



## PROSIDING

### SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA III

"Teori dan Aplikasi Sains dalam Isu Globalisasi Lingkungan, Profesionalisasi Pembelajaran dan Kewirausahaan"

Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan PMIPA FKIP UNS

Surakarta, 7 Mei 2011



MAKALAH PENDAMPING

BIOKIMIA  
(Kode : F-06)

ISBN : 978-979-1533-85-0

## KARAKTERISASI FRAGMENT 0,45 kb GEN PENGKODE STILBEN SINTASE (STS) DARI TANAMAN MELINJO (*Gnetum gnemon* L.)

Elly Rustanti<sup>1</sup>, Tri Joko Raharjo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara Yogyakarta 55281. Email: [er\\_ellyrose@yahoo.com](mailto:er_ellyrose@yahoo.com)

<sup>2</sup>Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara Yogyakarta 55281. Email: [tri\\_jrarvin@yahoo.com](mailto:tri_jrarvin@yahoo.com)

### Abstrak

Resveratrol bermanfaat dalam kesehatan sebagai antikanker dan agen pencegah kanker (cancer chemopreventive). Melinjo (*Gnetum gnemon*) telah diketahui sebagai penghasil resveratrol. Gen pengkode sts pada melinjo dianggap sebagai salah satu target untuk perubahan genetik tanaman penghasil resveratrol. Amplifikasi dilakukan dengan RT-PCR dengan pasangan primer GGF1 (5' GCAACCGTCCTGGCAATCGC 3') dan GGR1 (5' GTTCCACCTGCGAAGCAGCC3') menghasilkan banyak fragmen dengan salah satu fragmen berukuran 0,45 kb sesuai dengan perkiraan ukuran berdasarkan posisi urutan primer di gen sts yang lain. Hasil sekuensing fragmen hasil RT-PCR (fragmen 0,45 kb) menunjukkan kemiripan dengan urutan DNA gen sts *Arachis hypogaea*, sebesar 70%. Homologi ini lebih tinggi dibandingkan kemiripan urutan antara gen sts yang biasanya berkisar 66%. Dengan demikian penelitian ini telah berhasil mendapatkan urutan DNA fragmen gen sts *Gnetum gnemon*.

**Kata Kunci:** Gen stilben sintase (sts), RT-PCR, Resveratrol, Melinjo (*Gnetum gnemon* L.)

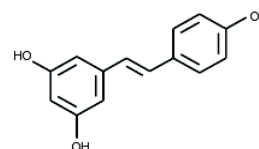
### PENDAHULUAN

Penyakit kanker merupakan salah satu masalah kesehatan utama yang di hadapi dunia kesehatan pada saat ini. Menurut data WHO, tahun 2007 kanker menyebabkan kematian sebanyak 7,9 juta orang yang merupakan 13% dari total kematian. Pengobatan pada kanker biasanya mengkombinasikan pembedahan, radiasi, dan *chemoteraphy* (terapi obat). Selain pengobatan kanker juga dapat di cegah diantaranya dengan menggunakan obat dan suplemen pencegah kanker (*cancer chemopreventive*).

Salah satu senyawa yang banyak menunjukkan antikanker yang sekaligus dapat berfungsi sebagai kemopreventif adalah senyawa

resveratrol<sup>[1]</sup>. Resveratrol (trans-3,4,5-trihydroxystilbene), merupakan senyawa polifenol alami, termasuk dalam metabolit sekunder golongan stilbenoid ditemukan dalam berbagai spesies tanaman seperti dari *Arachis hypogaea*<sup>[2]</sup>, *Vitis vinifera*<sup>[3]</sup>, serta tanaman *Gnetum sp*<sup>[4]</sup>.

Senyawa reseveratrol merupakan senyawa bahan alam yang mempunyai struktur seperti pada gambar berikut:



Gambar 1. Resveratrol

Secara kimia reseveratrol termasuk dalam metabolit sekunder golongan stilbenoid yang suhu

kamar resveratrol berbentuk serbuk putih dengan berat molekul 228,25 g/mol, mempunyai titik leleh 253-355 °C [5].

Salah satu alternatif produksi resveratrol yaitu menggunakan pendekatan biologi molekuler. Berdasarkan jalur biosintesis resveratrol diketahui bahwa enzim Stilbene Sintase (STS) merupakan enzim kunci dalam biosintesis. Enzim ini mengkatalisis kondensasi *p*-coumaril-CoA dengan malonil-CoA menghasilkan resveratrol [6].

Enzim STS yang terdapat dalam tanaman Melinjo sangat kuat, sehingga gen pengkode enzim STS menarik untuk dikloning yang selanjutnya dapat diekspresikan menjadi protein, baik dengan cara *in vitro* maupun *in vivo*. Untuk melakukan kloning dan ekspresi gen, diperlukan informasi tentang urutan gen pengkode enzim STS pada melinjo. Karakterisasi gen pengkode enzim STS dapat dilakukan dengan teknik RT-PCR menggunakan primer yang didesain berdasarkan daerah conserve dari urutan gen *sts* di genebank dari berbagai sumber tanaman yang secara taksonomi relatif dekat dengan *Gnetum gnemon*.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan bahan

Alat yang digunakan adalah timbangan digital, Waterbath incubator, Mesin PCR, sentrifugase, DNA sequencer ABI PRISM 310, seperangkat alat elektroforesis [Bio Rad (wide minisub<sup>(P)</sup> cell GT)], pipet mikro, microwave, laminar flow, lampu UV.

Bahan utama yang digunakan adalah daun melinjo (*Gnetum gnemon*), primer GGF1(5'GCAACCGTCCTGGCAATCGC3') dan GGR1 (5' GTTCCACCTGCGAAGCAGCC 3'). Bahan kimia yang digunakan adalah Trizol reagent, Transcriptor first strand cDNA synthesis kit, illustra<sup>TM</sup> Ready To Go PCR bead, PureLink<sup>TM</sup> Quick gel extraction kit dan bahan pendukung:

isopropanol, kloroform, etanol 75%, agarose, loading buffer, ethidium bromida (EB), DNA marker, RNase free water, aquadest steril, nitrogen cair, buffer TAE.

### Prosedur Penelitian

#### Isolasi RNA Total Melinjo

100 mg daun melinjo masukkan dalam mortar digerus sambil ditambahkan N<sub>2</sub> cair dan dilarutkan dengan trizol 1 mL kemudian masukkan ke tube divortex dan inkubasi pada suhu kamar 10 menit. Sentrifuge pada 12.000 rpm 5 menit. Supernatan dipindahkan ke tube yang baru, tambahkan kloroform 200 µL dan digojok 10 detik dilanjutkan inkubasi pada suhu kamar 10 menit, sentrifuge pada 12.000 rpm 10 menit. Supernatan pindah ke tube yang baru tambahkan isopropanol 500 µL dan diinkubasi pada suhu kamar selama 10 menit, sentrifuse pada 12.000 rpm 15 menit. Pellet dicuci dengan 1 mL etanol 75% selama 2 kali vortex dan sentrifuge pada 7500 rpm 10 menit, kemudian sisa etanol dikeringkan dalam laminar flow dan pellet RNA total dilarutkan dalam RNase free water. Isolate RNA dielektroforesis dengan gel agarose dan diukur serapannya dengan spektrofotometer UV.

#### Amplifikasi RT-PCR

RT-PCR dilakukan dengan dua tahap yaitu tahap sintesis untai pertama cDNA (tahap Reverse Transcription, RT) dan tahap amplifikasi PCR. Tahap RT dilakukan dengan menggunakan Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kit untuk mengamplifikasi cDNA menggunakan mesin PCR. Campuran reaksi dibuat dengan mengambil RNA total 5,4 µL ditambahkan 1 µL oligo-dT primer, 2 µL random hexamer primer, 4,6 µL RNase free water (volume total=13 µL) kemudian dipanaskan dalam mesin PCR pada suhu 65 °C 10 menit kemudian didinginkan di ice bath. Kemudian tambahkan transcriptor RT

reaction buffer 5x 4  $\mu$ L, campuran dNTP 2  $\mu$ L, protector RNase inhibitor 0,5  $\mu$ L dan transcriptor RT 0,5  $\mu$ L (volume total=20  $\mu$ L), inkubasi pada suhu 25  $^{\circ}$ C 10 menit, panaskan dalam mesin PCR pada suhu 55  $^{\circ}$ C 30 menit dan pada suhu 85  $^{\circ}$ C 5 menit.

Tahap kedua (PCR), dilakukan dengan menggunakan illustra™ Ready To Go PCR bead. Tahap ini dimulai dengan mengambil sebuah tube PCR yang berisi 1 butir Bead dilarutkan dalam RNase free water 21  $\mu$ L, tambahkan 1  $\mu$ L primer forward (GGF1) dan 1  $\mu$ L primer reverse (GGR1), template (cDNA) hasil tahap RT 2  $\mu$ L (volume total=25  $\mu$ L), diamkan sampai padatan larut sempurna, dihomogenkan dan spin 10 detik tambahkan mineral oil 25 $\mu$ L dan masukkan dalam mesin PCR direksikan dengan kondisi denaturasi 95  $^{\circ}$ C 1 menit, annealing 52  $^{\circ}$ C 1 menit, polimerisasi 72  $^{\circ}$ C 2 menit 35 siklus. Siklus terakhir diperpanjang pada 72  $^{\circ}$ C selama 10 menit. Hasil amplifikasi RT-PCR diidentifikasi dengan elektroforesis gel agarose 1,5% dalam buffer TAE 1x dengan voltase 100 V 40 menit dan diamati dengan lampu UV.

### **Isolasi Fragmen RT-PCR**

Apabila fragmen hasil elektroforesis RT-PCR menunjukkan banyak fragmen maka fragmen dengan ukuran sesuai target diisolasi. Isolasi fragmen dilakukan terhadap fragmen hasil PCR dalam gel agarose menggunakan *PureLink™ Quick Gel Extraction kit* (Invitrogen). Fragmen DNA target pada gel dipotong dengan scapel steril kemudian dicatat dan dimasukkan ke mikrotube untuk ditimbang. Ditambahkan buffer pelarut gel sebanyak 3x volume gel ( $\mu$ L) (berat gel dalam mg), kemudian diinkubasi pada waterbath 50  $^{\circ}$ C 10 menit dengan dibolak-balik setiap 3 menit agar gel larut sempurna. Setelah gel larut inkubasi dilanjutkan 5 menit lagi

kemudian ditambahkan isopropanol sebanyak 1x volume gel.

Larutan gel kemudian dimasukkan ke dalam kolom ekstraksi gel yang telah dipasangkan pada wash tube disentrifuge pada 12.000 g 1 menit. Sisa EB dibuang kemudian kolom dicuci dengan 600  $\mu$ L wash buffer yang mengandung etanol dan sentrifuge lagi pada 12.000 g 1 menit, buang residu yang berada di wash tube, sentrifuge lagi pada 15.000 g 2 menit. Buang wash tube dan tempatkan kolom pada recovery tube. Fragmen DNA dielusi dari kolom dengan 50  $\mu$ L elution buffer ke bagian tengah kolom, inkubasi 1 menit pada suhu kamar dan disentrifuge pada 12.000 g 1 menit untuk mengelusi DNA purified ke recovery tube.

Hasil fragmen DNA pada recovery tube dianalisis dengan elektroforesis dengan menggunakan gel agarose 1,5 % dalam buffer TAE 1x dengan voltase 100 V 40 menit dan diamati diatas lampu UV kemudian absorbansi diukur dengan spektrofotometer UV pada  $\lambda$  260 nm dan  $\lambda$  280 nm Selanjutnya dihitung harga rasio ( $R_{260/280}$ ) untuk menentukan kemurnian isolat DNA yang didapat.

### **Sekuensing Fragmen DNA**

Sekuensing DNA menggunakan ABI PRISM 310 Instrumen DNA Analyzer, menggunakan Vector NTI (Invitrogen). Studi homologi urutan fragmen DNA menggunakan clustal W dan di submit ke database gen (GeneBank).

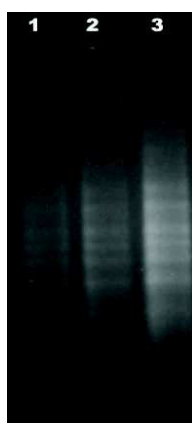
## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Isolasi RNA Total**

RNA total diisolasi dari daun muda Melinjo menggunakan pereaksi Trizol kit. Proses ini prinsipnya memiliki 5 tahapan, yaitu homogenasi, separasi, presipitasi, pencucian, dan resuspensi. Analisis kuantifikasi RNA total dengan spektrofotometer menunjukkan ratio

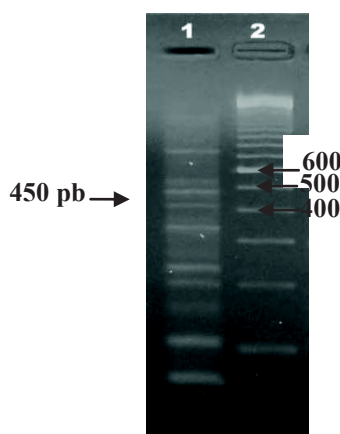
OD260/OD280 antara 1,75. Hasil ini menunjukkan bahwa tingkat kemurnian RNA total yang diperoleh terlalu tinggi dan terdapat kontaminasi protein. Pellet RNA lebih spesifik disebut sebagai mRNA.

mRNA yang telah diisolasi dapat diamplifikasi melewati proses transkripsi balik (RT-PCR) sehingga diperoleh molekul cDNA. Molekul cDNA tersebut kemudian digunakan sebagai cetakan dalam proses PCR.



**Gambar 2. Hasil Elektroforesis RNA total**

Hasil amplifikasi RT-PCR dengan pasangan primer GGF1 dan GGR1, selanjutnya di uji secara kualitatif dengan melakukan elektroforesis pada gel agarose 1,5%.

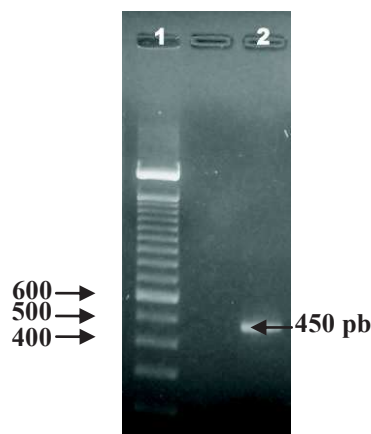


**Gambar 3. Hasil Elektroforesis RT-PCR (1), marker (2)**

Hasil elektroforesis RT-PCR dengan primer GGF1 dan GGR1 menunjukkan banyak fragmen DNA yang muncul, dan tidak menghasilkan fragmen tunggal. Namun yang digunakan dalam

DNA target yaitu fragmen tunggal pada kisaran 450 bp (0,45 kb). Banyaknya fragmen DNA yang muncul pada hasil amplifikasi disebabkan karena optimasi yg kurang tepat, terutama pada suhu annealing. Optimasi suhu annealing dilakukan pada suhu 52 °C, namun fragmen DNA hanya terlihat pada suhu 55 °C dengan jumlah fragmen DNA yang banyak. Oleh karena itu, langkah selanjutnya adalah mengisolasi fragmen DNA target hasil RT-PCR.

Isolasi fragmen RT-PCR menggunakan PureLink™ Quick gel extraction kit karena kit tersebut dapat mempurifikasi fragmen DNA dari TAE gel agarose pada berbagai konsentrasi dan titik leleh. Fragmen DNA dari 40 bp ke 10 kb dapat dengan mudah dipurifikasi dari gel dan fragmen DNA yang dihasilkan berkualitas tinggi. Hasil purifikasi dianalisis dengan elektroforesis gel agarose 1,5%.



**Gambar 4. Hasil elektroforesis fragmen (2), DNA marker (1)**

Hasil elektroforesis didapatkan fragmen tunggal untuk DNA target yang dapat langsung disekuensing. Sekuensing dilakukan dengan menggunakan metode Dye ddNTP terminator dengan pemisahan fragmen menggunakan metode capillary electrophoresis. Fragmen disekuensing dengan menggunakan primer GGF1, dan GGR1. Fragmen disekuensing dengan satu primer mengingat metode *capillary* elektroforesis dapat mensekuen sampai 800 pb dalam sekali reaksi sehingga fragmen (450 pb)

masih dapat disekuensing dalam sekali reaksi dengan satu primer kemudian digabungkan dan Hasil pembacaan sekuensing untuk fragmen gen *sts Gnetum gnemon* ditunjukkan pada gambar 5.

Untuk memastikan bahwa fragmen hasil PCR merupakan bagian gen *sts Gnetum gnemon* maka dilakukan studi homologi fragmen hasil tersebut dengan urutan gen *sts Arachis hypogaea* L00952. Hasil *alignment* ditunjukkan pada gambar 6. Aligment urutan hasil sekuensing fragmen terhadap urutan nukleotida gen *sts Arachis hypogaea* L00952 menunjukkan bahwa sekuensing fragmen mempunyai kemiripan dengan daerah depan gen yang merupakan posisi target amplifikasi gen. Nilai homologi urutan fragmen dengan primer GGF1 dan GGR1 mencapai 70% terhadap *Arachis hypogaea*. Berdasarkan data-data tersebut maka diyakini bahwa fragmen tersebut merupakan hasil amplifikasi RT-PCR total RNA yang merupakan bagian gen *sts* dari *Gnetum gnemon* dan sekuensing yang dihasilkan merupakan bagian urutan gen *sts Gnetum gnemon*. Dengan demikian penelitian telah berhasil mendapatkan urutan DNA fragmen 0,45 kb gen *sts Gnetum gnemon* dengan primer GGF1 dan GGR1.

## KESIMPULAN

Pasangan primer forward dan reserve, GGF1(5'GCAACCGTCCTGGCAATCGC3') dan GGR1(5'GTTCCACCTGCGAAGCAGCC3') yg dapat mengamplifikasi fragmen gen *sts* dengan ukuran 0,45 kb.

Urutan DNA Fragmen gen *sts Gnetum gnemon* mempunyai kemiripan dengan urutan DNA gen *sts Arachis hypogaea* sebesar 70%. Penelitian telah berhasil mendapatkan urutan DNA fragmen gen *sts Gnetum gnemon*.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Melalui kesempatan ini, penulis menyampaikan terima kasih kepada semua pihak yang mendukung sehingga penelitian ini dapat berjalan sebagaimana mestinya, khususnya kepada Bapak Tri Joko Raharjo dan Bu Istini dari Lembaga pengujian dan penelitian terpadu (LPPT) UGM atas bantuan dan kerjasamanya.

## DAFTAR RUJUKAN

- [1] Jang, M., Cai, L., Udeani, G. O., Slowing, K. V., Thomas, C. F., Beecher, C. W., Fong H. H. S., Farnsworth N. R., Kinghorn A. D, Mehta R. G., Moon RC., Pezzuto JM. ,1997, *Cancer Chemopreventive Activity Of Resveratrol, A Natural Product Derived From Grapes. Science*, 275 (5297), 218–220.
- [2] Chen, RS, Wu, PL, and Chiou, RY, 2002, *Peanut Roots As A Source Of Resveratrol*. *J Agric Food Chem*, 50: 1665-1667
- [3] Teguo, PW, Fauconneau, B, Deffieux, G, Huguët, F, Vercauteren, J, dan Merillon, JM, 1998, *Isolation, Identification, And Antioxidant Activity Of Three Stilbene Glucosides Newly Extracted From Vitis Vinifera Cell Cultures*. *J Nat Prod*, 61: 655-65
- [4] Iliya, I, Ali, Z, Tanaka, T, Iinuma, M, Furusawa, M, Nakaya, K, Murata, J, Darnaedi, D, Matsuura, N, dan Ubukata, M ,2003, *Stilbene Derivatives from Gnetum gnemon* Linn. *Phytochemistry*, 62: 601-606
- [5] Deak, M dan Falk, H, 2003, *The Chemistry Of Resveratrol Diastereomers*. *Monat Fur Chem*, 134: 883-888
- [6] Gorham, J. 1995, *The Biochemistry Of The Stilbenoids*, Chapman & Hall, London

## TANYA JAWAB

**Nama Penanya** : Florentina

**Nama Pemakalah** : Elly Rustanti

**Pertanyaan** :

1. Fragmen 0,45 Kb memiliki daya katalis kuat, untuk reaksi apa? Bagaimana prinsip kerjanya?
2. Apa fungsi dari hasil penelitian ini?
3. Apa dasar pemikiran untuk pemilihan primer?

Jawaban :

1. Fragmen merupakan suatu gen, sedangkan katalis adalah enzim. Fragmen 0,45 kb tersebut digunakan untuk cloning dan diekspresikan oleh bakteri *E.coli* menghasilkan enzim STS, enzim tersebut sebagai enzim kunci dalam biosintesis pesveratol, karena dalam tanaman melinjo

terdapat pesveratol dalam jumlah yang besar sehingga aktivitas enzimnya kuat.

2. Untuk menghasilkan urutan fragmen 0,45 gen STS *Gnetum gnemon* dan hasil urutan fragmen dapat digunakan sebagai informasi urutan gen dalam cloning dan ekspresi gen.
3. Primer diperoleh berdasarkan daerah cosurve pada gen STS tanaman lain yang sudah disubmit dalam genebank yang secara taksonomi mempunyai kemiripan.

## LAMPIRAN

Hasil pembacaan sekuensing untuk fragmen gen *sts Gnetum gnemon*

```
CGAGTGGATTGCCCTATGTATCTACCGAGAACCGAATTTCCCAACTGGAGCTCTTGGTCTACTACTAGG
GATTCCTATCCACCATAACCAAACTTAAGGAGAGGAGGTAGAGCAATAGCTTGGGTTGACCCTCTTAA
TGAAGATCTGGCAGAGGAGAAGCTATCCATTCAAGTCCAAAGCAAGGTGGAAAGTCTCAATTCAAGTCT
GCGGTTGATGACCGTAGCAATAGTCAATGGCACTGGAGGGAAGCCGCTTGGAAAGGAAGGTGGCTTATG
CTGTTGAAAGCCTACCTCATCCTAGCATGGCCTATCTTTATCCCGTGATAATGATAATTCTATTCAATAT
CATGAATAGGTCTGCCTGTCTACCATTTCTATATGCCATATG
```

**Gambar 5. Urutan fragmen gen *sts Gnetum gnemon***



Hasil alignment (perbandingan urutan) melalui studi homologi gen *sts Gnetum gnemon* dengan gen *sts Arachis hypogaea* menggunakan program clustal W.

CLUSTAL 2.0.12 multiple sequence alignment

```
L00952Arachis ATGGTGTCTGTGAGTGGAAATTCGCAAGGTTCAAAGGGCAGAAGGTCCAGCAACTGTATTG 60
FRAGMEN Gnetum -----

                                L00952Arachis
GCAATTGGAACAGCAAATCCACCGAACTGTATTGATCAGAGTACATATGCAGATTATTAT 120
FRAGMEN Gnetum -----CGAGTGGATTGCCCTATGTATCTACCGAGAACCGAATTTCCCAACTGGAGC 51
** ** * * * * * * * * * * * * * * * * *

L00952Arachis TTTAGAGTAACCAATAGCGAACACATGACTGATCTCAAGAAGAAATTTTCAGCGCATCTGT 180
FRAGMEN Gnetum TCTTGGTCTACTACTAGGGATTCC--TATCCACCATAACCAAAAACCTTAAGG----- 100
* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

L00952Arachis GAGAGAACACAGATCAAGAACAGACATATGTACT-TAACAGAAGAGATACTAAAAGAAAA 239
FRAGMEN Gnetum -AGAGGAGGTAGAGCAATAGCTTGGGTTGACCCTCTTAATGAAGATCTGGCAGAGGAGAA 159
***** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

L00952Arachis TCCTAACATGTGTGCATACAAGGCACCGTCATTGGATGCAAGAGAAGACATGATGATCAG 299
FRAGMEN Gnetum GCT--ATCCATTCAAGTCCAAAGCAAGGTGGAAAGTCTCAATTCAAGTC-TGCGGTTGAT 216
* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

L00952Arachis GGAGGTACCAAGATTGGAAAAGAGGGCTGCAACCAAGGCCATCAAGGAATGGGGCCAGCC 359
FRAGMEN Gnetum GACCGTAGCAATAGTC--AATGGCACTGGAGGGAAGCCGCTT--GGAAGGAAGGTGGCT 271
* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

L00952Arachis AATGTCTAAGATCACACATTTGATCTTCTGCACCACCAGCGGCTTGCCTTGCCTGGCGT 419
FRAGMEN Gnetum TATGTCTTTGAAAGCCTACCTCATCTAGC-----ATGGCCTATCTTTATCCCGTGA 323
*** ** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

L00952Arachis TGATTACGAACTCATCGTACTTTTGGGGCTGGACCCATGCGTCAAGAGGTACATGATGTA 479
FRAGMEN Gnetum TAATGATAATTCCTATTCAATATCATGAATAGGTCTGCCTGTCTACCATTCTATATGCC 383
* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

L00952Arachis CCACCAAGGTTGCTTCGCTGGTGGCACTGTCTTCGTTTGGCTAAGGACTTGGCTGAAAA 539
FRAGMEN Gnetum ATATG----- 388
*

L00952Arachis CAACAAGGATGCTCGTGTACTTATCGTTTGTCTGAGAATACCGCAGTCACTTTCCGCGG 599
FRAGMEN Gnetum -----

L00952Arachis TCCTAGTGAGACAGACATGGATAGTCTTGTAGGACAAGCATTGTTTGCCGATGGAGCTGC 659
FRAGMEN Gnetum -----

L00952Arachis TGCGATTATCATTGGTTCTGATCCTGTGCCAGAGGTTGAGAAGCCTATCTTTGAGCTTGT 719
FRAGMEN Gnetum -----

L00952Arachis TTCGACCGATCAAAAACCTTGTCCTGGCAGCCATGGAGCCATCGGTGGTCTCCTTCGTGA 779
FRAGMEN Gnetum -----

L00952Arachis AGTTGGACTTACATTCTATCTTAACAAGAGTGTTTCCTGATATTATTTTCGAAAATATCAA 839
FRAGMEN Gnetum -----

L00952Arachis TGACGCGCTCAATAAAGCTTTTGATCCATTGGGTATTTCTGATTATAACTCAATATTTTG 899
FRAGMEN Gnetum -----

L00952Arachis GATTGCACATCCTGGTGGGCGTGCAATTTGGACCAGGTTGAACAGAAGGTGAAGTGA 959
FRAGMEN Gnetum -----

L00952Arachis GCCAGAGAAGATGAAAGCCACTAGAGATGTGCTTAGCAATTATGGTAACATGTCAAGTGC 1019
FRAGMEN Gnetum -----

L00952Arachis CTGTGTGTTCTTCATTATGGATTTGATGAGGAAGAGGTCTCTTGAAGAAGGACTTAAAAC 1079
FRAGMEN Gnetum -----

L00952Arachis TACCGGAGAAGGACTTGATTGGGGTGTGCTTTTGGCTTTGGTCTGCTCACTATTGA 1139
FRAGMEN Gnetum -----

L00952Arachis AACTGTCGTTCTCCGCAGTGTGGCCATATAA 1170
FRAGMEN Gnetum -----
```

**Gambar 6. Hasil alignment gen *sts Gnetum gnemon* dengan *Arachis hypogaea***