



DESAIN PRIMER UNTUK IDENTIFIKASI GEN LUCIFERASE PADA KUNANG-KUNANG GENUS *Lamprigera* (Lampyridae: Coeloptera)

Aldi Pranata, Yuni Ahda
Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Padang
Email: ahdayani@fmipa.unp.ac.id

ABSTRAK

Enzim luciferase dari kunang-kunang banyak dimanfaatkan pada dunia modern, namun gen luciferase pada kunang-kunang masih sedikit digunakan untuk mendapatkan enzim luciferase terutama pada genus *Lamprigera*. Informasi mengenai gen luciferase pada genus *Lamprigera* sulit ditemukan, sehingga untuk mendapatkan gen luciferase pada genus memerlukan primer yang didesain sendiri. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan primer yang bisa mengamplifikasi gen luciferase yang terdapat pada *Lamprigera* sp. Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode desain primer menggunakan aplikasi Geneious prime 5.6.7. Untuk melihat keberhasilan desain primer tersebut, dilakukan amplifikasi dengan metode PCR pada suhu yang bervariasi pada tahap *annealing*. Hasil dari penelitian ini berupa sepasang primer dengan kode Lampyridae F dan Lampyridae R yang memenuhi kriteria primer yang baik yaitu panjang primer forward 22 dan reverse 24 nukleotida, % GC forward 45,5% dan reverse 41,7 % dan temperature melting (Tm) forward 56,3 °C dan reverse 55,1 °C. dengan panjang produk 529 bp. Primer juga diuji dengan mengamplifikasi langsung gen luciferase pada cDNA *Lamprigera* sp. Hasil amplifikasi menunjukkan bahwa primer mampu mengamplifikasi gen luciferase dengan panjang produk lebih dari 500 bp, sehingga dapat disimpulkan bahwa primer yang didapatkan bisa dipakai untuk mengamplifikasi gen luciferase pada cDNA *Lamprigera* sp.

Kata kunci: *Luciferase*, kunang-kunang, *Lamprigera*, Desain Primer, cDNA.

PENDAHULUAN

Lamprigera merupakan sebuah genus yang termasuk ke dalam family *Lampyridae* dengan mencakup 17 spesies yang tersebar di negara-negara Asia, mulai dari daerah Himalaya-Karakoan-Tibet hingga meluas ke Asia Tenggara (Yiu, 2017). *Lamprigera* melakukan aktivitas pada malam hari (*nocturnal*). Baik larva maupun yang dewasa bisa mengeluarkan cahaya. Betina *Lamprigera* sp. tidak mempunyai sayap, sedangkan *Lamprigera* jantan memiliki sayap seperti kunang-kunang lainnya. Larva *Lamprigera* betina dan jantan dapat dibedakan berdasarkan warna kulit dan struktur mata. Larva *Lamprigera*, jantan memiliki kulit tubuh berwarna hitam, dan mata sederhana sedangkan larva *Lamprigera* betina, memiliki kulit berwarna kuning, dan mata kompleks (Somyot dkk, 2000).

Spesies kunang-kunang dari genus *Lamprigera* merupakan salah satu spesies yang mudah didapatkan. Hal ini disebabkan larvanya berukuran besar dan larva betina maupun jantan menghasilkan cahaya yang terang pada malam hari. Cahaya terang ini sering terlihat di tanah atau di daun karena biasanya larva *Lamprigera* sp. merayap pada



tanah yang lembab atau daun. Cahaya ini disebabkan oleh adanya enzim luciferase yang terdapat pada seluruh spesies kunang-kunang.

Pembentukan cahaya kunang-kunang melibatkan zat luciferin dan enzim luciferase yang dihasilkan oleh sel-sel penyusun organ cahaya. Luciferase adalah nama sebuah enzim yang bisa memancarkan cahaya. Enzim luciferase menggunakan luciferin sebagai substrat untuk merangsang pemancaran cahaya pada kunang-kunang.

Enzim luciferase dari kunang-kunang banyak dimanfaatkan dalam teknologi, salah satunya di bidang elektronik seperti: OLED (*Organic Light-Emitting Device*) yang telah didesain dan digunakan untuk meningkatkan kualitas gambar. Aplikasi lain sebagai biosensor seperti memonitor radiasi pada tubuh manusia (Li, 2006). Pada bidang medis, luciferin dan luciferase pada kunang-kunang digunakan untuk membedakan sel yang normal dengan sel yang terkena kanker (Gajendra dkk, 2002).

Salah satu cara untuk mendapatkan gen luciferase pada kunang-kunang yaitu dengan mengisolasi DNA maupun RNA. Setelah diisolasi, selanjutnya DNA maupun RNA diamplifikasi. Pada saat proses amplifikasi diperlukan primer agar bisa mendapatkan gen luciferase pada kunang-kunang.

Primer merupakan salah satu komponen yang berperan penting dalam proses PCR. Primer adalah oligonukleotida yang memiliki peranan penting dalam proses PCR. Primer bisa didapatkan dengan melakukan desain primer menggunakan *software* bioinformatik. *Software* akan secara otomatis menentukan primer yang layak pada suatu sekuens. Namun tidak semua hasil pemilihan primer secara otomatis sesuai dengan harapan, sehingga diperlukan campur tangan secara manual (Judelson, 2011).

Primer yang baik adalah primer yang spesifik. Primer yang tidak spesifik dapat menyebabkan teramplifikasinya daerah lain dalam genom yang tidak dijadikan sasaran atau sebaliknya tidak ada daerah genom yang teramplifikasi. Untuk mendapatkan suatu primer yang memenuhi kriteria primer yang baik untuk amplifikasi dilakukan desain secara *in silico* (Suryadi dkk, 2014). Kespesifikan primer merupakan kunci keberhasilan amplifikasi dengan PCR. Primer spesifik akan menempel pada DNA target untuk selanjutnya diperpanjang menjadi untai DNA baru.

Hal-hal yang harus diperhatikan dalam perancangan primer diantaranya adalah panjang primer, temperature melting (T_m), kandungan GC dan ikatan di ujung 3'. Primer yang baik memiliki panjang antara 18-30 nukleotida. Primer dengan panjang yang kurang dari 18 nukleotida akan membuat penempelan primer menjadi tidak spesifik. Karakteristik kedua yang perlu diperhatikan dalam pemilihan primer adalah T_m . Primer yang baik memiliki selisih T_m sekitar 5°C antara primer forward dan primer reverse. Hal ini dimaksudkan untuk memudahkan penentuan suhu annealing. Persentase kandungan basa G dan C juga perlu diperhatikan karena dapat mempengaruhi T_m primer (Dewi dkk, 2018). Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan sepasang primer yang bisa mengamplifikasi gen luciferase pada *Lamprigera* sp.



METODE PENELITIAN

Desain primer

Desain primer dilakukan menggunakan program *Geneious Prime* dengan mencari daerah yang sama (*conserved*) pada sequens luciferase *Lamprigera yunanna* (MK276878.1), *Photuris pennsylvanica* (U31240.1), *Luciola cruciata* (M26194.1), dan *Lampyrus noctiluca* (AY748894.1). Dari empat sekuens tersebut didapatkan dua buah primer yang kemudian diberi nama Lampyridae- F (LF) 5'-TGT CAA AGT GCG TTG CTT GTA C-3' dan Lampyridae R (LR) 5'-AAA TAG ATT CCA GTT CAG CAG GTG-3' dengan panjang produk 529 bp. Untuk memastikan primer yang didapatkan benar-benar bagus, dilakukan pengecekan (primer-BLAST) ke sekuens pada <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Hasil desain primer selanjutnya dikirim ke PT. Genetika Science Indonesia untuk pemesanan primernya.

Amplifikasi

Amplifikasi dilakukan dalam 25 µl reaksi, yang terdiri dari 12,5 µl Dreamtaq Green PCR Master Mix, 1 µl masing-masing primer LF dan LR, dan 1 µl cDNA templat. Selanjutnya reaksi ditambahkan dengan ddH₂O sebanyak 9,5 µl sampai dengan 25 µl. Siklus PCR yang digunakan adalah sebagai berikut: pre-denaturasi awal pada 98°C selama 30s dan 35 siklus terdiri dari denaturasi 98°C selama 10s, annealing disesuaikan dengan tm primer yang didapatkan selama 10 s dan ekstensi 72 °C selama 1 menit diikuti dengan ekstensi akhir pada 72 °C selama 2 menit.

Elektroforesis

Elektroforesis dilakukan pada gel agarose 1,7 % (0,85 g bubuk agarose dalam 50 ml buffer TAE 1x). 5 µl produk PCR dicampur dengan 1 µl *loading dye* dan 5 µl gel red *dirunning* pada tegangan listrik 100 v selama 45 menit. Sebagai marker digunakan DNA ladder 100 bp. Hasil elektroforesis dilihat di atas UV transiluminator.

Teknik Analisis Data

Data dianalisis secara deskriptif berdasarkan hasil elektroforesis. Data yang diperoleh ditampilkan dalam bentuk dan gambar.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Desain Primer

Primer merupakan salah satu komponen penentu keberhasilan amplifikasi DNA atau cDNA dengan teknik PCR. Primer berfungsi sebagai pembatas fragmen DNA target yang akan diamplifikasi dan sekaligus menyediakan gugus hidroksi (-OH) pada ujung 3' yang diperlukan untuk proses elongasi DNA (Handoyo dan Rudiretna, 2001). Primer yang spesifik didapatkan dari proses desain primer yang tepat (Suparman dkk, 2016). Informasi mengenai sekuens gen luciferase pada *Lamprigera* sangat terbatas, sehingga



primer harus didesain sendiri agar proses amplifikasi DNA dapat dilakukan. Kegiatan desain primer dilakukan dengan cara mencari sekuens yang sama (*conserved*) pada gen luciferase dari beberapa spesies kunang-kunang yang sudah dipublikasi. Peta penempelan primer pada sekuens yang sama dapat dilihat pada Lampiran. Untuk melihat kriteria dan target dari primer, digunakan primer-BLAST di <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Hasil primer BLAST dapat dilihat pada Gambar 1.

Primer pair 1						
	Sequence (5'→3')	Length	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	TGTCAAAGTGGGTTGCTTGATC	22	60.22	45.45	4.00	4.00
Reverse primer	AAATAGATCCAGTTCAGCAGGTG	24	58.05	41.67	5.00	3.00

Products on target templates

>MK278878.1 Lamprigera yunnana luciferase gene, complete cds

product length = 529

Forward primer 1 TGTCAAAGTGGGTTGCTTGATC 22
 Template 939 960

Reverse primer 1 AAATAGATCCAGTTCAGCAGGTG 24
 Template 1467 1444

Gambar 1. Hasil primer BLAST dari Lampyridae F (LF) dan Lampyridae R (LR) pada <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>

Hasil primer blast menunjukkan bahwa primer yang didesain masih bisa menempel pada *Lamprigera yunnana* dengan panjang produk PCR 529 bp. Primer forward (LF) berukuran 22 bp dan primer reverse (LR) berukuran 24 bp. *Melting temperature* (Tm) untuk LF adalah 60,22 °C dan Tm LR adalah 58,05 °C. Persentase basa G dan C pada LF adalah 45,05% dan pada LR adalah 41,57%.

Primer yang baik merupakan primer yang memenuhi kriteria parameter primer. Parameter tersebut yaitu: melting temperature (Tm), persentase jumlah G dan C (%GC), 3'dimer, stabilitas, repeats, dan hairpins. Secara umum, primer memiliki panjang antara 18 sampai 30 oligonukleotida. Panjang ini diharapkan cukup untuk dapat mengikat template pada suhu annealing dan mendapatkan sekuens yang spesifik (Borah, 2011). Jika primer yang didesain terlalu pendek maka dapat menurunkan spesifisitas primer karena primer dapat menempel pada DNA bukan target. Sedangkan jika primer terlalu panjang tidak mempengaruhi spesifisitas secara berarti (Handoyo dan Rudiretna, 2001).

Panjang primer yang diperlukan pada setiap penelitian berbeda-beda, namun



tetap meminimalkan ukuran primer. Kampke dkk (2001) dan Wu dkk (2004) dalam penelitiannya menggunakan primer berukuran 16-28 basa. Sementara dalam teorinya, Burpo (2001) menggunakan batas 18-22 basa. Ada juga beberapa penelitian tidak mempertimbangkan panjang primer sebagai batasan langsung, melainkan menggunakan selisih panjang forward dan reverse primer (Sasmito dkk, 2014).

Melting temperature (T_m) untuk primer forward dan reverse secara umum serupa (dalam rentang 2 sampai 4 °C) dan di atas 60 °C untuk menghasilkan produk PCR yang baik (Sulistyaningsih, 2007). Primer dengan T_m yang terlalu tinggi dapat menghasilkan produk PCR yang rendah. Sedangkan T_m yang terlalu rendah memiliki kecenderungan menempel ditempat lain dan menghasilkan produk yang tidak spesifik. T_m pada primer yang didesain telah memenuhi kriteria yaitu 67 °C. T_m dapat dihitung secara manual dengan rumus $T_m = 2(A+T) + 4(G+C)$. T_m dari primer tersebut dapat digunakan untuk menetapkan suhu annealing dalam PCR (Borah, 2011; Handoyo dan Rudiretna, 2001).

Persentase GC merupakan persentase banyaknya guanin dan sitosin dalam suatu primer, Sebaiknya % GC berada pada rentang 40-60 % (Borah, 2011). Primer yang didesain memiliki % GC sebesar 59% yang masih berada pada rentang kriteria % GC. Primer dengan % GC yang rendah dapat menurunkan efisiensi proses PCR yang disebabkan primer tidak mampu berkompetisi untuk menempel secara efektif pada template (Handoyo dan Rudiretna, 2001). Dimer pada ujung 3' primer sebaiknya tidak lebih dari 3 basa karena dapat menurunkan spesifisitas primer (Handoyo dan Rudiretna, 2001). Primer sebaiknya tidak mempunyai 3 atau lebih basa G atau C pada 3'dimer, karena dapat menstabilkan annealing primer non spesifik (Sulistyaningsih, 2007)

Setelah primer dibuat oleh perusahaan komersial, terjadi perubahan kriteria primer ketika dibandingkan dengan hasil desain awal. Perubahan tersebut ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Perubahan kriteria primer Lampyridae F (LF) dan Lampyridae R (LR)

<i>Sequence Name</i>	<i>Sequence (with extension)</i>	<i>Length</i>	<i>%GC</i>	<i>Tm</i>
LF	TGTCAAAGTGCGTTGCTTGAC	22	45,5	56,3
LR	AAATAGATTCCAGTTCAGCAGGTG	24	41,7	55,1

Pada Tabel 1 terlihat adanya perubahan temperatur melting (T_m) pada LF menjadi 56,3 °C (awalnya 60,22°C pada Gambar1) dan pada LR 55,1°C (awalnya 59,05°C). Perubahan tersebut bisa ditolerir karena rentang T_m yang didapatkan masih dalam rentang T_m primer yang baik. Untuk mengetahui efektivitas primer, selanjutnya dilakukan amplifikasi cDNA luciferase *Lamprigera* sp dengan teknik PCR.

Amplifikasi dengan teknik PCR

Sekuen cDNA gen luciferase selanjutnya diamplifikasi dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). PCR merupakan suatu proses sintesis enzimatik

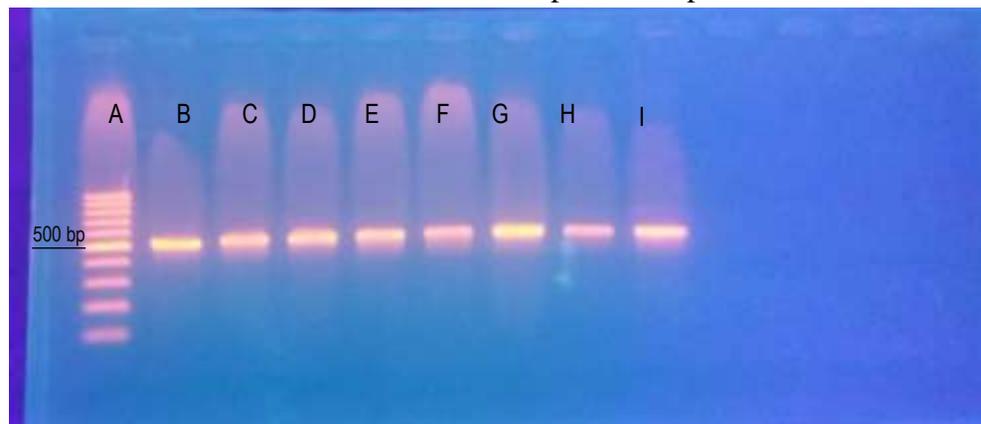


untuk mengamplifikasi nukleotida secara *in vitro*, PCR dapat mengamplifikasi sekuen DNA spesifik menjadi ribuan sampai jutaan kopi sekuen DNA. (Hewajuli dan Dharmayanti, 2014). Proses PCR terdiri dari tiga tahap yaitu: (1) denaturasi; (2) Annealing; (3) elongasi.

Annealing merupakan tahap penempelan primer. Primer akan menempel pada daerah spesifik sesuai dengan target yang diinginkan. Pada tahap ini studi awal bioinformatik sangat penting dilakukan guna mengetahui daerah gen target yang akan diamplifikasi dengan benar. Suhu yang dipakai pada tahap annealing sangat bervariasi, tergantung dari temperature melting pada primer. *Melting temperatur* (T_m) adalah temperatur di mana 50 % untai ganda DNA terpisah. Pemilihan T_m suatu primer sangat penting karena T_m primer berpengaruh sekali terhadap penetapan suhu annealing PCR (Handoyo dan Rudiretna, 2001). Untuk mengoptimalkan suhu annealing, dalam penelitian ini dilakukan PCR gradian. Ada delapan suhu annealing yang dicobakan yaitu 54,2°C, 54,7°C, 55,3°C, 55,8°C, 56,3°C, 56,8°C, 57,1°C, dan 57,4°C.

Elektroforesis

Untuk mengetahui keberhasilan reaksi PCR pada delapan suhu annealing, dilakukan elektroforesis. Hasil elektroforesis dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. (a) ladder 100 bp, suhu anelling (b) 54,2 °C, (c) 54,7°C (d) 55,3 °C, (e) 55,8 °C, (f) 56,3 °C, (g) 56,8 °C, (h) 57,1°C, (i) 57.4 °C

Pada Gambar 2 terlihat adanya pita DNA pada semua sumur dengan ukuran sekitar 500 bp, namun dengan ketebalan yang berbeda. Kondisi ini dapat disebabkan oleh dua faktor yaitu suhu dan konsentrasi DNA cetakan. Suhu merupakan faktor yang sangat penting dalam menentukan keberhasilan annealing (penempelan) primer ke DNA cetakan (*template*). Suhu yang terlalu rendah akan menyebabkan terjadinya penempelan primer pada DNA di luar gen target, sedangkan suhu yang terlalu tinggi menyebabkan sulitnya terbentuk ikatan hidrogen antara primer dengan DNA cetakan, sehingga tidak terjadi amplifikasi daerah target. Selain suhu, konsentrasi DNA cetakan juga mempengaruhi proses penempelan primer (Joko dkk., 2011). Ketebalan pita DNA pada ampikon berkorelasi positif dengan jumlah primer yang berhasil menempel pada DNA



cetakan (Joko dkk., 2012).

Hasil amplifikasi juga memperlihatkan tidak terjadinya primer dimer. Hal ini dibuktikan dengan tidak adanya pita DNA berukuran kecil yang biasanya terlihat secara samar-samar pada gel agarose dekat kutub positif. Dimer adalah struktur yang terbentuk diantara pasangan primer, dimana mereka bersatu karena memiliki basa nukleotida yang berkomplemen satu sama lain. Proses ini biasanya terjadi pada suhu rendah (Saraswati dkk, 2019).

Berdasarkan Gambar 2 dapat disimpulkan bahwa primer yang didesain menggunakan program *Geneious Prime* telah berfungsi dengan benar dengan rentangan suhu annealing 54,2°C – 57,4°C. Primer dipercaya telah mengamplifikasi cDNA target yaitu gen luciferase *Lamprigera sp* karena menghasilkan produk PCR dengan panjang sekitar 500 bp. Hal tersebut sesuai dengan panjang nukleotida yang bisa dibaca oleh primer yaitu 529 bp. Kualitas produk PCR yang terbentuk juga bagus berupa pita tunggal dan tebal, Oleh karena itu, primer dapat digunakan untuk penelitian lebih lanjut.

PENUTUP

Hasil dari penelitian ini berupa sepasang primer dengan kode Lampyridae F dan Lampyridae R yang memenuhi kriteria primer yang baik yaitu panjang primer forward 22 dan reverse 24 nukleotida, % GC forward 45,5% dan reverse 41,7 % dan temperature melting (Tm) forward 56,3 °C dan reverse 55,1 °C. dengan panjang produk 529 bp. Primer juga diuji dengan mengamplifikasi langsung gen luciferase pada cDNA *Lamprigera sp*. Hasil amplifikasi menunjukkan bahwa primer mampu mengamplifikasi gen luciferase dengan panjang produk lebih dari 500 bp, sehingga dapat disimpulkan bahwa primer yang didapatkan bisa dipakai untuk mengamplifikasi gen luciferase pada cDNA *Lamprigera sp*.

REFERENSI

- Borah P. 2011. Primer Designing for PCR. *Science Vision* 11(3): P. 134 -136.
- Burpo FJ. (2001). A critical review of PCR primer design algorithms and crosshybridization case study. *Biochemistry*, 218(1), 1-11.
- Dewi RW, Dewi VR, Yowani SC, Yustiantara PS. 2018 Desain Primer untuk Amplifikasi Regio Promoter Gen inh A Isolat P016 Multidrug Resistance Mycobacterium tuberculosis dengan Metode Polymerase Chain Reaction. *J Farm Udayana*.7(1):34-39.
- Gajendra, Babu, Kannan M. 2002. *Lightning Bugs*. India: Tamil Nadu Agricultural University Coimbatore.
- Handoyo D, dan Rudiretna A. 2000. Prinsip Umum dan Pelaksanaan Polimerase Chain Reaction (PCR). *Unitas*. *Unitas*, 9(1), 17-29.



- Hewajuli DA, dan Dharmayanti NLPI. 2014. Perkembangan Teknologi Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction dalam Mengidentifikasi Genom Avian Influenza dan Newcastle Diseases. *JITV*, 19(1).
- Joko T, Hirata H, Tsuyumu S. 2007. A Sugar Transporter (MfsX) is Also Required by *Dickeya dadantii* 3937 for in Planta Fitness. *Journal of General Plant Pathology* 73: 274–280.
- Joko T, Koentjoro MP, Somowiyarjo S, M, Rohman MS, Liana A, Ogawa N. 2012. Response of Rhizobacterial Communities in Watermelon to Infection with Cucumber Green Mottle Mosaic Virus as Revealed by Cultivation-Dependent RISA. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 45: 1810–1818.
- Judelson, H.2011. Guidelines for Designing Primers. <http://oomyceteworld.net/protocols/primer%20designing2.pdf>.
- Kampke T, Kieninger M, Mecklenburg M. (2001). Efficient primer design algorithms. *Bioinformatics*, 17(3), 214-225.
- Li X, Yang S, Liang X. 2006. Phylogenetic Relationship of The Firefly, *Diaphanes pectinealis* (Insecta, Coleoptera, Lampyridae) Based on DNA Sequence and Structure of Luciferase. *Zoological Research*. 27(4): 367-374.
- Saraswati H, Seprianto S, Wahyuni F D. 2019. Desain Primer Secara In Silico untuk Amplifikasi Gen cryIII dari *Bacillus thuringiensis* Isolat Lokal. *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 3(1), 33-38.
- Sasmito DEK, Kurniawan R, Muhimmah I. 2014. Karakteristik primer pada Polymerase Chain Reaction (PCR) untuk sekuensing DNA: mini review. In *Seminar Nasional Informatika Medis (SNIMed)* (No. 5, pp. 93-102).
- Somyot S, Suyanee W, Anchana T. 2000. *Biology of Giant firefly (Lampyridae sp.)*. Marim: Chiang Mai.
- Sulistyaningsih, E. 2007. Polymerase Chain Reaction (PCR): Era Baru Diagnosis dan Manajemen Penyakit Infeksi. *Biomedis*. 1(1): P. 17-25.
- Suparman, Ahmad H, Ahmad Z. 2016. Desain Primer PCR Secara in silico untuk Amplifikasi Gen COI pada Kupu-kupu *Papilio ulysses* Linnaeus dari Pulau Bacan. *J Pendidik Mat dan IPA*. 7(1):14-25.
- Suryadi PT, Ratnayani K, Yowani SC. 2014. Desain Primer untuk Amplifikasi Gen katG Multidrug Resistance Tuberculosis (MDR-TB) dengan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR). *J Kim*. 8(1):77-82.
- Wu JS, Lee C, Wu CC, Shiue Y L. 2004. Primer design using genetic algorithm. *Bioinformatics*, 20(11), 1710-1717.
- Yiu V. 2017. A study of *Rhagophthalmidae* and *Lampyridae* in Hong Kong with descriptions of new species (Coleoptera) part 2: *Lampyrid journal* 4:67-119.
- Lampiran: Peta penempelan primer Lampyridae F dan Lampyridae R pada daerah homologi sekuen *Lampyridae* *yunanna* (MK276878.1), [Photuris pennsylvanica](#) (U31240.1), [Luciola cruciata](#) (M26194.1), [Lampyris noctiluca](#) (AY748894.1) menggunakan aplikasi Geneious Prime 5.6.7

