

Genetics Profile Analysis of Endophytic Bacteria of Andalas (*Morus macroura* Miq.) Producing Antimicrobial Activities Using Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) Methods

Liza Febrianti¹, Fadila Sirwati¹, Dwi Hilda Putri^{1*}, Afifatul Achyar¹, Yuni Ahda¹

¹Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang, Kota Padang, Indonesia.

*Corresponding author: dwiildaputri.08@gmail.com

ABSTRACT. *The potential of Andalas endophytic bacteria isolated from Morus macroura Miq. in producing antimicrobial compounds has been explored. Bacteria are stored in the form of stock cultures. Rejuvenation of stock cultures needs to be done through the subculture process. Stock culture authentication is one way to overcome isolate errors. The purpose of this study was to analyze the genetic profile of bacterial stock cultures producing antimicrobial compounds by ISSR method. This study used six isolates of Andalas endophytic bacteria from root, stem, and leaf tissues. The bacterial genome was isolated using QIAamp DNA Mini Kit. Genetic profiles were made by ISSR method using six primers. PCR results were electrophoresed and analyzed through PAST 4.17 software to produce a similarity level dendrogram and similarity distance matrix from the stock culture of the test isolates. The ISSR method was able to group six isolates that divided the isolates into two main clades based on plant tissue origin with the closest genetic distance in isolates DT 10-6.1 and DT 10-6 (Jaccard's Similarity 0.3111), and the farthest genetic distance in isolates DT 10-6 and A1 2.2 (Jaccard's Similarity 0.0233).*

Keywords: Endophytic Bacteria, Polymorphism, Primer

ABSTRAK. Potensi bakteri endofit Andalas yang diisolasi dari *Morus macroura* Miq. dalam menghasilkan senyawa antimikroba sudah dieksplorasi. Bakteri tersimpan dalam bentuk kultur stok. Peremajaan kultur stok perlu dilakukan melalui proses subkultur. Autentikasi kultur stok merupakan salah satu cara untuk mengatasi kesalahan isolat. Tujuan penelitian ini adalah menganalisis profil genetik kultur stok bakteri penghasil senyawa antimikroba dengan metode ISSR. Penelitian ini menggunakan enam isolat bakteri endofit Andalas dari jaringan akar, batang, dan daun. Genom bakteri diisolasi menggunakan QIAamp DNA Mini Kit. Profil genetik dibuat dengan metode ISSR menggunakan enam primer. Hasil PCR dielektroforesis dan dianalisis melalui software PAST 4.17 untuk menghasilkan dendrogram tingkat similaritas dan matriks jarak kesamaan dari kultur stok isolat uji. Metode ISSR mampu mengelompokkan enam isolat yang membagi isolat ke dalam dua clade utama berdasarkan asal jaringan tanaman dengan jarak genetik terdekat pada isolat DT 10-6.1 dan DT 10-6 (Jaccard's Similarity 0,3111), serta jarak genetik terjauh pada isolat DT 10-6 dan A1 2.2 (Jaccard's Similarity 0,0233).

Kata Kunci: Bakteri Endofit, Polimorfisme, Primer



This is an open access article distributed under the Creative Commons 4.0 Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. ©2025 by author.

1. PENDAHULUAN

Resistensi antimikroba menjadi ancaman serius bagi kesehatan global. Tingginya tingkat resistensi bakteri patogen, seperti *Escherichia coli* yang 42% resisten terhadap sefalosporin dan *Staphylococcus aureus* yang 35% resisten terhadap metisilin (Ajulo & Awosile, 2024). Antimikroba alami, khususnya yang berasal dari mikroba endofit pada tumbuhan, memiliki potensi besar sebagai sumber struktur antibiotik baru. Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup di dalam jaringan tanaman tanpa menyebabkan dampak buruk pada inangnya. Interaksi antara tanaman dan bakteri endofit dikendalikan oleh sinyal kimia yang kompleks, dengan eksudat akar berperan sebagai mediator utama dalam menarik komunitas mikroba dari rizosfer (Compant *et al.*, 2019). Mikroba endofit memproduksi metabolit sekunder, seperti terpenoid, alkaloid, flavonoid, steroid, dan saponin, yang memiliki bioaktivitas termasuk sifat antibakteri (Vernando *et al.*, 2023). Salah satu tanaman yang menjadi inang bagi bakteri endofit adalah tanaman Andalas (*Morus macroura* Miq.).

Penelitian yang dilakukan oleh Afifah *et al.* (2018) berhasil mengisolasi 11 isolat bakteri endofit dari batang tanaman Andalas (*M. macroura* Miq.). Sebanyak 10 isolat di antaranya memiliki kemampuan menghasilkan senyawa antimikroba. Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Putri *et al.* (2018) juga berhasil mengisolasi bakteri endofit dari daun tanaman Andalas. Sebanyak 4 isolat bakteri endofit dari daun Andalas tersebut berpotensi menghasilkan senyawa antimikroba yang efektif terhadap bakteri Gram positif (*S. aureus*) dan jamur (*C. albicans*).

Proses pengembangan senyawa antibiotik aktif dari bakteri memerlukan optimasi produksi yang panjang untuk mencapai skala industri, termasuk menjaga viabilitas bakteri melalui subkultur, yaitu pemindahan mikroba ke media baru agar tetap tumbuh optimal. Frekuensi subkultur atau *serial passage* dapat memengaruhi kemampuan bakteri menghasilkan senyawa antibiotik karena akumulasi mutasi yang mengubah karakteristik genetik dan virulensi (Rugbjerg & Olsson, 2020), seperti pada *Clostridium* yang kemampuannya cenderung menurun ketika disubkultur berulang kali atau ketika tumbuh terus-menerus (Humphreys *et al.*, 2023). Selain itu, studi pada *Cordyceps militaris* menunjukkan bahwa subkultur dapat menurunkan ekspresi gen, mengubah produksi metabolit, dan mengurangi respons patogenik (Wellham *et al.*, 2021). Selain itu, kesalahan manusia dalam subkultur, seperti kontaminasi atau pelabelan yang salah, dapat menyebabkan kesalahan identifikasi isolat (Weiskirchen *et al.*, 2023).

Kemajuan biologi molekuler telah menghasilkan berbagai penanda molekuler yang andal, efektif dalam menganalisis profil genetik, serta mampu menghasilkan pita polimorfik secara cepat, sederhana, dan hemat biaya (Adhikari *et al.*, 2017). *Inter-Simple Sequence Repeat* (ISSR) adalah metode yang melibatkan amplifikasi dua wilayah *Simple Sequence*

Repeat (SSR) yang identik dan menghasilkan polimorfisme melalui PCR (Guler & Imamoglu, 2023). ISSR berperan penting dalam autentikasi, membantu mengurangi risiko kesalahan isolasi dan meningkatkan akurasi serta kualitas kultur stok (Nadeem *et al.*, 2024). ISSR sering digunakan untuk mengidentifikasi variasi genetik bakteri, seperti pada *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis* dan *Xanthomonas citri* pv. *Malvacearum* (Baysal *et al.*, 2011; Kumar *et al.*, 2018).

Memastikan konsistensi aktivitas senyawa antibiotik dan stabilitas genetik bakteri endofit Andalas selama subkultur berulang merupakan aspek penting dalam penelitian ini, sehingga autentikasi kultur stok diperlukan untuk menjaga kemurnian isolat dan mencegah kontaminasi. Penelitian ini bertujuan menganalisis spesifitas metode ISSR dalam menghasilkan profil genetik antar dan inter spesies bakteri, sebagai dasar pengembangan kit autentifikasi stok kultur bakteri.

2. METODE

2.1 Bahan Penelitian

Sebanyak enam isolat bakteri endofit koleksi Laboratorium Penelitian Biologi Universitas Negeri Padang digunakan dalam penelitian ini. Isolat tersebut berasal jaringan akar (isolat A1 2.2), batang (isolat B1 10-4 dan B2 10-4), daun (isolat DT 10-4, DT 10-6, dan DT 10-6.1) pohon Andalas (*Morus Macroura* Miq.) yang tumbuh di Desa Andaleh, Kabupaten Tanah Datar, Sumatera Barat. Primer untuk analisis profil genetik digunakan sebanyak 6 primer ISSR dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Primer ISSR yang digunakan untuk amplifikasi PCR (Chombe & Bekele, 2018; Duta-Cornescu *et al.*, 2017; Singh *et al.*, 2007).

Primer ISSR	Sequence (5'-3')
UBC 840	GAGAGAGAGAGAGAGACTT
UBC 840A	GAGAGAGAGAGAGAGATC
UBC 841	GAGAGAGAGAGAGAGACTC
UBC 846	CACACACACACACART
UBC 888	CGTAGTCGTACACACACACACA
UBC 890	ACGACTACGGTGTGTGTTTGTGT

2.2 Ekstraksi dan Amplifikasi DNA Bakteri

DNA diekstraksi menggunakan *QIAamp DNA Mini Kit* (Fitriyani *et al.*, 2022). Kultur murni dari masing-masing isolat bakteri endofit dibiakkan dalam media *Nutrient Broth* selama 24 jam pada suhu ruang. Selanjutnya ekstraksi dilakukan sesuai petunjuk yang tertera pada kit. Konsentrasi dan kemurnian DNA diukur menggunakan *Nanophotometer* diukur pada panjang gelombang (λ) 260 nm dan 280 nm.

Amplifikasi DNA bakteri dengan primer ISSR dilakukan melalui reaksi 10 μ L per sampel yang terdiri dari 1 μ L DNA *template* (15 ng/ μ L), 5 μ L 2x GoTaq PCR mastermix, 1 μ L 10 μ M primer ISSR, 3 μ L *nuclease-free water*. PCR dilakukan menggunakan *thermal*

cycler (Labcycle SensoQuest) dengan program *touchdown* (Td-PCR) untuk meningkatkan spesifisitas primer. Reaksi TdPCR terdiri dari pre-denaturasi 94°C selama 3 menit, denaturasi 94°C selama 1 menit, *annealing* 42 °C selama 45 detik, elongasi 72°C 1 menit. Pada siklus berikutnya, suhu *annealing* diturunkan sebesar 0,5°C per siklus hingga mencapai suhu *annealing* 36°C. Amplifikasi DNA *template* yang ditargetkan dilanjutkan selama 30 siklus berikutnya pada suhu *annealing* 36°C. Reaksi Td-RAPD PCR diakhiri dengan elongasi akhir pada suhu 72°C selama 10 menit.

2.3 Visualisasi dengan Gel Elektroforesis

Produk PCR divisualisasikan dengan elektroforesis gel agarose 1% dan menggunakan marker ukuran DNA Ladder 1 kb. Elektroforesis dilakukan dengan tegangan 50 V selama 35 menit dalam 1X buffer TAE. Hasil elektroforesis kemudian diamati menggunakan Gel Documentation (UVITEC Cambridge FireReader) untuk melihat pita DNA hasil amplifikasi yang dapat terukur.

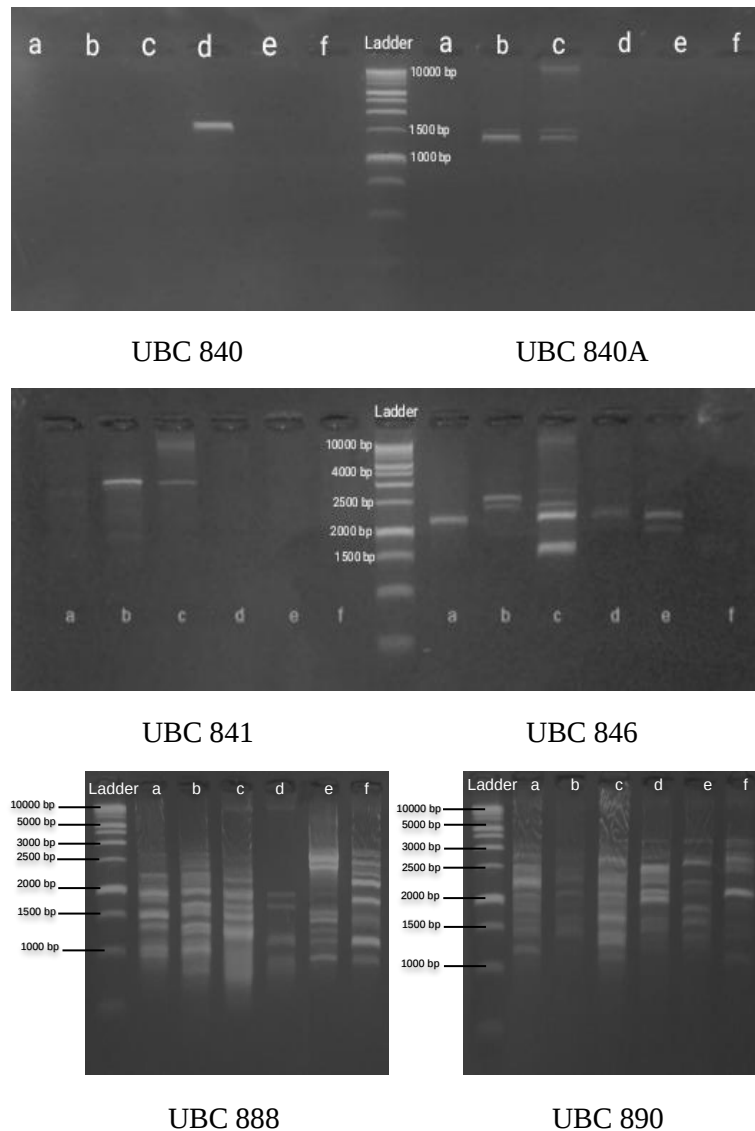
2.4 Analisis ISSR

Analisis ISSR dilakukan dengan cara skoring pada pita hasil amplifikasi sampel DNA yang sudah dielektroforesis. Penghitungan panjang pita DNA dilakukan dengan membandingkan pita DNA sampel dengan DNA ladder 1 kb. Data pita kemudian dibedakan berdasarkan ukurannya dengan *software* UVITEC dan aplikasi *Gel Analyzer*. Skor 1 diberikan untuk pita DNA yang muncul dan skor 0 untuk pita DNA yang tidak muncul. Tingkat variasi genetik bakteri endofit andalas menggunakan analisis similaritas berbasis UPGMA dengan menggunakan *software* PAST 4.17 untuk menghasilkan dendrogram.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Profil Genetik ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeat*)

Data dianalisis berdasarkan kemampuan reproduksibilitas setiap ampikon sesuai dengan metode yang dijelaskan oleh Venkatesan *et al.* (2021). Primer ISSR menghasilkan jumlah fragmen DNA yang berbeda, tergantung pada motif pengulangan sekuen sederhana. Pita ISSR diberi skor untuk keberadaan (1) atau ketiadaan (0) di antara genotipe dan digunakan untuk analisis UPGMA (Jaipreet *et al.*, 2015). Dari enam primer ISSR, keseluruhan menunjukkan adanya polimorfisme (Gambar 1). Dari enam primer tersebut menghasilkan produk PCR yang dapat dinilai ukuran pita DNA-nya mulai dari 800 bp hingga 11.000 bp.



Gambar 1. Hasil Elektroforesis Primer ISSR, Agarose 1%, Voltase 50 volt, Waktu 35 Menit, Ladder 1kb. Keterangan: a: DT 10-4, b: DT 10-6, c: DT 10-6.1, d: A1 2.2, e: B2 10-4, f: B1 10-4

Berdasarkan Gambar 1. dapat dilihat adanya polimorfisme pita DNA pada primer yang digunakan. Dari enam primer yang digunakan terdapat hanya dua primer yang mampu mengamplifikasikan semua isolat yaitu primer UBC 888 dan UBC 890. Namun, empat primer lainnya hanya dapat mengamplifikasi beberapa isolat tertentu. Hal tersebut kemungkinan disebabkan oleh tidak adanya sekuen pada DNA *template* yang komplemen dengan primer UBC 840, UBC 840A, UBC 841 dan UBC 846. Selain itu, hal ini bisa juga disebabkan oleh posisi penempelan primer yang terlalu jauh dan durasi elongasi yang terbatas sehingga tidak diperoleh amplikon pada primer tersebut. Hasil visualisasi elektroforesis amplikon PCR menunjukkan sebanyak 135 pita DNA diperoleh dari total enam primer dan enam sampel yang digunakan. Jumlah total pita per primer bervariasi, dengan jumlah tertinggi sebanyak 55 pita yang dihasilkan oleh primer UBC-888 dan UBC-

890, sedangkan jumlah terendahnya hanya satu pita yang dihasilkan oleh primer UBC-840. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa primer-primer tersebut berhasil mengamplifikasi sampel-sampel lain seperti sampel tanaman *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. (Araújo et al., 2016) dan tanaman *Musa balbisiana* Colla (Munir et al., 2012), serta isolat *Corynespora cassicola* (Poerba & Ahmad, 2013).

Pita dengan ukuran terbesar yaitu 11.000 bp dihasilkan oleh primer UBC 840A, sedangkan pita dengan ukuran terkecil yaitu 800 bp dihasilkan oleh primer UBC 888. Pemilihan primer pada analisis keragaman genetik berpengaruh terhadap polimorfisme pita yang dihasilkan, karena setiap primer memiliki situs penempelan tersendiri. Akibatnya pita DNA polimorfik yang dihasilkan setiap primer menjadi berbeda, baik dalam ukuran ampikon yang diperoleh maupun jumlah pita DNA (Poerba & Ahmad, 2013).

3.2 Analisis Profil Genetik ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeat*)

Polimorfisme pita DNA yang dihasilkan yaitu sebanyak 81 pita polimorfik, serta tidak ditemukan adanya pita monomorfik dengan rincian banyak pita terdapat pada Tabel 2. Pita polimorfik terbanyak yang dihasilkan oleh primer UBC 890 adalah 32 pita. Persentase polimorfisme yang dihasilkan adalah 100%, yang menunjukkan tingkat keragaman genetik yang tinggi diantara isolat-isolat bakteri endofit andalas yang diuji. Jarak genetik juga menunjukkan kedekatan antar sampel yang sedang diuji. Nilai *Jaccard's Similarity* dan *Distance indeces* antar sampel dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Polimorfisme pita DNA hasil amplifikasi

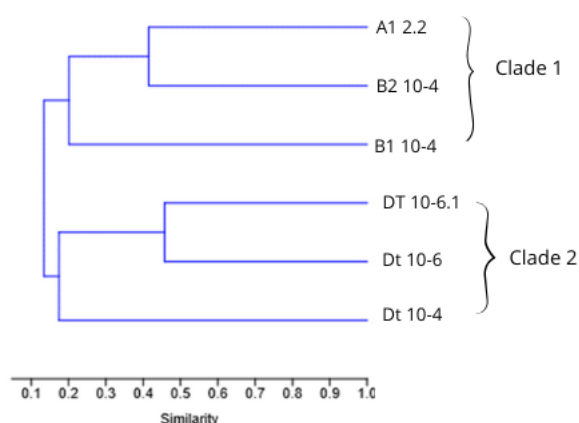
No.	Primer	Pita		Total	Persentase Polimorfisme	Kisaran Ukuran Pita DNA (bp)
		Monomorfik	Polimorfik			
1	UBC-840	0	1	1	100%	1.500
2	UBC-840A	0	4	4	100%	1.300-10.000
3	UBC-841	0	5	5	100%	800-11.000
4	UBC-846	0	8	8	100%	1.600-11.000
5	UBC-888	0	31	31	100%	800-2.700
6	UBC-890	0	32	32	100%	1.000-3.600
Total		0	81	81	100%	800-11.000

Berdasarkan Tabel 2, matriks kemiripan (koefisien kemiripan Jaccard) menunjukkan bahwa masing-masing sampel memiliki kemiripan yang jauh dengan nilai similarity mendekati 1. Kemiripan tertinggi dimiliki oleh sampel DT 10-6.1 dan DT 10-6 dengan nilai *Jaccard's Similarity* 0,3181 dan kemiripan terjauh dimiliki oleh sampel DT 10-6 dan A1 2.2 dengan nilai *Jaccard's Similarity* 0,0232 (Tabel 3).

Tabel 3. Nilai *Jaccard's Similarity* dan *Distance indices* Primer ISSR Bakteri Endofit Andalas.

	DT 10-4	DT 10-6	DT 10-6.1	A1 2.2	B2 10-4	B110-4
DT 10-4	1,0000					
DT 10-6	0,0870	1,0000				
DT 10-6.1	0,0613	0,3181	1,0000			
A1 2.2	0,1515	0,0232	0,0454	1,0000		
B2 10-4	0,1112	0,0454	0,0667	0,2143	1,0000	
B1 10-4	0,1351	0,0667	0,0870	0,1613	0,2667	1,0000

Dendogram berdasarkan matriks kemiripan dengan metode *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean* (UPGMA) secara jelas dapat membedakan genotip dari sampel bakteri yang digunakan. Analisis *clade* dilakukan dengan menggunakan koefisien kemiripan Jaccard untuk mempelajari hubungan genetik diantara genotipe-genotipe bakteri tersebut (Ahmed *et al.*, 2019). Dendogram yang dihasilkan membagi isolat bakteri tersebut ke dalam dua kelompok *clade* utama (Gambar 2).



Gambar 2. Dendogram sampel bakteri endofit Andalas hasil amplifikasi enam primer ISSR.

Hubungan kekerabatan terdekat dimiliki oleh sampel DT 10-6 1 dan DT 10-6 pada *clade* 2 serta B2 10-4 dan B1 10-4 pada *clade* 1. Primer ISSR efektif mengelompokkan isolat bakteri endofit andalas yang diambil berdasarkan asal bagian tanaman, yaitu dari bagian batang dan akar pada *clade* 1 dan isolat dari bagian daun dalam *clade* 2. Berdasarkan hal tersebut, analisis DNA menggunakan ISSR-PCR ini terbukti menjadi penanda yang sangat baik dalam menyediakan data molekuler untuk mengevaluasi variasi genetik bakteri endofit andalas penghasil senyawa antimikroba dan telah berhasil digunakan untuk menentukan hubungan genetik antara sesama isolat.

4. KESIMPULAN

Profil genetik bakteri endofit andalas (*Morus macroura* Miq.) penghasil senyawa antimikroba menggunakan enam primer ISSR menghasilkan total 81 pita DNA polimorfik, yang seluruhnya menunjukkan sifat 100% polimorfik. Analisis kemiripan genetik menunjukkan bahwa isolat DT 10-6.1 dan DT 10-6 memiliki nilai *Jaccard's Similarity* tertinggi sebesar 0,3111, menandakan hubungan kekerabatan yang paling dekat di antara semua isolat. Sebaliknya, tingkat kemiripan terendah ditemukan antara isolat DT 10-6 dan A1 2.2 dengan nilai *Jaccard's Similarity* sebesar 0,0233, menunjukkan jarak genetik yang paling jauh.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada PLP Laboratorium Biologi UNP, Kurnia Sari, A.Md. AK., atas bantuan dan dukungannya selama proses penelitian ini.

REFERENSI

- Adhikari, S., Saha, S., Biswas, A., Rana, T. S., Bandyopadhyay, T. K., & Ghosh, P. (2017). Application of molecular markers in plant genome analysis: a review. In *Nucleus (India)*. <https://doi.org/10.1007/s13237-017-0214-7>
- Afifah, N., Putri, D. H., & Irdawati, I. (2018). Isolation and Identification of Endophytic Bacteria from the Andalus Plant Stem (*Morus macroura* Miq.). *Bioscience*, 2(1), 72. <https://doi.org/10.24036/02018219952-0-00>
- Ahmed, M. Z. S., Masoud, I. M., & Zedan, S. Z. A. (2019). Molecular Characterization and Genetic Relationships of Cultivated Flax (*Linum usitatissimum* L.) Genotypes Using ISSR Markers. *Middle East Journal of Agriculture Research*, 8(3), 898–908.
- Ajulo, S., & Awosile, B. (2024). Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS 2022): Investigating the relationship between antimicrobial resistance and antimicrobial consumption data across the participating countries. *PLoS ONE*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0297921>
- Araújo, F. dos S., Pacheco, M. V., Vieira, F. de A., Ferrari, C. dos S., Félix, F. C., & Chagas, K. P. T. das. (2016). ISSR molecular markers for the study of the genetic diversity of *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. *Idesia (Arica)*, 34(3), 47–52. <https://doi.org/10.4067/s0718-34292016000300007>
- Baysal, Ö., Mercati, F., Ikten, H., Yildiz, R. Ç., Carimi, F., Aysan, Y., & Teixeira da Silva, J. A. (2011). *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*: Tracking strains using their genetic differentiations by ISSR markers in Southern Turkey. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2010.10.002>

- Chombe, D., & Bekele, E. (2018). Genetic diversity analysis of cultivated Korarima [*Aframomum corrorima* (Braun) P.C.M. Jansen] populations from southwestern Ethiopia using inter simple sequence repeats (ISSR) marker. *Military Medical Research*, 5(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s40709-017-0073-z>
- Compant, S., Samad, A., Faist, H., & Sessitsch, A. (2019). A review on the plant microbiome: Ecology, functions, and emerging trends in microbial application. In *Journal of Advanced Research*. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2019.03.004>
- Duta-Cornescu, G., Pavlusenco, C.-E., Pojoga, D. M., Negulici, M. E., Constantin, N., & Simon-Gruita, A. (2017). Genetic Analysis of Some Roses Cultivars Appropriate for S-E Romania Climate Using Pcr - Issr Technology. *Agrolife Scientific Journal*, 6(1), 69–74.
- Fitriyani, R., Achyar, A., & Robiansyah, I. (2022). Optimization of DNA Isolation Dried Leaf Samples of Endangered Plants *Dipterocarpus cinereus*. *Tropical Genetics*, 2(1), 17–21.
- Guler, B. A., & Imamoglu, E. (2023). Molecular marker technologies in food plant genetic diversity studies: an overview. *Foods and Raw Materials*. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-2-575>
- Humphreys, J. R., Debebe, B. J., Diggle, S. P., & Winzer, K. (2023). *Clostridium beijerinckii* strain degeneration is driven by the loss of Spo0A activity. *Frontiers in Microbiology*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1075609>
- Jaipreet, K. R., Mohammad, A., & Uma, S. S. (2015). Relative efficiency of RAPD and ISSR markers in assessment of DNA polymorphism and genetic diversity among *Pseudomonas* strains. *African Journal of Biotechnology*, 14(13), 1097–1106. <https://doi.org/10.5897/ajb10.1951>
- Kumar, A. S., Aiyathan, K. E. A., Nakkeeran, S., & Manickam, S. (2018). Documentation of virulence and races of *Xanthomonas citri* pv. *malvacearum* in India and its correlation with genetic diversity revealed by repetitive elements (REP, ERIC, and BOX) and ISSR markers. *3 Biotech*. <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1503-9>
- Munir, M., Suryaningtyas, H., & Kuswanhadi, K. (2012). Analisis Keragaman Genetik Isolat *Corynespora Cassicola* (Berk & Curt) Wei. Di Indonesia Menggunakan Marker Issr (Inter Simple Sequence Repeat). *Jurnal Penelitian Karet*, 30(2), 86–99. <https://doi.org/10.22302/ppk.jpk.v30i2.125>
- Nadeem, Z., Mustafa, G., Abbas, M., & Shehzadi, N. (2024). A Comprehensive Analysis of Molecular Markers in Molecular. *Trends in Biotechnology and Plant Sciences*, 93–101.
- Poerba, yuyu suryasari, & Ahmad, fajarudin. (2013). Genetic variation analyses of *Musa*

- balbisiana Colla based on RAPD and ISSR markers. *Berita Biologi*, 12(2), 259–267. <https://media.neliti.com/media/publications/66344-ID-none.pdf>
- Putri, D., Fifendy, M., & Putri, M. (2018). Diversity of Bacterial Endophytes in in Young and Old Leaves of Andaleh Plant (*Morus Macrourea* MIQ.). *EKSAKTA: Berkala Ilmiah Bidang MIPA*, 19, 125–130. <https://doi.org/10.24036/eksakta/vol19-iss1/122>
- Rugbjerg, P., & Olsson, L. (2020). The future of self-selecting and stable fermentations. In *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. <https://doi.org/10.1007/s10295-020-02325-0>
- Singh, A. K., Behera, T. K., Chandel, D., Sharma, P., & Singh, N. K. (2007). Assessing genetic relationships among bitter gourd (*Momordica charantia* L.) accessions using inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 82(2), 217–222. <https://doi.org/10.1080/14620316.2007.11512222>
- Venkatesan, J., Ramu, V., Sethuraman, T., Sivagnanam, C., & Doss, G. (2021). Molecular marker for characterization of traditional and hybrid derivatives of *Eleusine coracana* (L.) using ISSR marker. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19(1), 178. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00277-1>
- Vernando, R., Mahyarudin, M., & Rialita, A. (2023). Aktivitas Antimikroba Bakteri Endofit Daun Pegagan (*Centella asiatica* L.) Terhadap *Propionibacterium acnes*. *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*, 16(1), 53–63. <https://doi.org/10.15408/kauniyah.v16i1.20276>
- Weiskirchen, S., Schröder, S. K., Buhl, E. M., & Weiskirchen, R. (2023). A Beginner's Guide to Cell Culture: Practical Advice for Preventing Needless Problems. In *Cells*. <https://doi.org/10.3390/cells12050682>
- Wellham, P. A. D., Hafeez, A., Gregori, A., Brock, M., Kim, D. H., Chandler, D., & de Moor, C. H. (2021). Culture degeneration reduces sex-related gene expression, alters metabolite production and reduces insect pathogenic response in *Cordyceps militaris*. *Microorganisms*. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081559>