

Jenis – jenis tumbuhan paku (Pteridofita) dari Hutan Universitas Riau, Provinsi Riau dan Pola Pita DNA berdasarkan Penanda DNA M13 Primer

Ferns (Pteridohyte) of University of Riau Forest, Riau Province and their DNA band pattern based on the M13 DNA marker

Nery Sofiyanti, Mayta Novaliza Isda

*Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau
Kampus Bina Widya Jl. Pekanbaru Bangkinang KM 12.5, Panam, Pekanbaru, Riau. 28295.*

Email : nery.sofiyanti@lecturer.unri.ac.id

Abstract. University of Riau Forest, Riau Province is one of distribution area of ferns (Pteridophytes). This study aimed to identify fern species at University of Riau Forest and examined the DNA band pattern based on M13 DNA marker. Samples were collected from the field using exploration method and were then identified. DNA isolation was carried out using DNAeasy Plant Mini Kit (Qiagen), and amplified based on PCR method using DreamTaq Green PCR Master Mix (2X) (Thermo Scientific) with M13 DNA Marker. The inventorisation result showed a total of 26 fern species belong to 8 families were identified in this study. The electrophoresis result of PCR product gave the various DNA band pattern ranged from 200 to 2000 bp. DNA band pattern using M13 primer can be used to support the taxonomical data of fern taxa.

Key words: DNA, fern, M13 marker

Abstrak. Kawasan hutan di Universitas Riau, Provinsi Riau merupakan salah satu daerah distribusi tumbuhan paku (Pteridofita). Kajian ini bertujuan mengidentifikasi jenis-jenis tumbuhan paku di Hutan Universitas Riau dan mengetahui pola pita DNA menggunakan penanda DNA universal M13. Sampel dikoleksi dari lapangan menggunakan metode eksplorasi dan kemudian diidentifikasi. Isolasi DNA menggunakan DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen), dan diamplifikasi berdasarkan metode PCR menggunakan DreamTaq Green PCR Master Mix (2X) (Thermo Scientific) dengan penanda DNA M13 (GAGGGTGGCGTTCT). Hasil inventarisasi menunjukkan 26 jenis paku dari 8 famili telah diidentifikasi pada kajian ini. Hasil elektroforesis PCR menunjukkan bahwa pola pita DNA yang dihasilkan bervariasi dengan ukuran berkisar antara 200 bp sampai 2000 bp. Pola pita DNA menggunakan penanda universal M13 dapat dijadikan data pendukung dalam taksonomi tumbuhan paku.

Kata kunci : DNA, paku, penanda M13,

PENDAHULUAN

Hutan di Kawasan Universitas Riau merupakan salah satu daerah distribusi tumbuhan paku. Tumbuhan paku merupakan golongan tumbuhan yang menasikkan spora namun sudah mempunyai berkas pengangkut sederhana. Tujuan kajian ini adalah untuk menginventarisasi jenis-jenis tumbuhan paku yang berada di kawasan tersebut, serta untuk mengetahui pola pita DNA dengan menggunakan penanda DNA M13. Penanda ini merupakan penanda DNA yang universal dan sudah banyak digunakan oleh para taksonomist untuk mengetahui hubungan

kekerabatan baik hewan, tumbuhan maupun mikroorganisme, karena memberikan variasi pola pita yang beragam (Garcia-Lopez et al. 2015)

METODE PENELITIAN

Pengambilan sampel dan identifikasi

Spesimen yang digunakan adalah jenis-jenis tumbuhan paku yang dikoleksi dari Hutan Universitas Riau, Provinsi Riau. Setiap spesimen yang dikoleksi didokumentasikan, dibuat herbarium, dikarakterisasi dan diidentifikasi berdasarkan Piggot (1998) dan Sofiyanti *et al.* (2015).

Isolasi DNA

Bahan isolasi DNA adalah 100 mg daun segar atau 20 mg daun kering. Isolasi DNA dilakukan berdasarkan protocol DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen). Pengecekan DNA total hasil isolasi mengacu pada Seng *et al.* (2014)

Polymerase Chain Reaction (PCR)

Campuran untuk PCR mengacu pada protokol DreamTaq Green PCR Master Mix (2X) dengan komposisi sebagai berikut : Dream Taq Green PCR master mix (x) 12,5 µl, DNA 1 µl, M13 markr 2 µl, ddH₂O 9,5 µl. Urutan basa penanda DNA M13 universal (GAGGGTGGCGGTTCT), siklus PCR dan pengecekan hasil PCR dilakukan berdasarkan Meyer & Mitchell (1995). Untuk memperjelas pola pita DNA yang dihasilkan maka dilakukan reamplifikasi dengan melakukan PCR kedua. Komponen PCR kedua sama dengan PCR pertama namun DNA diganti dengan hasil produk PCR pertama (Ivo & Dana 2003).

Analisa data

Data hasil identifikasi ditabulasikan dan dianalisis secara deskriptif. Sedangkan pola pita DNA dibuat penskoran, 1 untuk pita yang ditemukan dan 0 untuk pita yang tidak ditemukan. Hasil penskoran akan dilanjutkan dengan pembuatan dendrogram menggunakan metode *Unweighted Pair-Group Method with Arithmetical Averages* (UPGMA) Sneath and Sokal (1973) dengan program NTsyst (Rohlf 1998).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jenis-jenis paku di Hutan Universitas Riau

Hasil inventarisasi jenis-jenis tumbuhan paku diperoleh 26 jenis tumbuhan paku dari lokasi kajian. Tabel 1 menyajikan jenis-jenis paku yang diidentifikasi. Tabel 1 menunjukkan bahwa pada kajian ini dijumpai 2 kelompok paku, yaitu eusporangiate dan leptosporangiate. Kelompok paku

eusporangiate merupakan kelompok paku yang mempunyai sporangium yang berkembang dari beberapa sel, sehingga membentuk kumpulan sporangia yang besar (Andrew 2008; Sofiyanti *et al.* 2015). Sedangkan pada paku leptosporangiate, sporangia berkembang dari satu sel sehingga mempunyai ukuran lebih kecil (Pryer *et al.* 2004). Pada penelitian ini hanya 1 famili dari kelompok paku Eusporangiate yang ditemukan yaitu famili Lycopodiaceae. Famili ini mempunyai karakteristik daun mikrofil dan tulang daun tidak bercabang (Pryer *et al.* 2004; Sofiyanti *et al.* 2015). Jenis yang ditemukan adalah *Lycopodiella cernua* atau yang dikenal dengan nama lokal Paku Kawat (Sofiyanti *et al.* 2015). Paku ini mempunyai daun menyerupai sisik yang menyelubungi batang dan cabangnya dan sporangia tersusun pada ujung cabang membentuk strobilus.

Pada umumnya, kelompok paku Leptosporangiate mempunyai jumlah jenis yang lebih banyak dibandingkan Eusporangiate. Paku leptosporangiate mempunyai daun yang lebih besar dibandingkan golongan Eusporangiate, dengan bentuk daun dan pertulangan daun yang beragam. Selain itu jenis-jenis leptosporangiate mempunyai sporangia yang membentuk sorus yang ukurannya lebih kecil dari strobilus. Pada penelitian ini ditemukan 8 famili yaitu Pada umumnya klasifikasi tumbuhan paku pada tingkat famili lebih menekankan pada karakter bentuk dan posisi sorus, dibandingkan karakter lain seperti akar, rhizom dan daun. Oleh Karena itu sering dijumpai anggota dalam 1 famili memiliki perbedaan morfologi yang tinggi pada karakter akar, rhizome dan daun. Seperti yang dijumpai pada penelitian ini yaitu pada famili Aspleniaceae, Blechnaceae, Polypodiaceae dan Pteridaceae. Gambar 1 menyajikan contoh paku jenis dari famili yang sama tetapi mempunyai perbedaan morfologi yang cukup besar.

Tabel 1. Daftar jenis tumbuhan paku hasil inventarisasi

Kelompok - famili		Jenis	KODE PCR*
Eusporangiate			
1. Lycopodiaceae	1	<i>Lycopodiellacernua</i> (L.) Pic. Serm.	17
Leptosporangiate			
1. Aspleniaceae	2	<i>Asplenium nidus</i> L.	5
	3	<i>Asplenium serratum</i> L.	10
	4	<i>Asplenium longissimum</i> Blume.	3
2. Blechnaceae	5	<i>Blechnum finlaysonianum</i> Wall.	9
	6	<i>Blechnum occidentale</i> L.	2
	7	<i>Blechnum orientale</i> L.	25
	8	<i>Stenochlaena palustris</i> (Burm. f.) Bedd.	23
3. Cyatheaceae	9	<i>Cyathea latebrosa</i> (Wall. Ex Hook) Copel.	1
	10	<i>Cyathea contaminans</i> (Wall. ex Hook.) Copel.	4
4. Davalliaceae	11	<i>Davallia denticulata</i> (Burm. f.) Mett. ex Kuhn	8
	12	<i>Davvalia</i> sp2.	18
	13	<i>Davallia</i> sp1.	7
5. Gleicheniaceae	14	<i>Dicranopteris linearis</i> (Burm.f.) Underw.	21
6. Nephrolepidaceae	15	<i>Nephrolepis biserrata</i> (Sw.) Schott	9
7. Polypodiaceae	16	<i>Drynaria sparsisora</i> *(Desv.) T. Moore	-
	17	<i>Pyrrosia longifolia</i> (Burm. f.) CV. Morton	6
	18	<i>Pyrrosia piloselloides</i> (L.) M.G. Price	15
	19	<i>Phymatosorus scolopendria</i> (Burm. f.) Pic. Serm.	16
	20	<i>Microsorium punctatum</i> (L.) Copel	22
8. Pteridaceae	21	<i>Adiantum latifolium</i> Lam.	11
	22	<i>Pronephrium menisciicarpon</i> (Blume) Holttum	13
	23	<i>Pronephrium</i> sp.	20
	24	<i>Taenitis blechnoides</i> (Willd.) Sw.	24
	25	<i>Vittaria elongata</i> SW.	14
	26	<i>Vittaria ensiformis</i> Sw.	12

Keterangan : * tidakdigunakanuntuk analisis DNA karenakendalpengambilansampel

Jenis-jenis Aspleniaceae yang ditemukan pada penelitian ini mempunyai variasi daun yang cukup besar, yaitu daun tunggal berbentuk roset dan daun majemuk ganda tersebar sepanjang rhizom. Hal ini juga dilaporkan oleh Lin & Viane (2013). Namun semua jenis Aspleniaceae mempunyai karakteristik yang serupa pada bentuk sorus yang menyerupai garis dan berada pada kanan kiri tulang daun atau anak daun (Piggot 1998, Lin & Viane 2013; Sofiyanti *et al.* 2015) dengan indusium semu (Lashim 2012). Bentuk rhizome dan daun *Asplenium nidus* dan *Asplenium serratum* mempunyai kemiripan karena sama-sama mempunyai rhizoma pendek merayap dengan

daun tunggal yang menyerupai roset. Namun daun *Asplenium nidus* (Gambar 1a) berukuran lebih besar dan kaku dibandingkan *Asplenium serratum*. Sedangkan pada *Asplenium longissimum* (Gambar 1b) mempunyai rhizoma agak tegak dan berdaun majemuk ganda. Secara morfologi, *Asplenium longissimum* sangat jauh berbeda dibandingkan *Asplenium nidus* dan *Asplenium serratum*, namun karena mempunyai karakter sorus membentuk garis dan berada di kanan kiri tulang anak daun maka digolongkan pada famili yang sama. Pada *Asplenium nidus* dan *Asplenium serratum*, sori berbentuk garis lurus yang tersusun rapat disepanjang kanan kiri tulang daun sedangkan pada *Asplenium*

longissimum sori berbentuk garis pendek yang terletak pada kanan kiri tulang anak daun



Gambar 1. Contoh tumbuhan paku yang ditemukan. a-b. Aspleniaceae (a. *Asplenium nidus*, b. *Asplenium serratum*), c-e. Blechnaceae (c. *Blechnum finlaysonianum*, d. *Blechnum orientale*, e. *Stenochlaena palustris*), f-i. Polypodiaceae (f. *Drynaria sparsisora*, g. *Microsorium punctatum*, h. *Phymatosorus scolopendria*, i. *Pyrrosia longifolia*), j-l. Pteridaceae (j. *Adiantum latifolium*, k. *Taenitis blechnoides*, l. *Vittaria elongata*)

Anggota famili Blechnaceae yang ditemukan pada penelitian ini juga menunjukkan

karakter morfologi yang bervariasi. Menurut Wang et al. (2013), jenis-jenis Blechnaceae

merupakan jenis paku terestrial yang kadang menyerupai pohon kecil dan jarang yang merambat, rhizome tegak atau merambat, bersisik dan mempunyai tipe daun dimorfik atau monomorfik. Selain itu daunnya merupakan daun majemuk atau majemuk ganda dan jarang yang berdaun tunggal dengan sori memanjang di kanan kiri tulang daun (Piggot 1998). Pada kajian ini, dijumpai 2 genera dari famili Blechnaceae yaitu *Blechnum* (3 jenis) dan *Stenochlaena* (1 jenis). Anggota *Blechnum* dan *Stenochlaena* memiliki perbedaan yang cukup jelas. Ketiga jenis *Blechnum* yang dijumpai (*Blechnum finlaysonianum* (Gambar 1c), *Blechnum occidentale* dan *Blechnum orientale* (Gambar 1d)) mempunyai rhizome pendek dan tegak dan habitus menyerupai pohon palem dengan daun monomorfik yang tersusun spiral membentuk roset batang dengan sori yang melekat sepanjang kanan kiri tulang anak daun. Karakter ini juga ditemukan pada jenis *Blechnum* lainnya (Piggot 1998; Palacios-Rios & Hernandez 2001; Wang et al. 2013). Sedangkan jenis *Stenochlaena* yang ditemukan (*Stenochlaena palustris*, Gambar 1e) mempunyai rhizom menjalar dengan daun majemuk dimorfik. Pada umumnya jenis *Stenochlaena* mempunyai sori akrostikoid, yaitu sori yang berada disepanjang kanan kiri tulang anak daun dan menutupi seluruh permukaan bawah anak daun (Sofiyanti et al. 2015).

Anggota Polypodiaceae merupakan dengan jumlah jenis yang tinggi (Almeida et al. 2017) yang pada umumnya epifit atau epilitik, dan jarang yang terestrial, dengan rhizome pendek atau panjang menjalar dan diselubungi sisik (Zhang et al. 2013), daun tunggal atau majemuk dengan tipe daun monomorfik atau dimorfik (Piggot 1998; Sofiyanti et al. 2015) serta mempunyai sori yang abaxial berbentuk membulat, oval dan kadang memanjang (Zhang et al. 2013). Genera yang termasuk dalam Polypodiaceae yang ditemukan pada penelitian ini adalah *Drynaria* (1 jenis), *Microsorium* (1 jenis), *Phymatosorus* (1 jenis) dan *Pyrrosia* (2 jenis). Morfologi setiap jenis dari 4 genera tersebut sangat bervariasi. *Drynaria sparsisora* (Gambar 1f) mempunyai tipe daun dimorfik,

demikian juga *Pyrrosia longifolia* dan *Pyrrosia pilloseloides* (Gambar 1i). Selain itu *Drynaria* juga mempunyai daun steril yang tersusun rapat pada bagian bawah sehingga menyerupai sarang, dengan tepi daun berlekuk. Sedangkan anggota *Pyrrosia* mempunyai daun steril tunggal dan berdaging. Pada *Microsorium punctatum* mempunyai daun tunggal memanjang dan tersusun rapat pada rhizom (Gambar 1g). Sedangkan *Phymatosorus scolopendria* merupakan jenis Polypodiaceae yang mempunyai polimorfisme pada karakter daun, karena pada satu individu dapat ditemukan variasi daun seperti daun tunggal, berlekuk 3, berlekuk 5 ataupun berlekuk banyak (Gambar 1h).

Perbedaan morfologi yang cukup tinggi juga dijumpai pada anggota Pteridaceae. Famili ini mempunyai habitat yang beragam seperti terestrial, epifit, epilitik dan akuatik (Zhang et al. 2013). Karakter daun juga mempunyai variasi yang tinggi, yaitu daun tunggal, majemuk maupun majemuk ganda dengan tepi daun rata, berlekuk atau bergelombang (Piggot 1998, Sofiyanti et al. 2015). Posisi dan bentuk sori juga sangat beragam. Pada penelitian ini dijumpai variasi karakter pada rhizome seperti pendek (*Vittaria elongata* dan *Vittaria ensiformis*), agak tegak (*Adiantum latifolium*) dan *Taenitis blechnoides*), menjalar (*Phroneprium mersinicarpon*). Tipe daun anggota Pteridaceae juga berbeda, yaitu tipe daun tunggal tersusun roset pada *Vittaria elongata* (Gambar 1l) dan *Vittaria ensiformis*, serta tipe dua majemuk pada *Adiantum latifolium* (Gambar 1j), *Phroneprium mersinicarpon* dan *Taenitis blechnoides* (Gambar 1k). Menurut Zhang et al (2013), walaupun jenis-jenis Pteridaceae mempunyai variasi morfologi yang tinggi namun dikarakteristikan dengan adanya sori yang menyatu sepanjang pertulangan daun atau pada tepi daun, dan kadang kadang berada pada lekukan pada ujung tulang daun atau tepi daun dengan indusium semu.

Berbeda dengan anggota jenis dari famili-famili di atas, maka anggota pada famili Davalliaceae mempunyai karakteristik

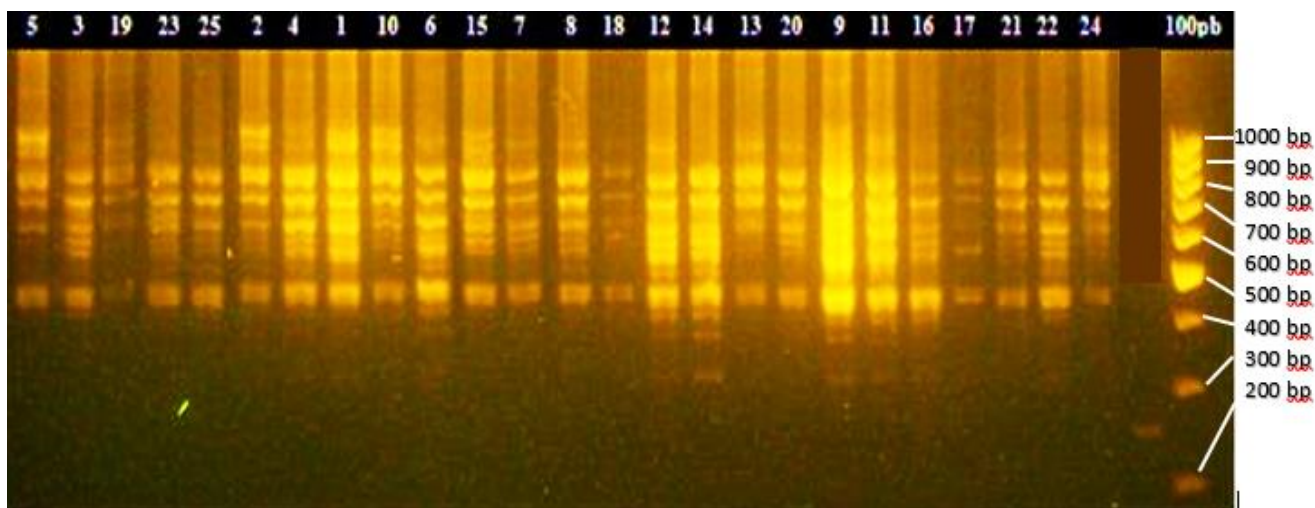
Sofiyanti dan Isda Jenis – jenis tumbuhan paku (Pteridofita) dari Hutan Universitas Riau, Provinsi Riau dan Pola Pita DNA berdasarkan Penanda DNA M13Primer

morfologi khas yang dijumpai pada setiap jenisnya, yaitu rhizoma panjang merambat dan bersisik, daun majemuk ganda 4 dengan sori terletak pada setiap lekukan anak daun dan berindusium seperti cawan (Piggot 1998). Untuk famili Lycopodiaceae, Gleicheniaceae dan Nephrolepidaceae hanya diidentifikasi 1 jenis saja. Namun anggota famili tersebut mempunyai karakter khas yang menyatukan dalam family yang sama.

Pola pita DNA berdasarkan penanda universal M13

Hasil amplifikasi PCR menggunakan penanda universal M13 menunjukkan pola pita yang bervariasi pada setiap jenis yang diteliti. Ukuran pita DNA yang diperoleh pada penelitian ini sekitar 200 – 2.000 bp. Gambar 2 adalah elektroforegram PCR produk yang menunjukkan pola pita DNA yang diperoleh. Jumlah pita yang diperoleh adalah 42 pita, dengan 11 pita monomorfik (26.19%) dan 31 pita polimorfik (73.81%). Pada umumnya,

Penanda M13 memberikan pola pita yang bervariasi pada taksa yang dikaji, seperti yang dilaporkan oleh Garcia-Lopez *et al.* (2015) pada paku Hymenophyllaceae. M13 juga merupakan penanda universal yang dapat digunakan pada tumbuhan selain paku, manusia dan mikroorganisme (Abd-Elsalam *et al.* 2010) karena memberikan variasi pita yang tinggi (Ryskov *et al.* 1988). Jumlah pita yang dihasilkan oleh penanda M13 pada semua taksa tumbuhan pada umumnya lebih tinggi dibandingkan dengan penanda DNA lain seperti RAPD (Sembiring *et al.* 2015) yang digunakan pada Andaliman. Jumlah pita yang diperoleh pada penelitian jauh lebih tinggi dibandingkan dengan penanda ISSR yang dilaporkan pada jenis Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) dengan rata-rata setiap penanda hanya 5 pita. Gambar 3 merupakan dendrogram hasil pengelompokan menggunakan Program NTSyst.



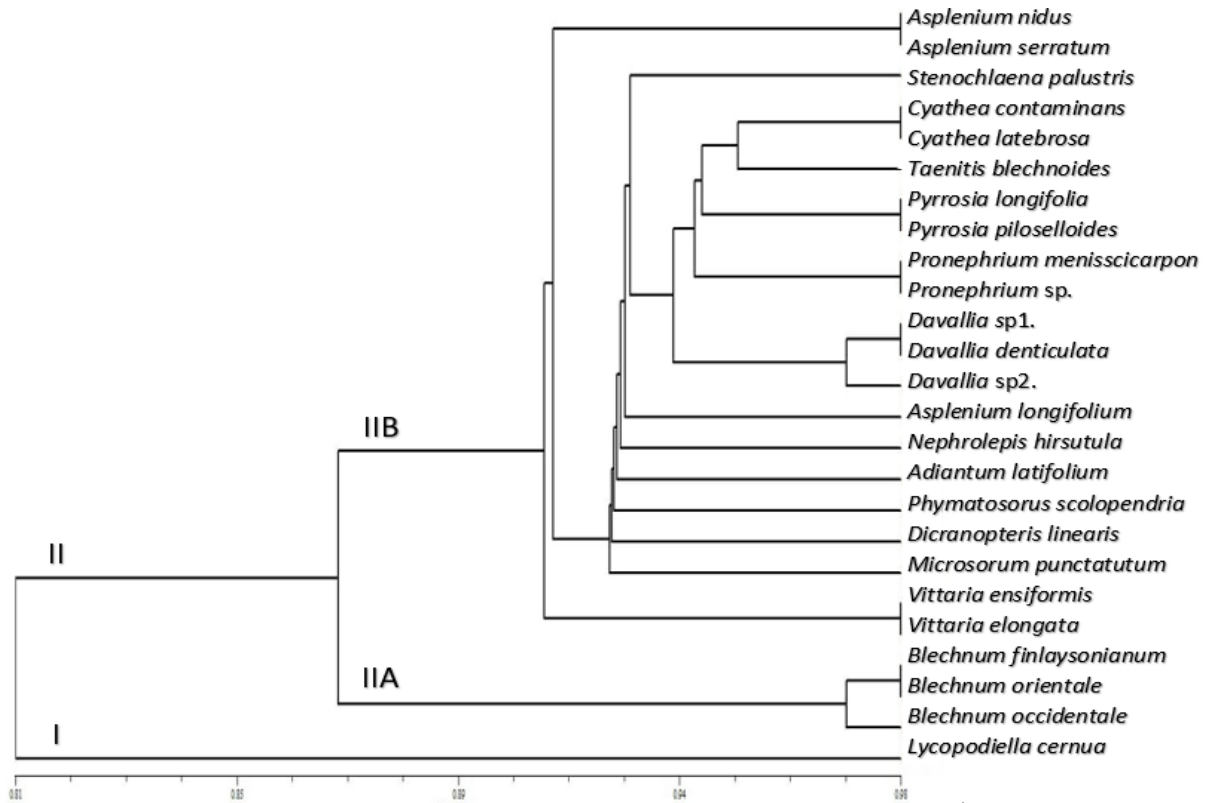
Gambar 2. Elektroforegram produk PCR tumbuhan paku berdasarkan penanda universal M13

Dendrogram hasil pengelompokan pada gambar 3 menunjukkan bahwa semua jenis paku yang diteliti mengelompok pada koefisien kemiripan 0.81. Dendrogram terbagi menjadi 2 kelompok, yaitu Kelompok I (1 jenis) dan kelompok II (24 jenis). Kelompok I hanya terdiri dari jenis *Lycopodiella cernua*. Paku ini merupakan satu satunya paku Eusporangiate

yang ditemukan pada penelitian ini. Sebanyak 4 pita DNA yang ditemukan pada semua jenis paku leptosporangiate tidak di temukan pada jenis ini, sehingga *Lycopodiella cernua* ini memisah dari paku lain dan membentuk cabang tersendiri. Hal ini mendukung pengelompokan secara morfologi, yang memisahkan paku berdaun mikrofil dan berstrobilus (paku yang

tergolong dalam Eusporangiate) dengan paku berdaun megafil dan bersori (Boonkerd *et al.* 2014). Genus *Lycopodiella*, bersama *Huperzia*,

Phlegmariurus, *Lycopodiastrium*, dan *Lycopodium*, tergolong dalam famili Lycopodiaceae (Zhang & Iwatsuki. 2013).



Gambar 3. Dendrogram tumbuhan paku berdasarkan profil pola pita DNA menggunakan penanda universal M13.

Kelompok II terdiri dari semua jenis paku Eusporangiate yang berdaun megafil dan sporangia mengelompok membentuk sori, yaitu sebanyak 24 jenis. Kelompok II mengelompok pada koefisien 0.868 dan terbagi menjadi 2 sub kelompok yaitu IIA (3 jenis) dan IIB (21). Anggota sub kelompok IIA adalah semua jenis *Blechnum* (*Blechnum finlaysonianum*, *B. occidentale* dan *B. orientale*) yang tergolong dalam family Blechnaceae. Anggota famili ini yang tidak membentuk kelompok yang sama adalah *Stenochlaena palustris*. Demikian juga untuk jenis *Asplenium longissimum* juga memisah dari *Asplenium nidus* dan *Asplenium serratum*, karena ada pita DNA yang berbeda dari kedua jenis tersebut.

Namun secara umum, dendrogram berdasarkan pola pita DNA menggunakan Penanda M13 menunjukkan bahwa jenis-jenis yang berada genus yang sama membentuk kelompok yang sama. Oleh karena itu, penanda M13 ini dapat digunakan untuk mendukung klasifikasi jenis-jenis yang dikaji.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada KEMNRISTEK DIKTI atas hibah Penelitian Berbasis Kompetensi (HIKOM).

DAFTAR PUSTAKA

Abd-Elsalam K, Almohimeed I, Moslem MA. & Bahkali AH. 2010. M13-microsatellite PCR and rDNA sequence markers for

Sofiyanti dan Isda Jenis – jenis tumbuhan paku (Pteridofita) dari Hutan Universitas Riau, Provinsi Riau dan Pola Pita DNA berdasarkan Penanda DNA M13Primer

- identification of *Trichoderma* (Hypocreaceae) species in Saudi Arabian soil. *Genet. Mol. Res.* 9 (4): 2016-2024.
- Almeida T, Alexandre S, Jean-Yves D & Sabine H. 2017. *Adetogramma* (Polypodiaceae), a new monotypic fern genus segregated from *Polypodium*. *PhytoKey* 78: 109-131.
- Andrew M. 2008. A taxonomic revision of the eusporangiate fern family Marattiaceae, with description of a new genus *Ptisana*. *Taxon.* 57. 737-755.
- Boonkerd T, Parinyanoot K & Rossarin P. 2014. Taxonomic revision of the Lycopodiaceae in Thailand. The 6th Asian Fern Symposium.
- García-López DM, Schuler SB, López-Flores I, Nieto-Lugilde M., Terrón-Camero L, Aguilera IM & Suárez-Santiago FN. 2015. Development of polymorphic microsatellite markers for the Killarney Fern (*Vandenboschia speciosa*, Hymenophyllaceae). *Applications in Plant Sciences* 3(11): 1-3
- Lashin GMA. 2012. Palynological Studies of Some Species of Aspleniaceae-Pteridophyta *American Journal of Plant Sciences* 3: 397-402. <http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2012.33048>
- Lin YX & Viane R. 2013. Aspleniaceae. Pp. 267–316 in Z. Y. Wu, P. H. Raven & D. Y. Hong, eds., *Flora of China*, Vol. 2–3 (Pteridophytes). Beijing: Science Press; St. Louis: Missouri Botanical Garden Press.
- Meyer W & Mitchell TG. 1995. Polymerase chain reaction fingerprinting in fungi using single primers specific to minisatellites and simple repetitive DNA sequences: strain variation in *Cryptococcus neoformans*. *Electrophoresis.* 16(9):1648-56.
- Palacios-Rios M & Hernández V. 2001. Blechnaceae. *Flora Del Bajío Y De Regiones Adyacentes Fascículo* 95: 1 – 13.
- Piggott AG. 1998. *Fern of Malaysia in Color.* Tropical Press Sdn.Bhd., Malaysia.
- Pryer KM, Schuetzpelz E, Wolf PG, Schneider H, Smith AR & Cranfill R. 2004. Phylogeny And Evolution Of Ferns (Monilophytes) With A Focus On The Early Leptosporangiate Divergences 1 *American Journal Of Botany* 91(10): 1582-1598.
- Ryskov AP, Jincharadze AG, Prosnjak MI, Ivanov PL & Limborska SA. 1988. M13 phage DNA as a universal marker for DNA fingerprinting of animals, plants and microorganisms *Federation of European Biochemical Societies* 233(2): 388-392.
- Sembiring IMS, Putri LAP & Setiada H. 2015. Aplikasi Penanda lima Primer RAPD untuk Analisis Keragaman Genetik Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) Sumatera Utara. *Jurnal Agrokoteknologi* 4(1): 1748 – 1755.
- Sofiyanti N, Iriani D, Roza AA. 2015a. Morfologi tumbuhan Paku di Taman Hutan Raya Sultan Syarif Hasyim, Riau. Unri Press, Pekanbaru.
- Sofiyanti N, Iriani D, Fitmawati, Roza AA. 2015b. *Stenochlaena riauensis* (Blechnaceae), A new fern species from Riau, Indonesia. *Bangladesh Journal of Plant Taxonomy* 22(2): 137-14. DOI <http://dx.doi.org/10.3329/bjpt.v22i2.26075>.
- Sofiyanti N, Iriani D, Fitmawati, and Marpaung, A.A. 2017a. A Note on the Fern (Pteridophyte) Diversity from Riau. *Applied Science and Technology* 1(1): 478 – 481.
- Sofiyanti N, Iriani D, Fitmawati, Marpaung AA. 2017b. Karakteristik dan Metode

Pembuatan Preparat Spora Pteridoflora.
UNRI Press, Pekanbaru.

Sofiyanti N, Iriani D, Fitmawati. 2017c. Analisis Potensi Tumbuhan Paku di daerah gambut di Riau sebagai agen terapeutik. Laporan PTUPT (tidak dipublikasikan).

Wang FG, Xing FW, Dong S & Kato M. 2013. Blechnaceae. Pp. 411–417 in Z. Y. Wu, P. H. Raven & D. Y. Hong, eds., Flora of China, Vol. 2–3 (Pteridophytes). Beijing: Science Press; St. Louis: Missouri Botanical Garden Press.

Wesner I & Dana W. 2003. Insertion of a reamplification round into the ISSR-PCR protocol gives new flax fingerprinting patterns. Cellular & Molecular Biology Letters 8: 743-8.

Zhang LB & Iwatsuki K. 2013. Lycopodiaceae. Pp. 13–34 in Z. Y. Wu, P. H. Raven & D. Y. Hong, eds., Flora of China, Vol. 2–3 (Pteridophytes). Beijing: Science Press; St. Louis: Missouri Botanical Garden Press.

Zhang GM, Liao WB, Ding W, Lin YX, Wu ZH, Zhang XC, Dong SY, Prado, Gilbert MG, Yatskievych G, Ranker TA, Hooper EA, Alverson ER, Metzgar JS, Funston AM, Masuyama S & Kato M. 2013. Pteridaceae. Pp. 169–256 in Z. Y. Wu, P. H. Raven & D. Y. Hong, eds., Flora of China, Vol. 2–3 (Pteridophytes). Beijing: Science Press; St. Louis: Missouri Botanical Garden press.

Zhang XC, Lu SG, Lin YX, Qi SP, Moore S, Xing FW, Wang FG, Hovenkamp PH, Gilbert MG, Nootboom HP, Parris BS,

Haufler C, Kato M & Smith AR. 2013. Polypodiaceae. Pp. 758–850 in Z. Y. Wu, P. H. Raven & D. Y. Hong, eds., Flora of China, Vol. 2–3 (Pteridophytes). Beijing: Science Press; St. Louis: Missouri Botanical Garden Press.