memiliki domain α-kristalin (*α-crystallin domain*; ACD) yang sangat terkonservasi pada bagian C-terminal. Domain tersebut umumnya terdiri atas sekitar 80–100 asam amino dan memiliki struktur yang didominasi oleh *β-strands*, serta mencakup dua wilayah konservatif utama, yaitu *Consensus Region I* (CRI) dan *Consensus Region II* (CRII). Konservasi domain ACD berperan penting dalam aktivitas *HSP20* sebagai molecular chaperone dan dalam mempertahankan stabilitas protein. Karakteristik tersebut menjadikan *HSP20* sebagai salah satu famili gen yang penting untuk dikaji dari aspek struktur, fungsi, regulasi, dan evolusinya (Liu et al., 2024).

Famili gen *HSP20* telah diidentifikasi dan dikarakterisasi pada berbagai spesies tumbuhan, yang menunjukkan keterlibatannya dalam mekanisme respons terhadap kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan. (Yu et al., (2016) melakukan identifikasi genome-wide terhadap famili gen *HSP20* pada tanaman tomat (*Solanum lycopersicum*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa gen *Hsp20* pada tomat memiliki variasi dalam jumlah, struktur, dan lokasi subseluler protein yang dihasilkannya. Penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa sebagian besar gen *Hsp20* mengalami aktivasi dan peningkatan ekspresi ketika tanaman menghadapi kondisi cekaman biotik maupun abiotik. Temuan tersebut mengindikasikan bahwa famili *Hsp20* memiliki peran penting dalam mekanisme respons dan adaptasi tanaman terhadap perubahan kondisi lingkungan.

Identifikasi dan karakterisasi famili *Hsp20* juga telah dilakukan pada tanaman kentang (*Solanum tuberosum*) melalui pendekatan genome-wide analysis. (Zhao et al., (2018) melaporkan bahwa gen-gen *Hsp20* pada kentang tersebar pada berbagai kromosom dan menunjukkan hubungan evolusioner di antara anggota famili tersebut. Selain memiliki pola distribusi genom yang beragam, gen *Hsp20* menunjukkan respons terhadap kondisi cekaman dan berperan dalam mekanisme toleransi tanaman terhadap

suhu tinggi. Hasil penelitian pada tomat dan kentang tersebut menunjukkan bahwa analisis komprehensif terhadap famili *HSP20*, termasuk karakterisasi struktur gen, distribusi genom, hubungan filogenetik, dan pola ekspresi, dapat memberikan informasi penting mengenai fungsi biologis serta evolusi famili gen tersebut pada tumbuhan. Pemahaman terhadap famili gen HSP20 ini juga perlu dieksplorasi pada tumbuhan lain yang memiliki rentang persebaran tinggi seperti pada Genus Acorus.

Genus Acorus merupakan kelompok tumbuhan monokotil menahun yang secara taksonomi termasuk dalam famili Acoraceae. Genus ini memiliki persebaran pada berbagai wilayah dengan kondisi iklim, terutama di kawasan beriklim sedang hingga subtropis. Beberapa spesies Acorus telah digunakan selama lebih dari 2.000 tahun dalam pengobatan tradisional untuk membantu menangani berbagai gangguan kesehatan. Secara fitokimia, Acorus diketahui mengandung berbagai kelompok senyawa bioaktif, antara lain terpenoid, fenilpropanoid, flavonoid, dan alkaloid, dengan minyak atsiri sebagai salah satu komponen bioaktif utamanya. Selain memiliki nilai potensial dalam bidang kesehatan, beberapa spesies Acorus juga memiliki fungsi ekologis dan lingkungan, termasuk pemanfaatannya dalam pemulihan ekosistem perairan tercemar serta kemampuannya dalam menyerap berbagai polutan, seperti nitrogen, fosfor, dan logam berat. Karakteristik tersebut menunjukkan bahwa genus Acorus memiliki nilai penting dalam bidang kesehatan maupun pengelolaan lingkungan (Y. Zhao et al., 2023).

Kemampuan genus Acorus untuk tumbuh dan bertahan pada kondisi lingkungan yang beragam menunjukkan adanya mekanisme biologis yang memungkinkan tanaman merespons perubahan dan cekaman lingkungan. Kemampuan tersebut diduga melibatkan berbagai mekanisme molekuler yang mengatur respons terhadap kondisi stres, termasuk gen-gen yang berperan dalam mempertahankan stabilitas sel dan protein. Salah satu kelompok gen yang berpotensi terlibat dalam mekanisme tersebut adalah famili *heat shock protein* (*HSP*), termasuk *HSP20*. (Wei et al., (2019) melaporkan bahwa kemampuan Acorus untuk tumbuh pada berbagai kondisi lingkungan menunjukkan adanya mekanisme biologis yang mendukung respons

terhadap cekaman. Hal tersebut mengindikasikan kemungkinan keterlibatan berbagai gen yang berperan dalam toleransi terhadap stres, termasuk famili gen *HSP*.

Meskipun demikian, informasi molekuler mengenai genom dan fungsi gen pada *A. americanus* masih sangat terbatas. Keterbatasan informasi tersebut menyebabkan potensi genetik serta mekanisme molekuler yang mendasari kemampuan adaptasi spesies ini belum banyak dieksplorasi secara mendalam. Oleh karena itu, diperlukan kajian molekuler untuk memperoleh informasi mengenai karakteristik dan potensi fungsi gen yang berkaitan dengan respons terhadap cekaman pada *A. americanus*. Pendekatan *in silico* berbasis bioinformatika dapat digunakan sebagai langkah awal yang efektif untuk mengidentifikasi dan mengkarakterisasi famili gen HSP20 secara komprehensif berdasarkan informasi genom yang tersedia.

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan menganalisis famili gen *sHSP* pada *A. americanus* melalui pendekatan bioinformatika. Analisis meliputi karakterisasi struktur gen dan protein, identifikasi lokasi kromosom, analisis motif dan domain konservatif, analisis hubungan filogenetik, serta identifikasi elemen cis-regulatori pada daerah promotor gen *HSP20*. Pendekatan tersebut diharapkan dapat memberikan gambaran mengenai karakteristik struktural, tingkat konservasi, variasi, hubungan evolusioner, dan potensi mekanisme regulasi famili gen HSP20 pada *A. americanus*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar untuk memahami potensi peran HSP20 dalam mekanisme respons dan adaptasi *A. americanus* terhadap berbagai kondisi cekaman lingkungan serta memberikan landasan bagi penelitian eksperimental dan fungsional lebih lanjut.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara *in silico* menggunakan data genom dan sekuens protein *Heat Shock Protein 20* (*HSP20*) dari *A. americanus*. Data genom dan anotasi gen *A. americanus* diperoleh dari basis data Phytozome (*A. americanus* v1.1), sedangkan sekuens protein HSP20 digunakan sebagai data acuan untuk

mengidentifikasi anggota famili gen *HSP20* pada *A. americanus*. Sekuens protein HSP20 (*A. americanus* HSP20; *AaHSP20*) diperoleh dari basis data *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) melalui NCBI dan digunakan untuk proses identifikasi anggota famili *HSP20* pada *A. americanus*. Analisis bioinformatika meliputi identifikasi anggota famili gen *HSP20*, karakterisasi struktur gen, identifikasi motif dan domain protein konservatif, prediksi lokalisasi subseluler, serta analisis distribusi gen berdasarkan lokasi kromosom. Seluruh tahapan analisis dilakukan untuk memperoleh gambaran mengenai karakteristik struktural, konservasi, distribusi genomik, dan potensi regulasi famili gen *HSP20* pada *A. americanus*.

2.2 Identifikasi Gen HSP20

Data genom *Acorus americanus* diperoleh dari basis data Phytozome (*A. americanus* v1.1) (https://phytozome-next.jgi.doe.gov/). Sekuens protein kandidat *AaHSP20* diperoleh dari basis data NCBI Protein (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/) dan diverifikasi menggunakan *Conserved Domain Database* (CDD) pada NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi/) untuk mengonfirmasi keberadaan domain *HSP20* dan menentukan rentang domain konservatif. Sekuens protein *AaHSP20* yang telah terverifikasi selanjutnya digunakan sebagai kueri dalam analisis BLAST pada Phytozome untuk mengidentifikasi sekuens homolog pada genom *A. americanus*. Kandidat gen yang teridentifikasi kemudian dikumpulkan dan digunakan untuk analisis karakteristik gen dan protein pada tahap berikutnya.

2.3 Analisis Struktur Gen dan Motif Konservatif

Analisis struktur gen dilakukan berdasarkan penyelarasan antara sekuens genomik dan *coding sequence* (CDS) dari masing-masing gen *AaHSP20* yang diperoleh dari Phytozome. Struktur gen dianalisis untuk menentukan organisasi ekson dan intron serta membandingkan pola struktur di antara anggota famili HSP20. Identifikasi motif konservatif pada protein *AaHSP20* dilakukan menggunakan *MEME Suite* (https://meme-suite.org/) untuk memperoleh informasi mengenai pola motif yang terdapat pada masing-masing anggota famili. Selanjutnya, struktur gen divisualisasikan

dan dianalisis menggunakan *Gene Structure Display Server 2.0* (GSDS 2.0; https://gsds.gao-lab.org/) berdasarkan posisi CDS, ekson, dan intron. Hasil analisis digunakan untuk mengevaluasi tingkat konservasi dan variasi struktur gen di antara anggota famili HSP20.

2.4 Analisis Domain Protein dan Lokalisasi Subseluler

Analisis domain protein dilakukan untuk mengidentifikasi keberadaan dan karakteristik domain konservatif pada protein *AaHSP20*. Keberadaan domain HSP20 yang diperoleh dari analisis CDD digunakan sebagai salah satu kriteria dalam konfirmasi anggota famili gen *HSP20*. Prediksi lokalisasi subseluler protein *AaHSP20* dilakukan menggunakan CELLO v2.5 (http://cello.life/) dan WoLF PSORT (https://wolfpsort.hgc.jp/). Hasil prediksi dari WoLF PSORT digunakan untuk menentukan kemungkinan lokasi subseluler masing-masing protein berdasarkan nilai prediksi yang diperoleh. Data hasil prediksi kemudian divisualisasikan menggunakan TBtools-II untuk menunjukkan distribusi lokalisasi subseluler anggota famili *AaHSP20*.

2.5 Analisis Lokasi Kromosom dan Duplikasi Gen

Informasi mengenai posisi kromosom dan koordinat gen AaHSP20 diperoleh dari anotasi genom *A. americanus* pada Phytozome (https://phytozome-next.jgi.doe.gov/). Data koordinat gen dan panjang kromosom selanjutnya diproses menggunakan TBtools-II untuk menentukan distribusi dan posisi anggota famili *AaHSP20* pada genom. Visualisasi lokasi gen pada kromosom dilakukan menggunakan Phenogram (https://visualization.ritchielab.org/phenograms/plot) untuk menggambarkan distribusi anggota famili HSP20 pada masing-masing kromosom.

Analisis duplikasi gen dilakukan menggunakan MCScanX yang terintegrasi dalam TBtools-II. Analisis ini digunakan untuk mengidentifikasi pola duplikasi gen, khususnya *tandem duplication* dan *segmental duplication*, yang berpotensi berkontribusi terhadap ekspansi famili gen *HSP20* pada *A. americanus*. Informasi mengenai pola duplikasi selanjutnya digunakan untuk mendukung interpretasi

mengenai mekanisme evolusi dan diversifikasi famili gen *HSP20* pada spesies tersebut.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Identifikasi Gen HSP20

Berdasarkan hasil identifikasi genom, sebanyak 10 gen yang termasuk dalam famili HSP20 berhasil diidentifikasi pada *A. americanus*. Kesepuluh gen tersebut selanjutnya diberi nama *AaHSP20-1* hingga *AaHSP20-10*. Jumlah anggota famili *HSP20* pada *A. americanus* relatif lebih rendah dibandingkan beberapa spesies tanaman lain. (Yu et al., (2016) melaporkan keberadaan 42 gen *HSP20* pada tanaman tomat, sedangkan (Zhao et al., (2018) mengidentifikasi sebanyak 48 gen *HSP20* pada tanaman kentang. Pada *A. americanus*, gen *AaHSP20* teridentifikasi pada kromosom 2, 3, dan 12 sehingga distribusinya tidak tersebar secara merata di seluruh kromosom. Pengelompokan beberapa gen pada lokasi kromosom yang berdekatan mengindikasikan kemungkinan terjadinya peristiwa duplikasi tandem. Temuan tersebut sejalan dengan (Zhao et al., (2018), yang menyatakan bahwa distribusi gen *HSP20* pada beberapa kromosom dapat berkaitan dengan peristiwa duplikasi gen.

Sebagian besar gen A*aHSP20*, yaitu delapan gen, berada pada *reverse strand*, sedangkan dua gen lainnya berada pada *forward strand*. Perbedaan orientasi tersebut berpotensi berkaitan dengan pola regulasi ekspresi gen dan organisasi kromatin yang selanjutnya dapat memengaruhi aktivitas transkripsi. Panjang *coding sequence* (CDS) gen *AaHSP20* berkisar antara 438–1236 bp, dengan panjang protein yang dihasilkan antara 146–412 asam amino. Variasi panjang protein *HSP20* tersebut dapat mencerminkan adanya diferensiasi fungsi selama proses evolusi tumbuhan, sebagaimana dilaporkan oleh (Huang et al., 2022).

Seluruh gen yang teridentifikasi mengode *Heat Shock Protein 20* atau *alpha-crystallin domain-containing protein*. Keberadaan *alpha-crystallin domain* merupakan karakteristik utama protein *HSP20* dan berkaitan dengan fungsinya sebagai *molecular chaperone*. Protein tersebut berperan dalam mencegah agregasi protein dan mempertahankan stabilitas protein ketika tanaman menghadapi berbagai kondisi

JURNAL BIOSENSE
Jurnal Penelitian Biologi dan Terapannya
Volume 9 No. 4, Oktober 2026, Hal 992 - 1015 E-ISSN: 2622 - 6286

cekaman, termasuk suhu tinggi, kekeringan, salinitas, dan stres oksidatif. Keberadaan domain tersebut pada seluruh anggota yang teridentifikasi mengindikasikan kemungkinan keterlibatan *AaHSP20* dalam sistem pertahanan sel terhadap kondisi lingkungan yang merugikan.

Tabel 3.1 Identifikasi gen

No.	Transcript ID	Gene Name	CHR	Location	Strain	CDS	AA	Exon-Intron	Phytozome Anotation
1.	Acora.12G148800.1	AaHSP20-1	12	24099663..24105081	Reverse	630	210	2/1	F9H16.15 PROTEIN
2.	Acora.12G148800.2	AaHSP20-2	12	24099663..24105081	Reverse	630	210	2/1	F9H16.15 PROTEIN
3.	Acora.12G148800.3	AaHSP20-3	3	24099663..24105081	Reverse	630	210	2/1	F9H16.15 PROTEIN
4.	Acora.03G137200.1	AaHSP20-4	3	26840799..26846273	Reverse	1236	412	2/1	ALPHA-CRYSTALLIN DOMAIN OF HEAT SHOCK PROTEIN-CONTAINING PROTEIN
5.	Acora.03G137200.3	AaHSP20-5	3	26840799..26846273	Reverse	1236	412	2/1	ALPHA-CRYSTALLIN DOMAIN OF HEAT SHOCK PROTEIN-CONTAINING PROTEIN
6.	Acora.03G137200.4	AaHSP20-6	3	26840799..26846273	Reverse	1236	412	2/1	ALPHA-CRYSTALLIN DOMAIN OF HEAT SHOCK PROTEIN-CONTAINING PROTEIN
7.	Acora.12G148900.1	AaHSP20-7	12	24105990..24109382	Reverse	984	328	4/3	F9H16.15 PROTEIN
8.	Acora.12G148900.2	AaHSP20-8	12	24105990..24109382	Reverse	984	328	4/3	F9H16.15 PROTEIN
9.	Acora.02G128900.1	AaHSP20-9	2	27532310..27533272	Forward	564	188	2/1	*Alpha crystallins*
10.	Acora.02G135200.1	AaHSP20-10	2	28310410..28311262	Forward	438	146	2/1	HEAT SHOCK PROTEIN 42

Berdasarkan hasil identifikasi pada Tabel 1, diperoleh 10 gen *HSP20* pada genom *Acorus americanus*, yang selanjutnya diberi nama *AaHSP20-1* hingga *AaHSP20-10*. Jumlah tersebut lebih sedikit dibandingkan dengan beberapa spesies tanaman lain yang telah dilaporkan memiliki famili *HSP20* dengan jumlah anggota lebih besar. (Yu et al., (2016) mengidentifikasi 42 gen *HSP20* pada tanaman tomat, sedangkan (Zhao et al., (2018) melaporkan 48 gen *HSP20* pada tanaman kentang. Perbedaan jumlah anggota famili *HSP20* antarspesies dapat berkaitan dengan perbedaan ukuran dan kompleksitas genom, serta proses duplikasi dan kehilangan gen selama evolusi.

Pada *A. americanus*, gen *AaHSP20* ditemukan pada kromosom 2, 3, dan 12, sehingga distribusinya tidak merata pada seluruh kromosom. Konsentrasi beberapa anggota famili pada kromosom tertentu dapat mengindikasikan adanya proses reorganisasi atau duplikasi gen selama evolusi genom. Namun, keberadaan beberapa gen pada kromosom yang sama belum cukup untuk membuktikan terjadinya duplikasi tandem dan perlu dikonfirmasi melalui analisis sinteni atau analisis duplikasi gen, seperti MCScanX. (Zhao et al., (2018) juga melaporkan bahwa ekspansi famili *HSP20* pada tanaman dapat berkaitan dengan peristiwa duplikasi gen.

Berdasarkan orientasi genom, sebanyak delapan gen *AaHSP20* berada pada *reverse strand* dan dua gen berada pada *forward strand*. Perbedaan orientasi tersebut menggambarkan variasi organisasi gen pada genom *A. americanus*. Namun, orientasi *strand* tidak dapat secara langsung digunakan untuk menyimpulkan adanya perbedaan regulasi atau pola ekspresi gen, sehingga hubungan antara orientasi gen dan regulasi transkripsi memerlukan analisis lebih lanjut.

Panjang CDS gen *AaHSP20* bervariasi antara 438 hingga 1.236 bp, sedangkan panjang protein yang dihasilkan berkisar antara 146 hingga 412 asam amino. Variasi panjang protein tersebut menunjukkan adanya perbedaan struktur antaranggota famili *HSP20* yang dapat berkaitan dengan diversifikasi selama evolusi. (Huang et al., (2022) melaporkan bahwa variasi karakteristik protein *HSP20* antaranggota famili dapat berhubungan dengan diversifikasi dan kemungkinan spesialisasi fungsi.

Seluruh kandidat *AaHSP20* yang teridentifikasi memiliki domain HSP20 atau *alpha-crystallin domain* (ACD), yang merupakan domain konservatif dan karakteristik utama kelompok *sHSP*. Domain tersebut berperan penting dalam aktivitas *sHSP* sebagai *molecular chaperone*, terutama dalam mempertahankan kestabilan protein dan mencegah agregasi protein yang mengalami denaturasi akibat kondisi cekaman. Oleh karena itu, keberadaan ACD mendukung bahwa gen-gen yang diidentifikasi merupakan anggota famili *HSP20*. Meskipun demikian, fungsi spesifik masing-masing protein *AaHSP20* terhadap jenis cekaman tertentu masih memerlukan konfirmasi melalui

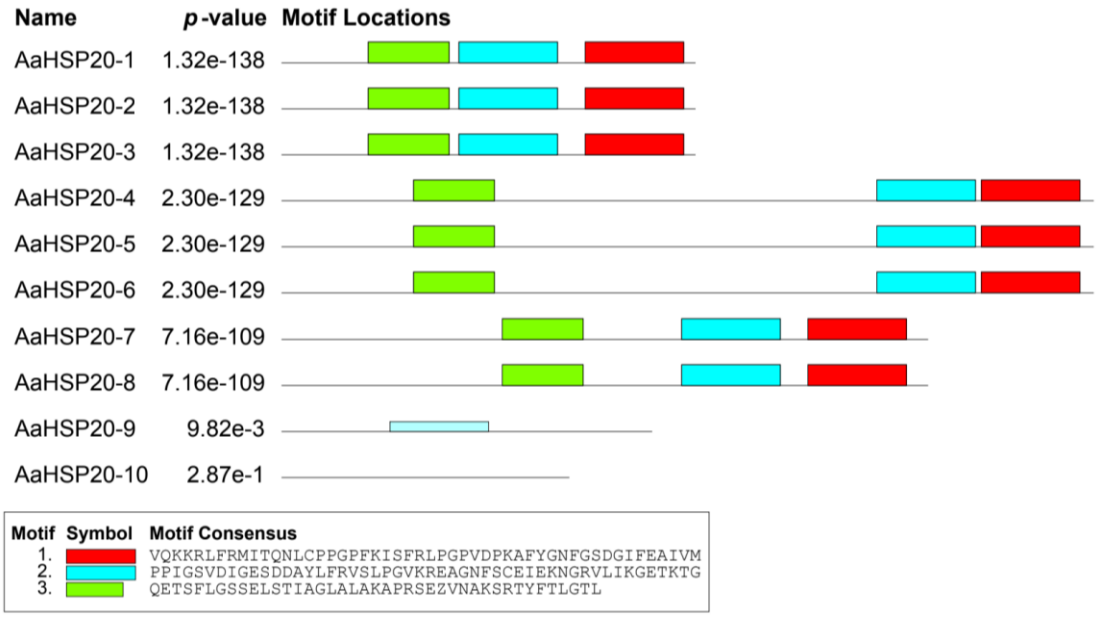
analisis ekspresi dan validasi eksperimental.

3.2 Analisis Motif Protein

Analisis motif protein menunjukkan adanya variasi pola motif di antara anggota famili *AaHSP20*. *AaHSP20-1* hingga *AaHSP20-8* memiliki tiga motif konservatif yang tersusun relatif seragam dan memiliki nilai *p-value* yang sangat rendah. Kondisi tersebut menunjukkan tingkat signifikansi statistik dan konservasi motif yang tinggi di antara anggota famili. Keberadaan motif yang konservatif mengindikasikan adanya bagian protein yang memiliki peran penting dalam mempertahankan fungsi *HSP20* sebagai pelindung protein, terutama dalam menjaga stabilitas protein ketika tanaman mengalami cekaman lingkungan. Meskipun pola motif secara umum tetap konservatif, terdapat sedikit perbedaan pada posisi maupun panjang protein di antara anggota famili. Variasi tersebut dapat mencerminkan perubahan struktural yang terjadi selama proses evolusi.

Berbeda dengan anggota lainnya, *AaHSP20-9* dan *AaHSP20-10* memiliki jumlah motif yang lebih sedikit serta nilai *p-value* yang lebih tinggi. Hal ini menunjukkan tingkat konservasi yang relatif lebih rendah dan kemungkinan adanya perubahan struktur protein atau diferensiasi fungsi yang menyebabkan motif konservatif *HSP20* tidak terdeteksi secara lengkap. (Hasanuzzaman et al., 2018) menyatakan bahwa variasi semacam ini dapat berkaitan dengan proses spesialisasi fungsi gen selama evolusi famili *HSP20* pada tanaman.

JURNAL BIOSENSE
Jurnal Penelitian Biologi dan Terapannya
Volume 9 No. 4, Oktober 2026, Hal 992 - 1015 E-ISSN: 2622 - 6286



Gambar 1. Motif location protein *AaHSP20*

Secara keseluruhan, pola motif menunjukkan bahwa famili *AaHSP20* pada *A. americanus* memiliki tingkat konservasi yang relatif tinggi, khususnya pada motif utama yang menyusun *alpha-crystallin domain*. Konservasi tersebut mendukung fungsi protein *HSP20* sebagai *molecular chaperone* dalam merespons berbagai cekaman abiotik, termasuk suhu tinggi dan tekanan lingkungan lainnya. Di sisi lain, variasi motif pada beberapa anggota famili menunjukkan kemungkinan terjadinya diferensiasi fungsi selama proses evolusi.

Hasil analisis motif protein *HSP20* pada *A. americanus* yang ditampilkan pada Gambar 1 menunjukkan adanya variasi pola motif antaranggota famili *AaHSP20*. Protein *AaHSP20-1* hingga *AaHSP20-8* memiliki tiga motif konservatif yang tersusun relatif seragam dengan nilai *p-value* yang rendah. Hal tersebut menunjukkan bahwa motif-motif tersebut memiliki tingkat konservasi yang tinggi di antara anggota famili dan kemungkinan merupakan bagian penting dari struktur protein *HSP20*.

Konservasi motif pada sebagian besar anggota *AaHSP20* menunjukkan adanya pemeliharaan bagian struktural protein selama proses evolusi. Motif konservatif tersebut, khususnya yang berada pada atau berkaitan dengan domain *alpha-crystallin*,

dapat mendukung fungsi *HSP20* sebagai *molecular chaperone* dalam mempertahankan stabilitas protein selama kondisi cekaman. Meskipun demikian, keberadaan motif konservatif tidak secara langsung membuktikan fungsi fisiologis spesifik suatu protein, sehingga diperlukan analisis tambahan untuk mengonfirmasi hubungan antara motif dan fungsi protein.

AaHSP20-9 dan *AaHSP20-10* menunjukkan jumlah motif yang lebih sedikit dengan nilai *p-value* yang relatif lebih tinggi dibandingkan anggota lainnya. Kondisi tersebut dapat menunjukkan adanya tingkat divergensi sekuens yang lebih tinggi pada kedua protein tersebut atau perbedaan dalam konservasi daerah tertentu. Variasi motif antaranggota famili *HSP20* dapat berkaitan dengan proses divergensi dan kemungkinan spesialisasi fungsi selama evolusi famili gen (Hasanuzzaman *et al*., 2018). Oleh karena itu, perbedaan pola motif pada AaHSP20-9 dan AaHSP20-10 perlu dikaji lebih lanjut melalui analisis filogenetik dan karakterisasi fungsional.

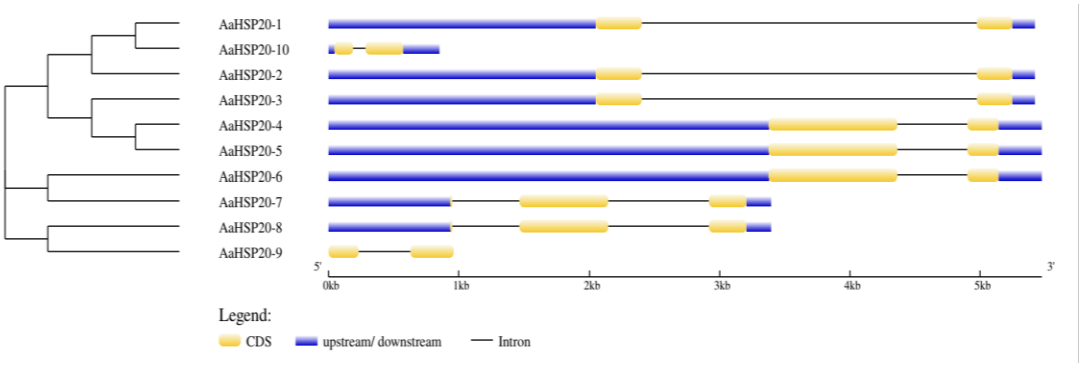
Secara keseluruhan, hasil analisis motif menunjukkan bahwa famili AaHSP20 memiliki sejumlah karakter struktural yang konservatif, terutama pada motif yang berkaitan dengan domain *alpha-crystallin*. Konservasi tersebut mendukung identitas *AaHSP20* sebagai anggota famili *HSP20,* sedangkan variasi motif antaranggota menunjukkan adanya kemungkinan diversifikasi selama evolusi.

3.3 Struktur Gen

Analisis struktur gen menunjukkan bahwa famili *AaHSP20* memiliki tingkat konservasi yang relatif tinggi, meskipun terdapat variasi pada organisasi masing-masing gen. *AaHSP20-1*, *AaHSP20-2*, *AaHSP20-3*, *AaHSP20-4*, *AaHSP20-5*, dan *AaHSP20-6* umumnya memiliki struktur yang sederhana, dengan jumlah intron yang relatif sedikit dan sebagian besar terdiri atas satu intron panjang yang memisahkan dua daerah CDS utama. Sebaliknya, *AaHSP20-7*, *AaHSP20-8*, *AaHSP20-9*, dan *AaHSP20-10* menunjukkan struktur yang lebih kompleks karena memiliki beberapa CDS yang dipisahkan oleh lebih banyak intron. Perbedaan struktur tersebut mengindikasikan adanya variasi evolusioner di antara anggota famili *AaHSP20*.

JURNAL BIOSENSE
Jurnal Penelitian Biologi dan Terapannya
Volume 9 No. 4, Oktober 2026, Hal 992 - 1015 E-ISSN: 2622 - 6286

Gen-gen yang berada pada cabang filogenetik yang sama cenderung memiliki pola struktur gen yang serupa. Kesamaan tersebut menunjukkan kemungkinan adanya hubungan evolusioner yang dekat dan pewarisan pola ekson–intron dari nenek moyang yang sama. Konservasi struktur ekson–intron selama evolusi juga telah dilaporkan pada berbagai spesies tanaman lainnya (Hou et al., 2022).



Gambar 2. Struktur gen *AaHSP20*

Sebagian besar gen *AaHSP20* memiliki intron dengan ukuran relatif pendek. Karakteristik tersebut berpotensi mendukung proses transkripsi yang lebih cepat ketika tanaman menghadapi cekaman lingkungan. Famili *HSP20* diketahui berperan sebagai kelompok gen yang responsif terhadap stres panas sehingga struktur gen yang relatif sederhana dan memiliki jumlah intron terbatas diduga merupakan salah satu bentuk adaptasi evolusioner untuk mempercepat ekspresi gen ketika terjadi cekaman (Li & Liu, 2019).

Perbedaan ukuran gen juga ditemukan pada beberapa anggota *AaHSP20*. AaHSP20-4, AaHSP20-5, dan AaHSP20-6 memiliki ukuran gen yang relatif lebih panjang dibandingkan anggota lainnya akibat keberadaan intron berukuran besar. Sementara itu, AaHSP20-7, AaHSP20-8, dan AaHSP20-9 berukuran lebih pendek tetapi memiliki beberapa CDS yang terpisah. Variasi tersebut mengindikasikan kemungkinan adanya peristiwa duplikasi gen yang diikuti oleh diferensiasi fungsi selama evolusi famili *HSP20* (Yan et al., 2024).

Karakteristik struktur gen *HSP20* pada tanaman umumnya ditandai oleh jumlah intron yang sedikit, bahkan beberapa anggota dapat tidak memiliki intron. Pola yang

sama terlihat pada *AaHSP20*, yang sebagian besar anggotanya hanya memiliki satu atau beberapa intron sehingga membentuk struktur gen yang relatif sederhana. Struktur tersebut diduga mendukung respons transkripsi yang cepat ketika tanaman mengalami cekaman, khususnya stres panas. Jumlah intron yang terbatas memungkinkan pemrosesan transkrip berlangsung lebih singkat sehingga protein *HSP20* dapat segera disintesis untuk membantu melindungi sel dari kerusakan akibat stres. Temuan serupa dilaporkan pada famili gen *HSP20 Davidia involucrata*, *Malus domestica* (apel), dan *Coix lacryma-jobi*, yang sebagian besar anggotanya memiliki struktur gen sederhana dengan nol hingga dua intron (Hou et al., 2022; Liu et al., 2024).

Secara keseluruhan, famili *AaHSP20* memiliki struktur gen yang relatif konservatif dengan variasi pada jumlah dan panjang intron antar anggota. Kesamaan struktur pada kelompok gen tertentu menunjukkan adanya kedekatan hubungan evolusioner, sedangkan variasi struktur pada anggota lainnya mengindikasikan kemungkinan terjadinya divergensi setelah peristiwa duplikasi gen. Dominasi struktur gen dengan jumlah intron yang relatif sedikit mendukung karakteristik *HSP20* sebagai kelompok gen yang mampu memberikan respons cepat terhadap cekaman lingkungan, terutama stres panas, dan berpotensi berperan penting dalam mekanisme toleransi stres pada *A. americanus*.

Analisis struktur gen pada Gambar 2 menunjukkan bahwa anggota famili AaHSP20 memiliki struktur gen yang relatif konservatif, tetapi tetap memperlihatkan variasi dalam jumlah dan panjang intron. *AaHSP20-1*, *AaHSP20-2*, *AaHSP20-3*, *AaHSP20-4*, *AaHSP20-5*, dan *AaHSP20-6* sebagian besar memiliki struktur yang relatif sederhana dengan jumlah intron yang sedikit. Sementara itu, *AaHSP20-7*, *AaHSP20-8*, *AaHSP20-9*, dan *AaHSP20-10* menunjukkan struktur yang relatif lebih kompleks dengan jumlah intron yang lebih banyak. Variasi struktur tersebut menunjukkan adanya perbedaan organisasi gen antar anggota famili *AaHSP20* yang kemungkinan terbentuk selama proses evolusi.

Kemiripan struktur gen pada beberapa anggota famili dapat mencerminkan

hubungan evolusioner yang relatif dekat. Gen yang memiliki pola ekson-intron serupa kemungkinan mempertahankan karakteristik struktural dari nenek moyang yang sama selama evolusi. Pola konservasi struktur gen serupa juga telah dilaporkan pada famili HSP20 pada beberapa spesies tanaman (Hou et al., 2022).

AaHSP20-4, *AaHSP20-5*, dan *AaHSP20-6* memiliki ukuran gen yang relatif lebih panjang dibandingkan beberapa anggota lainnya, terutama karena keberadaan intron yang berukuran lebih besar. Sebaliknya, *AaHSP20-7*, *AaHSP20-8*, dan *AaHSP20-9* memiliki ukuran gen yang relatif lebih pendek dengan struktur ekson-intron yang berbeda. Variasi ukuran dan struktur gen tersebut dapat mencerminkan perubahan struktural yang terjadi selama evolusi famili *HSP20* dan kemungkinan berkaitan dengan proses duplikasi serta divergensi gen (Yan et al., 2024).

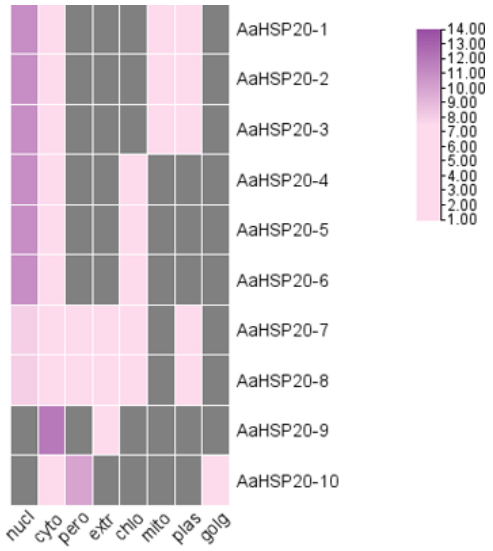
Famili *HSP20* pada tanaman umumnya memiliki struktur gen yang relatif sederhana, dengan sebagian anggota memiliki sedikit intron atau bahkan tidak memiliki intron. Pola serupa telah dilaporkan pada famili *HSP20 Davidia involucrata*, *Malus domestica*, dan *Coix lacryma-jobi*, yang sebagian besar anggotanya memiliki nol hingga dua intron (Hou et al., 2022; Liu et al., 2024). Struktur gen yang relatif sederhana dapat mendukung respons transkripsi yang efisien, tetapi hubungan langsung antara jumlah intron dan kecepatan ekspresi gen tidak dapat ditentukan hanya berdasarkan analisis struktur gen. Oleh karena itu, dugaan bahwa anggota *AaHSP20* dengan sedikit intron memiliki respons ekspresi yang lebih cepat perlu dikonfirmasi melalui analisis ekspresi gen, misalnya menggunakan RT-qPCR.

Secara keseluruhan, famili *AaHSP20* memiliki struktur gen yang relatif konservatif dengan variasi jumlah dan panjang intron antaranggota. Kesamaan struktur pada beberapa anggota menunjukkan kemungkinan adanya hubungan evolusioner yang dekat, sedangkan variasi struktur pada anggota lainnya dapat mencerminkan proses divergensi setelah terjadinya duplikasi gen. Karakteristik tersebut menunjukkan bahwa evolusi famili *AaHSP20* tidak hanya mempertahankan struktur gen tertentu, tetapi juga menghasilkan variasi struktural yang berpotensi berkontribusi terhadap diversifikasi

fungsi antaranggota famili.

3.4 Lokalisasi Subseluler

Hasil prediksi lokalisasi subseluler menunjukkan bahwa sebagian besar protein *AaHSP20* berlokasi di nukleus dan sitoplasma. Dominasi kedua kompartemen tersebut mengindikasikan kemungkinan keterlibatan *AaHSP20* sebagai *molecular chaperone* dalam mempertahankan homeostasis protein seluler ketika tanaman mengalami cekaman. *sHSP* berfungsi sebagai *molecular chaperone* yang mencegah agregasi protein, mempertahankan stabilitas protein yang mengalami denaturasi, serta mendukung proses *refolding* protein selama kondisi stres lingkungan (Haslbeck & Vierling, 2015).



Gambar 3. Subcellular localization *AaHSP20*

Lokalisasi *AaHSP20* di sitoplasma menunjukkan kemungkinan perannya dalam melindungi protein seluler dari kerusakan yang diinduksi oleh cekaman. Distribusi tersebut mengindikasikan bahwa protein *AaHSP20* berpotensi terlibat dalam mekanisme perlindungan protein pada kompartemen seluler yang penting dalam respons stres tanaman. Selain nukleus dan sitoplasma, beberapa anggota famili *AaHSP20* juga diprediksi berada pada organel lain, seperti plastida, peroksisom, dan aparatus Golgi. Keragaman lokasi subseluler tersebut mengindikasikan kemungkinan

adanya diferensiasi fungsi di antara anggota famili *HSP20*. (Ji et al., (2019) menjelaskan bahwa protein *HSP20* dapat ditemukan pada berbagai kompartemen sel dan berkontribusi dalam perlindungan protein serta peningkatan toleransi tanaman terhadap cekaman panas, kekeringan, salinitas, dan stres oksidatif. Oleh karena itu, distribusi *AaHSP20* pada berbagai organel menunjukkan kemungkinan bahwa famili gen tersebut memiliki peran yang luas dalam mekanisme perlindungan sel terhadap berbagai bentuk cekaman lingkungan.

Hasil prediksi lokalisasi subseluler pada Gambar 3 menunjukkan bahwa sebagian besar protein *AaHSP20* diprediksi berlokasi di nukleus dan sitoplasma. Distribusi tersebut sesuai dengan karakteristik umum *sHSP* yang berperan sebagai *molecular chaperone* dalam mempertahankan homeostasis protein seluler. *sHSP* dapat berinteraksi dengan protein yang mengalami denaturasi, mencegah agregasi protein, dan membantu mempertahankan protein dalam kondisi yang memungkinkan proses pelipatan kembali selama atau setelah kondisi cekaman (Haslbeck & Vierling, 2015).

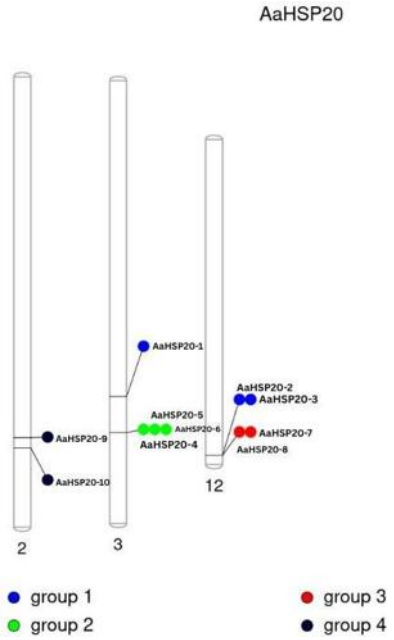
Prediksi keberadaan *AaHSP20* pada sitoplasma menunjukkan kemungkinan keterlibatan protein tersebut dalam perlindungan protein sitosolik terhadap kondisi cekaman. Sementara itu, keberadaan beberapa anggota pada nukleus menunjukkan kemungkinan keterlibatannya dalam mempertahankan kestabilan protein pada kompartemen nukleus. Namun, karena lokalisasi subseluler dalam penelitian ini diperoleh melalui prediksi *in silico*, hasil tersebut perlu dikonfirmasi menggunakan pendekatan eksperimental sebelum fungsi spesifik masing-masing protein dapat ditentukan.

Beberapa anggota famili *AaHSP20* juga diprediksi berlokasi pada organel lain, seperti plastida, peroksisom, dan aparatus Golgi. Keragaman prediksi lokalisasi tersebut menunjukkan kemungkinan adanya diversifikasi fungsi dan target protein antaranggota famili *HSP20*. (Ji et al., (2019) melaporkan bahwa protein *HSP20* pada tanaman dapat ditemukan pada berbagai kompartemen sel dan berperan dalam perlindungan protein terhadap berbagai kondisi cekaman. Dengan demikian, variasi

lokalisasi subseluler *AaHSP20* mengindikasikan bahwa famili ini berpotensi memiliki fungsi yang beragam dalam mempertahankan homeostasis protein pada berbagai kompartemen sel.

3.6 Lokalisasi Kromosom

Analisis lokalisasi kromosom menunjukkan bahwa gen *AaHSP20* pada *Acorus americanus* tidak tersebar secara merata pada seluruh kromosom, tetapi hanya ditemukan pada kromosom 2, 3, dan 12. Sebanyak 10 anggota famili *AaHSP20* berhasil dipetakan berdasarkan posisi kromosomnya. Kromosom 12 merupakan lokasi dengan jumlah gen *AaHSP20* terbanyak, yaitu *AaHSP20-2*, *AaHSP20-3*, *AaHSP20-6*, *AaHSP20-7*, dan *AaHSP20-8*. Sementara itu, kromosom 3 mengandung tiga gen, yaitu *AaHSP20-1*, *AaHSP20-4*, dan *AaHSP20-5*, sedangkan kromosom 2 memiliki dua gen, yaitu *AaHSP20-9* dan *AaHSP20-10*.



Gambar 4. Chromosomal localization *AaHSP20*

Pola distribusi tersebut menunjukkan adanya variasi kedekatan kekerabatan antar anggota famili *AaHSP20* pada *A. americanus*. Pengelompokan gen pada kromosom tertentu kemungkinan berkaitan dengan peristiwa duplikasi gen yang terjadi selama evolusi genom tanaman. Fenomena serupa juga dilaporkan oleh (Yan et al., (2024),

yang menunjukkan adanya peristiwa duplikasi pada gen *AaHSP20*. Hubungan kekerabatan antaranggota famili gen umumnya dapat terbentuk melalui mekanisme duplikasi gen, baik berupa duplikasi segmental maupun duplikasi tandem. Dengan demikian, pola distribusi kromosom *AaHSP20* pada *A. americanus* diduga merupakan salah satu hasil dari proses duplikasi gen yang berlangsung selama e Analisis lokalisasi kromosom pada Gambar 5 menunjukkan bahwa 10 gen *AaHSP20* pada *Acorus americanus* tidak tersebar secara merata pada genom, tetapi hanya ditemukan pada kromosom 2, 3, dan 12. Kromosom 12 memiliki jumlah anggota *AaHSP20* terbanyak, yaitu *AaHSP20-2*, *AaHSP20-3*, *AaHSP20-6*, *AaHSP20-7*, dan *AaHSP20-8*. Kromosom 3 mengandung tiga gen, yaitu *AaHSP20-1*, *AaHSP20-4*, dan *AaHSP20-5*, sedangkan kromosom 2 mengandung dua gen, yaitu *AaHSP20-9* dan *AaHSP20-10*.

Distribusi yang tidak merata tersebut menunjukkan adanya pengelompokan anggota famili *AaHSP20* pada kromosom tertentu. Pengelompokan gen dapat terbentuk melalui berbagai mekanisme evolusi genom, termasuk duplikasi gen. Duplikasi gen merupakan salah satu mekanisme penting yang dapat berkontribusi terhadap ekspansi famili gen dan menyediakan salinan gen yang selanjutnya dapat mengalami divergensi. (Yan et al., (2024) juga melaporkan bahwa duplikasi segmental dan tandem dapat berkontribusi terhadap pembentukan dan diversifikasi famili *HSP20* pada tanaman.

Namun, keberadaan beberapa gen *AaHSP20* pada kromosom yang sama belum dapat secara langsung membuktikan bahwa gen-gen tersebut merupakan hasil duplikasi tandem. Identifikasi jenis duplikasi memerlukan analisis lebih lanjut berdasarkan posisi relatif gen, hubungan sintenik, dan hasil analisis seperti MCScanX. Berdasarkan uraian tersebut, distribusi *AaHSP20* pada kromosom 2, 3, dan 12 memberikan indikasi awal mengenai pola evolusi famili gen, sedangkan hubungan kekerabatan dan mekanisme duplikasi perlu dikonfirmasi melalui analisis filogenetik dan duplikasi gen.

Secara keseluruhan, distribusi kromosom *AaHSP20* yang tidak merata menunjukkan adanya pola pengelompokan gen dalam genom *A. americanus*. Pola pengelompokan gen dengan variasi struktur gen dan motif konservatif, dapat

mencerminkan konservasi dan diversifikasi famili *HSP20* selama proses evolusi.

3. KESIMPULAN DAN SARAN

4.1 Kesimpulan

Analisis *in silico* berhasil mengidentifikasi 10 gen *AaHSP20* pada genom *Acorus americanus* yang tersebar pada kromosom 2, 3, dan 12. Analisis motif konservatif, struktur gen, dan distribusi kromosom menunjukkan adanya karakteristik yang relatif konservatif serta mengindikasikan kemungkinan keterlibatan proses duplikasi gen dalam evolusi dan diversifikasi famili *AaHSP20*. Sementara itu, prediksi lokalisasi subseluler menunjukkan bahwa sebagian besar protein *AaHSP20* diprediksi berada di sitoplasma dan nukleus. Secara keseluruhan, karakteristik tersebut menunjukkan bahwa famili AaHSP20 berpotensi berperan dalam respons dan adaptasi *A. americanus* terhadap perubahan kondisi lingkungan. Namun, fungsi spesifik masing-masing anggota AaHSP20 perlu dikonfirmasi melalui analisis ekspresi dan validasi eksperimental.

4.2 Saran

Penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan analisis ekspresi gen *AaHSP20* pada berbagai jaringan dan kondisi cekaman abiotik, seperti kekeringan, salinitas, suhu ekstrem, dan intensitas cahaya yang berbeda, untuk mengidentifikasi pola ekspresi serta kemungkinan fungsi spesifik masing-masing anggota famili *AaHSP20*. Selain itu, analisis filogenetik dan sintenik dapat dilakukan untuk memperkuat dugaan terjadinya duplikasi gen dan memahami mekanisme evolusi famili *AaHSP20*. Hasil prediksi *in silico* terkait lokalisasi subseluler juga perlu divalidasi melalui pendekatan eksperimental, seperti analisis ekspresi *qRT-PCR* dan uji lokalisasi protein, sehingga peran masing-masing protein *AaHSP20* dalam respons dan adaptasi *A. americanus* terhadap perubahan lingkungan dapat dikonfirmasi secara lebih komprehensif.

*4.3 **Acknowledgment***

Penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Mukhamad Su'udi, Ph.D., atas pendampingan, arahan ilmiah, serta masukan konstruktif yang diberikan selama proses pengembangan dan analisis penelitian ini. Keahlian dan saran yang diberikan telah berkontribusi secara signifikan terhadap ketelitian ilmiah dan kualitas penelitian ini.

5. REFERENSI

Anugrah, D. E., Setiawan, T. P., Samita, R., Aulia, E., Aminingsih, R., Sari, V., Hajijah, S., Kencana, Y. ., Nugraha, D., Safitri, I., Pratama, A., Joko, U., & Fahrurrozi, F. (2022). Penggunaan Indikator Fisiologis Untuk Menentukan Tingkat Cekaman Salinitas Pada Tanaman Padi (Oryza sativa L.) (Physiological Indicators To Determine The Level Of Salinity Stress In Rice (Oryza sativa L.)). *Jurnal Agroqua*, *17*(2), 115–125. https://doi.org/10.32663/ja.v

Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M. B., Mahmud, J. A., Nahar, K., Mohsin, S. M., Parvin, K., & Fujita, M. (2018). Interaction of sulfur with phytohormones and signaling molecules in conferring abiotic stress tolerance to plants. *Plant Signaling and Behavior*, *13*(5), 1–5. https://doi.org/10.1080/15592324.2018.1477905.

Haslbeck, M., & Vierling, E. (2015). A first line of stress defense: Small heat shock proteins and their function in protein homeostasis. *Journal of Molecular Biology*, *427*(7), 1537–1548. https://doi.org/10.1016/j.jmb.2015.02.002.

Hou, Z., Li, A., & Huang, C. (2022). Genome-wide identification, characterization and expression of HSP 20 gene family in dove. *Frontiers in Genetics*, *13*(October), 1–14. https://doi.org/10.3389/fgene.2022.1011676.

Huang, J., Hai, Z., Wang, R., Yu, Y., Chen, X., Liang, W., & Wang, H. (2022). Genome-wide analysis of HSP20 gene family and expression patterns under heat stress in cucumber (Cucumis sativus L.). *Frontiers in Plant Science*, *13*(August), 1–14. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.968418.

Ji, X. R., Yu, Y. H., Ni, P. Y., Zhang, G. H., & Guo, D. L. (2019). Genome-wide identification of small heat-shock protein (HSP20) gene family in grape and expression profile during berry development. *BMC Plant Biology*, *19*(1), 1–15. https://doi.org/10.1186/s12870-019-2031-4.

Li, J., & Liu, X. (2019). Genome-wide identification and expression profile analysis of the Hsp20 gene family in Barley (Hordeum vulgare L.). *PeerJ*, *7*. https://doi.org/10.7717/PEERJ.6832

Liu, S., Wu, Y., Li, Y., Zhang, Z., He, D., Yan, J., Zou, H., & Liu, Y. (2024). Genome-Wide Identification and Expression Analysis of Heat Shock Protein 20 (HSP20) Gene Family in Response to High-Temperature Stress in Chickpeas (Cicer arietinum L.). *Agronomy*,

14(8), 1–20. https://doi.org/10.3390/agronomy14081696

Mishra, S., Spaccarotella, K., Gido, J., Samanta, I., & Chowdhary, G. (2023). Effects of Heat Stress on Plant-Nutrient Relations: An Update on Nutrient Uptake, Transport, and Assimilation. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(21). https://doi.org/10.3390/ijms242115670

Qutbi, A. A., Sarjan, M., & Sjah, T. (2024). Dampak Perubahan Iklim terhadap Keanekaragaman Hayati dan Kesehatan Lingkungan. *LAMBDA : Jurnal Ilmiah Pendidikan MIPA Dan Aplikasinya*, *4*(2), 113–119. https://doi.org/10.58218/lambda.v4i2.883

Waters, E. R. (2013). The evolution, function, structure, and expression of the plant sHSPs. *Journal of Experimental Botany*, *64*(2), 391–403. https://doi.org/10.1093/jxb/ers355

Wei, G. W., Chen, Y., Sun, X. S., Chen, Y. H., Luo, F. L., & Yu, F. H. (2019). Growth responses of eight wetland species to water level fluctuation with different ranges and frequencies. *PLoS ONE*, *14*(7), 1–15. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0220231

Yan, H., Du, M., Ding, J., Song, D., Ma, W., & Li, Y. (2024). Pan-Genome-Wide Investigation and Co-Expression Network Analysis of HSP20 Gene Family in Maize. *International Journal of Molecular Sciences*, *25*(21). https://doi.org/10.3390/ijms252111550

Yu, J., Cheng, Y., Feng, K., Ruan, M., Ye, Q., Wang, R., Li, Z., Zhou, G., Yao, Z., Yang, Y., & Wan, H. (2016). Genome-wide identification and expression profiling of tomato Hsp20 gene family in response to biotic and abiotic stresses. *Frontiers in Plant Science*, *7*(AUG2016), 1–14. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01215

Zhao, P., Wang, D., Wang, R., Kong, N., Zhang, C., Yang, C., Wu, W., Ma, H., & Chen, Q. (2018). Genome-wide analysis of the potato Hsp20 gene family: Identification, genomic organization and expression profiles in response to heat stress. *BMC Genomics*, *19*(1), 1–13. https://doi.org/10.1186/s12864-018-4443-1

Zhao, Y., Li, J., Cao, G., Zhao, D., Li, G., Zhang, H., & Yan, M. (2023). Ethnic, Botanic, Phytochemistry and Pharmacology of the Acorus L. Genus: A Review. *Molecules*, *28*(20). https://doi.org/10.3390/molecules28207117