

IDENTIFIKASI STATUS ANAK JENIS KUCICA HUTAN (*Kittacincla malabarica*) DARI PENANGKARAN DI JAMBI

[Status Identification of Subspecies of White-rumped Shama (*Kittacincla malabarica*) from Captivity in Jambi]

Yohanna*^{1✉}, Anik Budhi Dharmayanti*¹, Putra T. Kurniawan², Yuli Akmal², Teguh Hartono², Oktaviani Nur Marsellia², Rahmad Saleh², dan Mohammad Irham*¹

¹Museum Zoologicum Bogoriense, Pusat Riset Biologi - Badan Riset dan Inovasi Nasional, Jl. Raya Jakarta - Bogor KM. 46 Cibinong

²Balai Konservasi Sumber Daya Alam Jambi, Direktorat Jenderal Konservasi Sumber Daya Alam dan Ekosistem, Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan - Republik Indonesia
email : mohammad.irham@lipi.go.id

ABSTRACT

These studies aim to identify the lineages and genetic structures of white-rumped shama (*Kittacincla malabarica*) from captivity in Jambi. Mitochondrial ND2 analysis was performed from 20 individuals of the white-rumped shama and sequences from Gen Bank i.e., *K.m. tricolor* (Malay Peninsula), *K.m. interposita* (Indochina), *K.m. suavis* (Borneo), *K.m. stricklandii* (Borneo), *K. luzoniensis* (Philippines), *K. nigra* (Philippines), and *Acridotheres javanicus* as the outgroup. The phylogeny tree was reconstructed by neighbor-joining (NJ) and maximum likelihood (ML). Meanwhile, the genetic structures were determined by haplotype, haplotype diversity, and Tajima-D. AMOVA and FST were used to see population differentiation. The phylogenetic tree showed that the white-rumped shama from captivity in Jambi was divided into two lineages, namely *K. m. tricolor* and *K. m. interposita* with intersubspecies genetic distance between 0.3%–0.5%. The haplotypes of white-rumped shama from Jambi were 13 with haplotype diversity of 0.95. The AMOVA of *K. malabarica* showed a significant value of FST at 80.54. Nonetheless, the FST between Jambi - Indochina, and Jambi - Malay Peninsula are significantly low at 0.147 and 0.271, respectively. This study indicated that the breeders used various broodstock, including the lineage of *K. m. tricolor* and *K. m. interposita*.

Keywords: white-rumped shama, species, lineage, phylogenetic, genetic structure

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi garis keturunan dan struktur genetika Kucica Hutan (*Kittacincla malabarica*) hasil penangkaran dari Jambi. Analisis mitokondria ND2 dilakukan dari 20 individu Kucica Hutan dan sekuen dari Gen Bank, yang meliputi *K. m. tricolor* (Semenanjung Malaysia), *K. m. interposita* (Indochina), *K. m. suavis* (Borneo), *K. m. stricklandii* (Borneo), *K. luzoniensis* (Filipina), *K. nigra* (Filipina), dan *Acridotheres javanicus* sebagai outgroup. Pohon filogeni direkonstruksi dengan neighbour-joining (NJ) dan maximum likelihood (ML). Struktur genetika di analisis untuk mengetahui jumlah haplotipe, diversitas haplotipe, dan Tajima-D. AMOVA dan FST digunakan untuk melihat diferensiasi populasi. Hasil analisis filogeni menunjukkan bahwa Kucica Hutan asal penangkaran Jambi terbagi menjadi dua garis keturunan, yaitu *K. m. tricolor* dan *K. m. interposita* dengan jarak genetik antar subspecies antara 0,3%–0,5%. Haplotipe Kucica Hutan dari Jambi berjumlah 13 dengan diversitas haplotipe bernilai 0,95. Kucica Hutan menunjukkan nilai populasi divergensi yang tinggi dan signifikan, yaitu FST 80,54. Nilai FST paling rendah ditunjukkan antara populasi Jambi-Indochina dan Jambi - Semenanjung Malaysia, yaitu 0,147 dan 0,271. Hasil dari analisis filogeni dan struktur genetika mengindikasikan bahwa para penangkar mengembangkan Kucica Hutan dari berbagai sumber indukan yang meliputi garis keturunan *K. m. tricolor* dan *K. m. interposita*.

Kata kunci: Kucica Hutan, spesies, garis keturunan, filogeni, struktur genetika.

PENDAHULUAN

Kucica Hutan (*Kittacincla malabarica*) atau murai batu merupakan jenis burung dari famili *Musci capidae*, ordo *Passeriformes* yang terdiri atas sekitar 14 sampai 17 subspecies yang tersebar mulai dari India, Indochina, Semenanjung Malaysia, Sumatera, Jawa, Kalimantan, dan pulau-pulau kecil sekitarnya (HBW and Bird Life International 2020; Roberts *et al.*, 2020). Indonesia memiliki kekayaan subspecies Kucica Hutan paling tinggi, yaitu 11 subspecies (Roberts *et al.*, 2020). Sebaran subspecies Kucica Hutan di Indonesia adalah empat subspecies di Sumatera

(*K.m. tricolor*, *K.m. melanura*, *K.m. hypoliza*, *K.m. ophiochra*), tiga subspecies di Kalimantan (*K.m. suavis*, *K.m. stricklandii*, dan *K.m. barbouri*), dan empat subspecies di Jawa (*K.m. mirabilis*, *K.m. javanus*, *K.m. omissa*, dan *K.m. nigricauda*). Selain itu, Indonesia berbagi wilayah sebaran tiga subspecies Kucica Hutan dengan Malaysia yaitu *K. m. tricolor*, *K. m. suavis*, dan *K. m. stricklandii*. Sedangkan subspecies kucica yang lain adalah endemik Indonesia.

Kucica Hutan merupakan salah satu jenis dari kelompok burung berkicau yang sangat diminati karena keindahan suaranya sehingga menjadi jenis

*Kontributor Utama

*Diterima: 5 Juli 2021 - Diperbaiki: 13 September 2021 - Disetujui: 17 September 2021

yang populer dalam kontes suara burung (Burivalova *et al.*, 2017; Chng and Eaton 2016; Chng *et al.*, 2018, Jepson and Ladle, 2009). Rentschlar *et al.*, 2020 menunjukkan bahwa Kucica Hutan termasuk 10 jenis burung yang paling tinggi jumlah penjualan dan harganya di seluruh provinsi di Indonesia. Permintaan yang tinggi tersebut sebagian besar untuk memenuhi pasar peminat burung di Pulau Jawa (Chng and Eaton, 2016). Meskipun demikian beberapa pedagang burung di Jambi tidak memiliki stok Kucica Hutan karena harganya yang terlalu mahal (Irham *et al.*, 2020).

Populasi alam Kucica Hutan mengalami tekanan yang cukup tinggi akibat perdagangan sehingga memiliki tingkat resiko kepunahan global akibat tingkat perdagangan yang sangat tinggi (Lee *et al.*, 2016). Populasi Kucica Hutan semakin menurun di Sumatera dan beberapa subspeciesnya memiliki resiko yang tinggi terhadap kepunahan (Eaton *et al.*, 2015, Harris *et al.*, 2015). Penelitian subspecies endemic Kucica Hutan di pulau-pulau barat Sumatera oleh Rheindt *et al.*, (2019) menunjukkan bahwa hampir semua populasi Kucica Hutan tersebut sudah tidak dapat dijumpai lagi kecuali sebagian kecil individu di Pulau Siberut.

Penangkaran Kucica Hutan merupakan salah satu upaya konservasi dan ekonomi untuk mengurangi tekanan populasi Kucicadi alam. Hasil penangkaran lebih diminati oleh pasar karena memiliki masa hidup lebih panjang, mudah dipelihara di kandang, dan siap untuk berkicau dibandingkan dengan Kucica Hutan liar (Leupen *et al.*, 2018). Penangkaran Kucica Hutan cukup berkembang di Indonesia dalam berbagai skala usaha meskipun sebagian besar penangkar berada di Pulau Jawa (Jepson *et al.*, 2011, Putranto *et al.*, 2020) teknik penangkaran Kucica Hutan juga sudah dikuasai (Akdiatmojo, 2019). Meskipun penangkaran Kucica Hutan cukup berhasil namun masih ada kendala terkait peranannya sebagai komponen konservasi burung berkicau, pertama hasil penangkaran masih belum bisa memenuhi kebutuhan pasar sehingga peredaran Kucica Hutan liar masih tinggi (Leupen *et al.*, 2018), kedua, penangkar Kucica Hutan masih menggunakan indukan dari berbagai sumber yang tidak teridentifikasi asal usul populasi dan/atau anak jenisnya.

Provinsi Jambi memiliki beberapa penangkar burung Kucica Hutan yang sudah berhasil mengembangkan Kucica Hutan. Asal-usul indukan dari penangkar tersebut berasal dari berbagai lokasi baik dari Jambi maupun dari luar Jambi. Keturunan dari indukan tersebut memiliki potensi untuk dilepasliarkan sebagai upaya pengayaan populasi Kucica Hutan di Jambi. Pada setiap upaya pelepasliaran hasil penangkaran harus dilakukan dengan hati-hati

dan beberapa hal yang harus diperhatikan adalah kesehatan satwa, integritas genetika, kedekatan filogeni, dan keragaman genetika dari individu yang akan dilepasliarkan (Black 1991, IUCN/SSC 2013).

Penangkar pada umumnya mengenal Kucica Hutan berdasarkan nama lokal yang kemungkinan kurang mencerminkan populasi secara biologis (Iskandar dan Iskandar, 2015). Selain itu, beberapa populasi yang dikenal oleh penangkar/penghobi merupakan populasi hibrid. Para penangkar belum mengetahui status anak jenis dan cara mengidentifikasinya. Para penangkar juga cenderung mengawinkan indukan kucica hutan tanpa memperhatikan asal-usulnya. Penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi status anak jenis dari Kucica Hutan yang dihasilkan dari penangkar burung di Jambi. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai referensi untuk manajemen dan pembinaan penangkaran Kucica Hutan dan burung lainnya di Jambi sehingga kelestarian dan pemanfaatan burung kicau berkelanjutan dapat dilakukan secara seimbang.

BAHAN DAN CARA KERJA

Material

Koleksi material dalam bentuk darah dilakukan dari 20 penangkar burung yang ada di wilayah Jambi. Untuk analisis DNA berupa darah (19 sampel) dan bulu (1 sampel) yang diambil dari 20 calon individu Kucica Hutan (SATS-DN No. 20/SATS-DN/K.11/TU/P2/3/2021). Pengambilan dilakukan dengan *syringe* berukuran 1 ml yang diambil pada bagian *vena brachialis* (pada sayap) sedangkan pengambilan bulu dilakukan dengan cara dicabut pada bulu bagian sayap.

Ekstraksi, PCR, dan Sekuens DNA

Proses ekstraksi untuk mendapatkan genomik DNA dilakukan dengan menggunakan kit Qiagen DNeasy Blood and Tissue CAT No.ID:69504 untuk sampel darah (mengikuti protokol Qiagen) dan menggunakan metode *phenol:chloroform:isoamyl alcohol* untuk sampel bulu (Bello *et al.*, 2001). Gen yang digunakan untuk identifikasi subspecies Kucica Hutan adalah gen mitokondria *nicotinamide adenine dinucleotide dehydrogenase subunit 2* (ND2). Amplifikasi PCR untuk gen ND2 menggunakan sepasang primer L5219Met (5'-CCC ATA CCC CGA AAA TGA TG-3') dan H6313Trp (5'-CTC TTA TTT AAG GCT TTG AAGGC-3') (Sorenson *et al.*, 1999; Chua *et al.*, 2015; Lim *et al.*, 2010). Komposisi volume total PCR *mix* mengikuti manual *Mytaq HS mastermix* (Bioline) untuk amplifikasi gen ND2 sejumlah 25ul yang terdiri atas 1ul primer (10 pmol), 1ul of DNA *template*, 12.5ul *Mytaq HS mastermix* (Bioline) dan H₂O. Proses PCR mengikuti Shakya *et al.*, 2020

dengan modifikasi sebagai berikut, reaksi dimulai dengan 3 menit *denaturation* 95°C, 35 siklus 95°C *denaturation*, 58°C *annealing* dan 72°C *extension*. Hasil dari PCR divisualisasikan pada 2% *agarose gel* dengan pewarnaan *nzytech greensafe premium* menggunakan UV transluminator.

Analisis filogenetik

Identifikasi dilakukan secara molekuler dengan menggunakan gen mitokondria ND2. Gen mitokondria ND2 banyak digunakan dalam pengungkapan hubungan kekerabatan pada kelas aves. Gen ND2 memiliki keunggulan dalam penilaian cepat hubungan kekerabatan dan variasi antara populasi yang berdekatan karena gen ini tidak terlalu konservatif dan berevolusi relative cepat (Moore 1995). Penggunaan Gen ND2 tidak hanya mampu mengungkap status populasi-populasi dari jenis yang berkerabat seperti komunitas burung di Sumatera dan Kalimantan, tetapi juga dapat mengidentifikasi jenis - jenis baru (Shakya *et al.*, 2018, Shakya *et al.*, 2020, O'Connell *et al.*, 2019).

Total 43 sekuen terdiri atas-20 sekuen sampel Kucing Hutan berasal dari penangkaran di Jambi dan 23 sekuen lainnya berasal dari GenBank (Tabel 1)-gen ND2 sepanjang 841bp digunakan untuk analisis filogenetik sampel Kucing Hutan (www.ncbi.nlm.nih.gov). Penyejajaran sekuen ND2 sepanjang 841 bp menggunakan Geneious Prime® 2021.1.1 dengan metode MUSCLE. 3.8.425 Analisis filogenetik dilakukan dengan menggunakan metode Neighbor-Joining (NJ) dan Maximum Likelihood (ML). Filogeni dengan NJ dibuat berdasarkan parameter Kimura-2 dan *gamma distribution* dengan 1000 kali bootstrap menggunakan MEGA X (Kumar *et al.*, 2018). Filogeni ML menggunakan FastTree 2.1.11 (Price *et al.*, 2010) dalam Geneious Prime 2021.1.1. Model optimal untuk ML ditentukan dengan Jmodel test v2.1.10. Pohon filogeni ML divisualisasikan dengan Figtree v1.4.4 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

Analisis struktur genetik

Analisis struktur genetika hanya dilakukan untuk *Kittacincla malabarica* spp. Struktur genetik dari gen ND2 dari sampel Kucing Hutan dihitung dari parameter *haplotype/nucleotide diversity* (*Hd/Pi*) menggunakan DnaSP V.6 (Rozas *et al.* 2017). Variasi populasi dihitung dengan AMOVA dan nilai *FST* menggunakan Arlequin V.3.5.2.2 (Excoffier *et al.* 2005).

Tata Nama

Tata nama burung mengikuti HBW and Bird Life International (2020).

HASIL

Filogeni Kucing Hutan

Pohon filogeni dari hasil analisis NJ dan ML menunjukkan bahwa ada tiga kluster dari genus *Kittacincla* dan empat kluster subspecies dari *K. malabarica* (Gambar 1). Tiga kluster spesies meliputi *K. luzoniensis*, *K. nigra*, dan *K. malabarica*; didukung dengan nilai posterior probability dan bootstrap yang cukup tinggi berturut-turut 0.9/100 dan 0.9/76. Kluster subspecies dari *K. malabarica* mengindikasikan tingkat divergensi yang tinggi antara *K. m. stricklandii*, *K. m. suavis*, dan *K. m. tricolor* yang didukung dengan nilai posterior probability dan bootstrap yang cukup tinggi, yaitu berturut-turut 1/100, 0.7/46, dan 0.9/93. Sedangkan kluster *K. m. tricolor* dan *K. m. interposita* tidak didukung dengan nilai yang tinggi kecuali satu sub kluster yang terdiri atas dua *K. m. interposita* dari Gen Bank dan tiga sekuen dari penangkaran dengan nilai posterior probability yang tinggi namun bootstrap yang rendah yaitu 0.9/40. Pohon filogeni ini mengindikasikan bahwa sampel dari individu burung hasil penangkaran di Jambi masuk dalam dua kluster, yaitu *K. m. tricolor* dan *K. m. interposita*.

Rata-rata jarak genetik inter subspecies *K. malabarica* berkisar antara 0,1%–0,4 % (Tabel 2). Semakin kecil nilai jarak genetik tersebut maka semakin identik kelompok sekuen tiap-tiap anggota dari kelompok subspecies tersebut. Jarak genetik antara individu dari Jambi sedikit lebih tinggi, yaitu 0,3%–0,4% dibandingkan subspecies yang lain. Jarak genetik inter spesies yang paling tinggi ditunjukkan oleh populasi *K. luzoniensis*, yaitu 7,7%.

Perhitungan nilai rata-rata jarak genetik intra-subspecies dari *K. malabarica* berkisar antara 0,3%–2,9%. (Tabel 3). Subspecies *K. malabarica* dari Borneo memiliki tingkat divergensi genetika yang paling tinggi dengan nilai rata-rata jarak genetik 2%–2,9%. Tingkat divergensi intra-subspecies *K. m. tricolor* dan *K. m. interposita* sangat rendah, yaitu berkisar antara 0,3%–0,5%. Nilai rata-rata jarak genetik intra-subspecies dari Jambi juga rendah, yaitu 0,5% antara kluster *tricolor* dan *interposita*. Nilai ini dapat menjadi penjelasan terhadap rendahnya nilai bootstrap dari pohon filogeni di antara *K. m. tricolor* dan *K. m. interposita*.

Tabel 1. Daftar sekuen Kucica Hutan yang berasal dari penangkaran di Jambi dan NCBI GenBank (*List of Kucica Hutan sequences from captivity in Jambi and NCBI GenBank*).

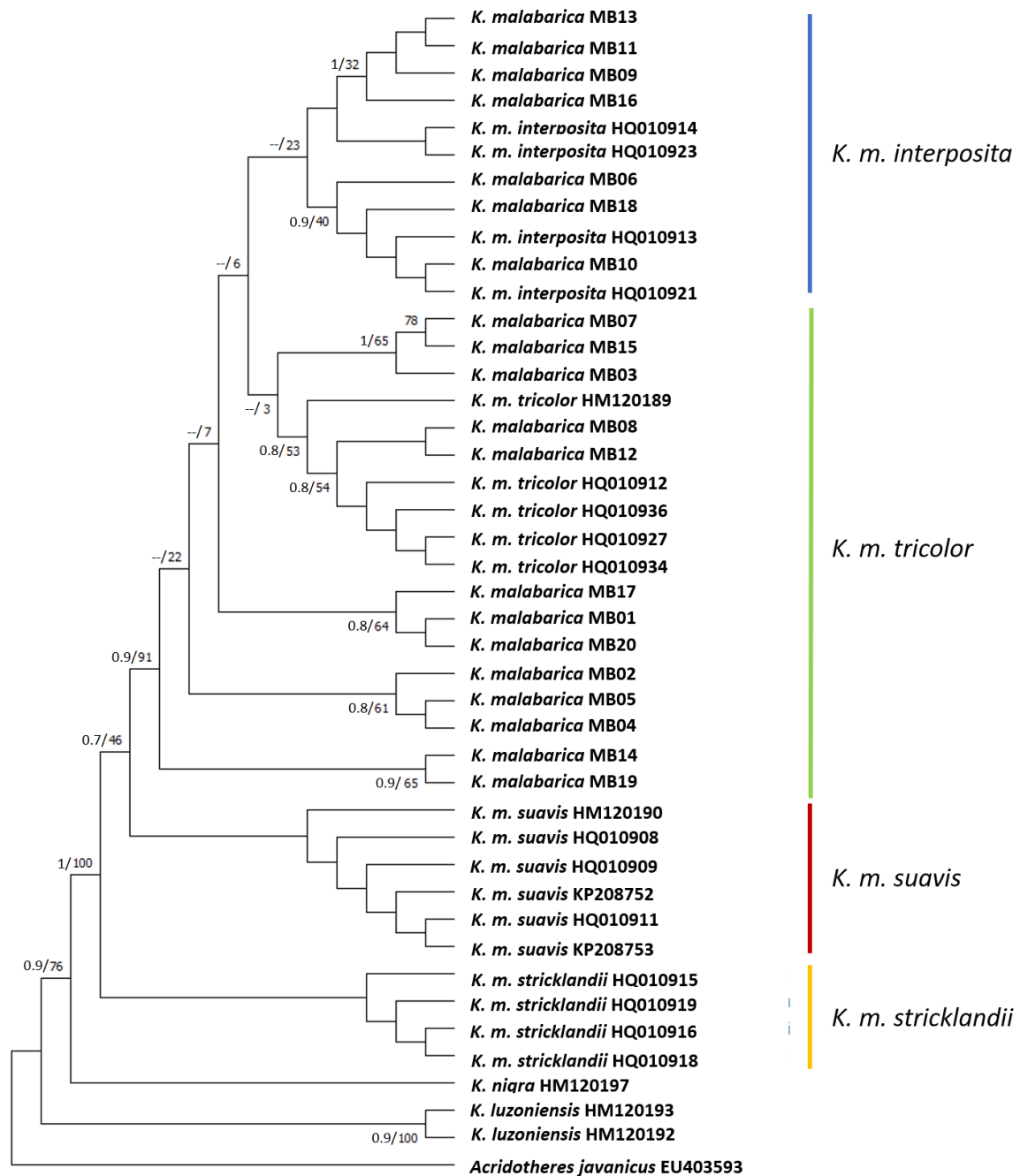
No	GenBank/ Kode sampel (GenBank/ Sample code)	Lokasi/ Asal Sampel (Location)	Referensi (References)
<i>Kittacincla malabarica</i> spp.			
1-20	/MB01-20	Penangkaran Jambi	Penelitian ini
<i>Kittacincla malabarica interposita</i>			
21	HQ010913	Vietnam	Lim <i>et al.</i> , 2011
22	HQ010914	Sagaing, Myanmar	Lim <i>et al.</i> , 2011
23	HQ010921	Vietnam	Lim <i>et al.</i> , 2011
24	HQ010923	Sagaing, Myanmar	Lim <i>et al.</i> , 2011
<i>Kittacincla malabarica tricolor</i>			
25	HM120189	Johor	Lim <i>et al.</i> , 2010
26	HQ010912	Trengganu	Lim <i>et al.</i> , 2011
27	HQ010936	Trengganu	Lim <i>et al.</i> , 2011
28	HQ010927	Trengganu	Lim <i>et al.</i> , 2011
29	HQ010934	Trengganu	Lim <i>et al.</i> , 2011
<i>Kittacincla malabarica suavis</i>			
30	HQ010908	Sarawak, Borneo	Lim <i>et al.</i> , 2011
31	HQ010909	Sarawak, Borneo	Lim <i>et al.</i> , 2011
32	HM120190	Sarawak, Borneo	Lim <i>et al.</i> , 2010
33	KP208752	Sarawak, Borneo	Chua <i>et al.</i> , 2015
34	HQ010911	Sarawak, Borneo	Lim <i>et al.</i> , 2011
35	KP208753	Sarawak, Borneo	Chua <i>et al.</i> , 2015
<i>Kittacincla malabarica stricklandii</i>			
36	HQ010915	Sabah, Borneo	Lim <i>et al.</i> , 2011
37	HQ010919	Sabah, Borneo	Lim <i>et al.</i> , 2011
38	HQ010916	Sabah, Borneo	Lim <i>et al.</i> , 2011
39	HQ010918	Sabah, Borneo	Lim <i>et al.</i> , 2011
<i>Kittacincla luzoniensis</i>			
40	HM120193	Filipina	Lim <i>et al.</i> , 2010
41	HM120192	Filipina	Lim <i>et al.</i> , 2010
<i>Kittacincla nigra</i>			
42	HM120197	Filipina	Lim <i>et al.</i> , 2010
<i>Acridotheres javanicus</i>			
43	EU403593	Jawa	Lovette <i>et al.</i> , 2008

Tabel 2. Rata-rata jarak genetik inter subspecies. Analisis dengan parameter Kimura-2 dan pairwise deletion dengan Mega X (*The average of genetic distance between subspecies. Analysis with Kimura-2 parameters and pairwise deletion with Mega X*).

Spesies/ subspecies	d	SE
<i>Kittacincla malabarica</i> (Jambi - Clade <i>tricolor</i>)	0.004	0.001
<i>Kittacincla malabarica</i> (Jambi - Clade <i>interposita</i>)	0.003	0.001
<i>Kittacincla malabarica interposita</i>	0.001	0.001
<i>Kittacincla malabarica suavis</i> (Borneo)	0.001	0.001
<i>Kittacincla malabarica tricolor</i> (Semenanjung Malaysia)	0.001	0.001
<i>Kittacincla malabarica stricklandii</i> (Borneo)	0.000	0.000
<i>Kittacincla luzoniensis</i> (Filipina)	0.077	0.011
<i>Kittacincla nigra</i> (Filipina)	n/c	n/c
<i>Acridotheres javanicus</i>	n/c	n/c

Tabel 3. Rata-rata jarak genetik intra-subspecies. Analisis dengan parameter Kimura-2 dan pair wise deletion dengan Mega X. Angka berwarna biru adalah standar deviasi (*The average of intra-subspecies genetic distance. Analysis with Kimura-2 parameter and pair wise deletion with Mega X. The blue number is the standard deviation*).

Spesies/subspecies	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>Kittacincla malabarica</i> (Jambi - <i>tricolor</i>)		0,001	0,002	0,005	0,002	0,005	0,016	0,014	0,023
<i>Kittacincla malabarica</i> (Jambi- <i>interposita</i>)	0,005		0,001	0,005	0,002	0,005	0,016	0,014	0,023
<i>Kittacincla malabarica interposita</i>	0,005	0,003		0,005	0,002	0,005	0,016	0,013	0,024
<i>Kittacincla malabarica suavis</i> (Borneo)	0,021	0,020	0,020		0,005	0,006	0,016	0,014	0,023
<i>Kittacincla malabarica tricolor</i> (Semenanjung Malaysia)	0,004	0,005	0,005	0,021		0,005	0,016	0,014	0,023
<i>Kittacincla malabarica stricklandii</i> (Borneo)	0,023	0,023	0,023	0,029	0,024		0,016	0,014	0,024
<i>Kittacincla luzoniensis</i> (Filipina)	0,143	0,144	0,144	0,143	0,141	0,144		0,017	0,026
<i>Kittacincla nigra</i> (Filipina)	0,102	0,103	0,100	0,108	0,103	0,106	0,153		0,025
<i>Acridotheres javanicus</i>	0,233	0,235	0,237	0,232	0,234	0,242	0,266	0,251	



Gambar 1. Rekonstruksi pohon filogeni dengan ML dan NJ menggunakan 841 bp gen ND2 dengan *Acridotheres javanicus* sebagai outgrup. Nilai yang ditunjukkan berturut-turut adalah posterior probability ML dan bootstrap NJ (Reconstruction of phylogeny tree with ML and NJ Using 841 bp of ND2 gene with *Acridotheres javanicus* as outgroup. The values shown are posterior probability ML and bootstrap NJ).

Tabel 4. Jumlah haplotipe dari populasi *K. malabarica* (*The number of haplotype from population of K. malabarica*)

Haplotipe	Jambi (<i>K. m. tricolor</i> dan <i>K. m. Interposita</i>)	S. Malaysia (<i>K. m. tricolor</i>)	Indochina (<i>K. m. interposita</i>)	Borneo 1 (<i>K. m. suavis</i>)	Borneo 2 (<i>K. m. stricklandii</i>)
Hap01	1	0	0	0	0
Hap02	1	0	0	0	0
Hap03	1	0	0	0	0
Hap04	1	0	0	0	0
Hap05	2	0	0	0	0
Hap06	3	0	1	0	0
Hap07	3	0	0	0	0
Hap08	2	0	0	0	0
Hap09	1	0	0	0	0
Hap10	1	0	0	0	0
Hap11	2	0	0	0	0
Hap12	1	0	0	0	0
Hap13	1	0	0	0	0
Hap14	0	0	2	0	0
Hap15	0	0	0	4	0
Hap16	0	3	0	0	0
Hap17	0	0	0	0	4
Hap18	0	0	0	1	0
Hap19	0	0	0	1	0
Hap20	0	1	0	0	0
Hap21	0	1	0	0	0
Hap22	0	0	1	0	0

Tabel 5. Jumlah haplotipe dan diversitas haplotipe dari sampel populasi *K. malabarica*. Nilai Tajima D tidak signifikan untuk semua populasi (*The number of haplotype and the diversity of haplotype from population sample K. malabarica. Tajima D number is not significant for all population*).

Lokasi	Subspesies	N sekuen	h	hd	Tajima D
Jambi	<i>K. m. tricolor</i> dan <i>K. m. interposita</i>	20	13	0.95	-1.14
Semenanjung Malaysia	<i>K. m. tricolor</i>	5	3	0.6	-1.04
Indochina (Myanmar-Vietnam)	<i>K. m. interposita</i>	4	3	0.8	0.59
Borneo 1	<i>K. m. suavis</i>	6	3	0.6	-1.23
Borneo 2	<i>K.m. stricklandii</i>	4	1	0	0
Total/ Rata-rata		39	22	0.96	-0.56

Tabel 6. Hasil perhitungan AMOVA yang menunjukkan nilai presentase variasi dari populasi Kucica Hutan. Nilai FST signifikan pada $P < 0.05$ (*The results of the AMOVA calculation showed the percentage of variation in the population of Kucica Hutan. FST value is significant at $P < 0.05$*).

Populasi (Population)	d.f.	Jumlah kuadrat (Sum of squares)	Komponen Ragam (Variance component)	Persentase Keragaman (Percentage of variation)
Antar populasi	4	140.054	5.12	80.54
Dalam populasi	34	42.1	1.23	19.46
Total	38	182.15	6.35	

Struktur genetik

Jumlah total haplotipe dari 39 individu meliputi subspecies *K. m. tricolor*, *K. m. interposita*, *K. m. suavis*, dan *K. m. stricklandii* yang berasal dari Jambi, Semenanjung Malaysia, Indochina, dan Borneo adalah 22 haplotipe. Haplotipe keenam terdiri atas populasi dari Jambi dan Indochina.

Jumlah haplotipe dengan keragaman haplotipe tertinggi berasal dari Jambi sedangkan haplotipe terendah dari Borneo untuk subspecies *K. m. stricklandii* (Tabel 5). Nilai Tajima D menunjukkan nilai negatif untuk beberapa populasi termasuk nilai rata-rata dari keseluruhan populasi ini

mengindikasikan populasi masih berekspansi menuju keseragaman namun tidak signifikan sehingga status populasi dari masing-masing subspecies cenderung netral.

Jumlah haplotipe dengan keragaman haplotipe tertinggi berasal dari Jambi sedangkan haplotipe terendah dari Borneo untuk subspecies *K. m. stricklandii* (Tabel 5). Nilai Tajima D menunjukkan nilai negatif untuk beberapa populasi termasuk nilai rata-rata dari keseluruhan populasi ini mengindikasikan populasi masih berekspansi menuju keseragaman namun tidak signifikan

sehingga status populasi dari masing-masing subspesies cenderung netral.

Hasil analisis AMOVA menunjukkan bahwa diversitas genetik dari sekuen ND2 antara *K. malabarica* dari berbagai populasi atau subspesies sangat signifikan dengan nilai $F_{ST} = 80.45$ (Tabel 6). Sedangkan variasi genetik dalam populasi sangat kecil, yaitu 19.46.

Perbandingan pasangan nilai F_{ST} antar populasi Kucing Hutan menunjukkan nilai yang beragam dan signifikan (Tabel 7). Diferensiasi populasi yang sangat jelas terdapat antar populasi

Borneo sendiri dan antara Borneo dengan Jambi, Semenanjung Malaysia, dan Indochina; dengan nilai berkisar antara 0.818–0.969. Populasi Indochina juga terdeferensiasi dari populasi Semenanjung Malaysia walaupun jaraknya lebih kecil yaitu 0.699 sehingga terindikasi adanya jejak aliran genetik. Nilai F_{ST} paling rendah terdapat antara populasi Jambi dengan Indochina dan S. Malaysia yang mengindikasikan tingginya aliran gene dari populasi Indochina dan S. Malaysia ke populasi Jambi.

Tabel 7. Hasil perhitungan nilai F_{ST} dari masing-masing populasi. Semua nilai F_{ST} signifikan pada $P < 0.05$. (Jambi: *K. m. tricolor* dan *K. m. interposita*, Indochina: *K. m. interposita*, S. Malaysia: *K. m. tricolor*, Borneo 1: *K. m. suavis*, Borneo 2: *K. m. stricklandii*) (The results of the calculation of the F_{ST} value of each population. All F_{ST} values were significant at $P < 0.05$. Jambi: *K. m. tricolor* dan *K. m. interposita*, Indochina: *K. m. interposita*, S. Malaysia: *K. m. tricolor*, Borneo 1: *K. m. suavis*, Borneo 2: *K. m. stricklandii*).

Population Pairwise F_{ST} s	Jambi	Indochina	S. Malaysia	Borneo 1	Borneo 2
Jambi	0				
Indochina	0,147	0			
S. Malaysia	0,271	0,699	0		
Borneo 1	0,818	0,933	0,937	0	
Borneo 2	0,833	0,969	0,964	0,973	0

PEMBAHASAN

Filogeni dan struktur genetik

Identifikasi secara morfologi sampai kepada tingkat subspecies Kucing Hutan cukup sulit untuk dilakukan apalagi jika penangkaran menggunakan indukan dari berbagai sumber populasi dan subspesies. *K. m. stricklandii* dan *K. m. barbouri* dari Borneo paling mudah dibedakan karena memiliki mahkota berwarna putih, sedangkan subspesies lain, seperti *K. m. interposita* (Indochina), *K. m. tricolor* (Sumatera, Semenanjung Malaysia, Jawa Barat), *K. m. suavis* (Kalimantan); perbedaannya dapat dilihat antar lain pada ukuran badan dan ekor, derajat warna hitam pada jantan dan betina, dan warna putih pada beberapa bulu ekor terluar (Roberts *et al.*, 2020; Eaton *et al.*, 2021). Oleh karena itu identifikasi secara molekuler dapat mempermudah penentuan garis keturunan sehingga status sub spesies Kucing Hutan dapat diidentifikasi

(Lim *et al.*, 2010; Lim *et al.*, 2011; Chua *et al.*, 2015).

Analisis filogeni dengan NJ dan ML menunjukkan bahwa Kucing Hutan dari Borneo (*K. m. suavis* dan *K. m. stricklandii*) terdivergensi dari subspesies lainnya dari Jambi, Semenanjung Malaysia, dan Indochina dengan jarak genetik dan nilai posterior probability serta bootstrap yang cukup tinggi. Jarak genetik paling tinggi ditunjukkan oleh dua spesies *Kittacincla* lain dari Filipina, yaitu *K. luzionensis* dan *K. nigra*. Hasil analisis ini sesuai dengan analisis dari publikasi originalnya oleh Lim *et al.* (2011) dan Chua *et al.* (2015) meskipun sudah mendapat tambahan populasi Kucing Hutan dari Jambi. Dengan demikian maka dapat disimpulkan bahwa Kucing Hutan dari penangkaran Jambi tidak ada yang masuk dalam garis keturunan Kucing Hutan dari Kalimantan.

Subspesies *K. m. tricolor* dari Semenanjung Malaysia dan *K. m. interposita* dari Myanmar - Vietnam menunjukkan jarak genetik yang rendah. Jarak genetik inter-subspesies *K. m. tricolor* dan *K. m. interposita* baik dari Jambi maupun referensi GenBank sangat kecil berkisar antara 0.3%–0.4%. Hasil ini menunjukkan bahwa tidak hanya populasi Indochina dan Semenanjung Malaysia saja yang secara filogeografi tidak dapat dibedakan, tetapi juga populasi dari Jambi. Filogeni dan filogeografi Kucica Hutan di daratan Asia Tenggara, seperti antara Indochina dan Semenanjung Malaysia, tidak menunjukkan struktur yang jelas dengan jarak genetik dan bootstrap yang rendah (Lim *et al.*, 2011; Chua *et al.*, 2015; Ng *et al.*, 2017). Penelitian populasi genomik oleh Ng *et al.*, (2017) menunjukkan bahwa diferensiasi genetik yang tinggi terdapat antara Kucica Hutan Kalimantan dan daratan utama Asia Tenggara, sementara itu populasi di daratan utama Asia Tenggara menunjukkan kecenderungan adanya aliran genetik dari populasi yang berdekatan antara Indo-Burma ke Semenanjung Malaysia (Sundaic-Singapore).

Penggabungan sekuen individu Kucica Hutandari Jambi menghasilkan pola filogeni yang cenderung kepada tipologi yang politomi dimana percabangan tidak didukung oleh nilai posterior probability dan bootstrap yang memadai. Namun demikian, pohon filogeni menunjukkan bahwa individu Kucica Hutan dari penangkaran Jambi cenderung terbagi menjadi dua garis keturunan, yaitu garis keturunan subspecies *K. m. tricolor* dan *K. m. interposita*.

Tujuh individu Kucica Hutan dari penangkaran, yaitu MB06, MB09, MB10, MB11, MB13, MB16, dan MB18 menjadi satu klaster dengan empat sekuen referensi GenBank subspecies *K. m. interposita*. Klaster *K. m. interposita* didukung dengan nilai posterior probability dari ML yang cukup tinggi, yaitu 1 dan 0.9, meskipun nilai bootstrap NJ sangat rendah. Dengan demikian, individu lain dari penangkaran Jambi dapat diidentifikasi sebagai *K. m. tricolor*.

Klaster *K. m. tricolor* terdiri atas empat subklaster. Beberapa individu dari Jambi kemungkinan menjadi satu garis keturunan dengan populasi *K. m. tricolor* dari Semenanjung Malaysia seperti individu MB08 dan MB12. Individu MB08 dan MB12 menjadi satu klaster dengan sekuen referensi dari GenBank dengan didukung nilai posterior probability yang cukup tinggi, yaitu 0.8. Subklaster lain yang terpisah dari sekuen *K. m. tricolor* referensi kemungkinan besar merupakan populasi *K. m. tricolor* yang asli dari wilayah Jambi terutama untuk individu MB14 dan MB19. Kedua individu tersebut berada di basal klaster *K. m. tricolor* dan didukung nilai posterior probability dan bootstrap

yang tinggi dan dalam satu haplotipe yang sama. Tajima D pada populasi Jambi yang bernilai negatif meskipun tidak nyata memberikan gambaran bahwa populasi menuju keseragaman karena proses *genetic drift* yang mungkin timbul karena proses pemilihan induk penangkaran.

Hasil analisis haplotipe juga memperkuat hasil analisis filogeni dimana garis keturunan dari *K. m. interposita* ditemukan pada individu hasil penangkaran. Haplotipe No. 6 terdiri atas tiga individu dari Jambi dan satu individu *K. m. interposita* dari Myanmar (Tabel 4). Adanya tipe haplotipe bersama antara populasi Indochina dan populasi Jambi memperkuat kecilnya nilai pasangan FST antara populasi Jambi - Indochina dibandingkan dengan populasi Jambi - Semenanjung Malaysia, yaitu berturut - turut 0.147 dan 0.271. Meskipun demikian nilai AMOVA yang menunjukkan perbedaan populasi yang signifikan pada angka FST 80.54 ditunjang dari tingginya nilai pasangan FST dengan populasi Kalimantan.

Implikasi Konservasi

Aplikasi gen tunggal mitokondria ND2 dapat memberikan hasil yang cukup baik dalam penelitian ini dalam mengidentifikasi status subspesies dari Kucica Hutan yang dihasilkan dari penangkaran di Jambi. Namun demikian ada keterbatasan dalam penggunaan gen tunggal mitokondria yang karena struktur populasi kurang dapat dijabarkan dengan komprehensif. Gen mitokondria tidak dapat mendeteksi secara kualitatif tingkat hibridisasi, aliran genetik dan tingkat *gene introgression/admixture* karena hanya berasal dari induk betina. Jika penangkar menyilangkan induk jantan yang berasal dari populasi yang berbeda maka jejak genetik dari induk jantan tidak akan terdeteksi pada generasi berikutnya. Oleh karena itu aplikasi gen yang lebih luas seperti genome-wide loci disarankan untuk dilakukan pada penelitian burung, terutama yang terancam punah dan berpotensi untuk dilakukan upaya penangkaran dan pelepasliaran (Baveja *et al.*, 2019; Sadanandan *et al.*, 2020; Forcina *et al.*, 2021).

Hasil identifikasi dengan ND2 mengindikasikan bahwa penangkar di Jambi menggunakan atau mendapatkan indukan dari luar Jambi. Sumber Kucica Hutan saat ini bisa berasal dari luar Sumatera seperti Semenanjung Malaysia karena populasi asli Sumatera semakin sulit didapatkan sehingga penyelundupan semakin marak (Rheindt *et al.* 2019; Leupen *et al.* 2018). Penangkar juga masih mengidentifikasi Kucica Hutan dengan nama lokal yang belum tentu mencerminkan sebaran dan subspeciesnya, serta mengkawin silangkan antara populasi dapat semakin mencemari integritas

genetik dari populasi asli karena keragaman genetik akan semakin menuju keseragaman (Iskandar dan Iskandar 2015; Putranto *et al.*, 2020).

Pembinaan penangkar oleh otoritas manajemen perlu dilakukan agar kucica yang dihasilkan benar-benar memiliki garis keturunan yang murni sehingga dapat bernilai bagi upaya konservasi. Persilangan antar populasi perlu dilakukan dengan hati-hati dengan pencatatan yang baik sehingga hasil persilangan hanya digunakan untuk keperluan komersil. Peran serta penangkar untuk tidak menggunakan Kucica Hutan hasil selundupan yang tidak jelas asal-usulnya juga dapat memberi kontribusi nyata dalam konservasi Kucica Hutan.

Kesimpulan

Analisis struktur genetika Kucica Hutan pada spesies *K. malabarica* menunjukkan bahwa populasi Kucica Hutan dari Jambi memiliki jumlah haplotipe dan diversitas haplotipe paling tinggi dibandingkan dengan populasi lainnya. Kucica Hutan yang dihasilkan oleh penangkaran Jambi berasal dari berbagai lokasi yang tersebar diseluruh wilayah Provinsi Jambi bahkan ada indukan yang berasal dari wilayah Sumatera Utara dan Aceh (Kurniawan pers comm.). Haplotipe dari subspecies lain tidak begitu beragam karena dipengaruhi oleh jumlah sampel dan kemungkinan besar berasal dari populasi yang berdekatan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada para penangkar burung di Propinsi Jambi yang telah bersedia menyediakan material penelitian serta BKSDA Jambi yang telah memberikan izin pengiriman material penelitian. Terima kasih juga disampaikan kepada Pusat Penelitian Biologi, Kedeputan Ilmu Pengetahuan Hayati – LIPI yang telah membiayai penelitian ini melalui program riset Barkoding DNA 2021.

DAFTAR PUSTAKA

Akdiatmojo, S., 2019. *Panduan Menangkarkan Murai Batu*. Agro Media Pustaka. Jakarta.

Baveja, P., Tang, Q., Lee, J. G. H., and Rheindt, F.E., 2019. Impact of genomic leakage on the conservation of the endangered Milky Stork. *Biological Conservation*, 229, pp. 59–66. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2018.11.009>

Bello, N., Francino, O., Sánchez, A., 2001. Isolation of genomic DNA from feathers. *J Vet Diagn Invest*, 13(2), pp. 162–4. DOI: 10.1177/104063870101300212. PMID: 11289214.

Black, J.M., 1991. Reintroduction and restocking: guidelines for bird recovery programmes. *Bird Conservation International*, 1, pp. 329–334.

Burivalova, Z., Lee T. M., Hua F., Lee, J. S. H., Prawiradilaga, D.M. and Wilcove, D. S., 2017. Understanding consumer preferences and demography in order to reduce the domestic trade in wild-caught birds. *Biological Conservation*, 209, pp. 423–431.

Chng, S.C. and Eaton, J.A., 2016. *In the market for extinction: Eastern and Central Java* (Tech. Rep. No. August). TRAFFIC. Petaling Jaya, Malaysia.

Chng, S.C.L., Shepherd, C.R. and Eaton, J.A., 2018. In the market for extinction: birds for sale in selected outlets in Sumatra. *TRAFFIC Bulletin*, 30, pp. 15–22.

Chua, V.L., Phillipps, Q., Lim, H.C., Taylor, S.S., Gawin, D.F., Rahman, A., Moyle, R.G. and Sheldon, F.H., 2015. Phylogeography of three endemic birds of Maratua Island, a potential archive of Bornean biogeography. *Raffles Bulletin Of Zoology*, 63, pp. 259–269.

Eaton, J.A., Sheperd, C.R., Rheindt, F.E., Harris, J.B.C., van Balen, S.B., Wilcove, D.S. and Collar, N. J., 2015. Trade driven extinctions and near-extinctions of avian taxa in Sundaic Indonesia. *Forktail*, 31, pp. 1–12.

Eaton, J.A., van Balen, B., Brickle, N.W. and Rheindt, F.E., 2021. *Birds of the Indonesian Archipelago, Greater Sundas, and Wallacea*. Lynx Edicions, Barcelona.

Excoffier, L., Laval, G., Schneider, S., 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 1, pp. 47–50.

Forcina, G., Tang, Q., Cros, E., Guerrini, M., Rheindt, F. E., and Barbanera, F., 2021. Genome-wide markers redeem the lost identity of a heavily managed gamebird. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 288(1947), rspb.2021.0285, 20210285. <https://doi.org/10.1098/rspb.2021.0285>.

Harris, J.B.C., Green, J.M.H., Prawiradilaga, D.M., Giam, X., Giyanto, Hikmatullah, D. and Wilcove, D.S., 2015. Using market data and expert opinion to identify overexploited species in the wild bird trade. *Biological Conservation*, 187, pp.51–60. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2015.04.009>.

HBW and BirdLife International, 2020. *Handbook of the Birds of the World and BirdLife International digital checklist of the birds of the world*. Version 5. Available at: http://datazone.birdlife.org/userfiles/file/Species/Taxonomy/HBW.BirdLife_Checklist_v5_Dec20 (accessed 16 Juni 2021).

Irhani, M., Yohanna and Kurniawan, P.T., 2020. Transaction records as a tool for bird trade monitoring in supporting bird's conservation and sustainable use. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 457, 012020, pp. 1–7. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/457/1/012020>.

Iskandar, J. and Iskandar, B.S., 2015. Pemanfaatan aneka ragam burung dalam kontes burung kicau dan dampaknya terhadap konservasi burung di alam: studi kasus di Kota Bandung, Jawa Barat. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*, (1)4, pp. 747–752. <https://doi.org/10.13057/psnmbi/m010411>.

IUCN/SSC., 2013. *Guidelines for Reintroductions and Other Conservation Translocations*. Version 1.0. IUCN Species Survival Commission viiii. Gland, Switzerland. pp. 57.

Jepson, P. and Ladle, R.J., 2009. Governing bird-keeping in Java and Bali: evidence from a household survey. *Oryx*, 43, pp. 364–374.

Jepson, P., Ladle, R. J. and Sujatnika., 2011. Assessing market-based conservation governance approaches: A socio-economic profile of Indonesian markets for wild birds. *Oryx*, 45, pp. 482–491.

Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Nknyaz, C., and Tamura, K., 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35, pp. 1547–1549.

Lee, J.G.H., Chng, S.C.L. and Eaton, J. A. (eds), 2016. Conservation strategy for Southeast Asian songbirds in trade. *Recommendations from the first Asian Songbird Trade Crisis Summit 2015* held in Jurong Bird Park, Singapore, 27–29 September 2015.

Leupen, B.T.C., Krishnasamy, K., Shepherd, C.R., Chng, S.C.L., Bergin, D., Eaton, J.A., Yukin, D.A., Hue, S.K.P., Miller, A., Nekaris, K.A., Nijman, V., Saaban, S. and Imron, M.A., 2018. Trade in White-rumped Shama *Kittacinla malabarica* demands strong national and international

- responses. *Forktail*, 35, pp. 1–8.
- Lim, H.C., Zou, F., Taylor, S.S., Marks, B.D., Moyle, R.G., Voelker, G., and Sheldon, F.H., 2010. Phylogeny of magpie-robins and shamas (Aves: Turdidae: *Copsychus* and *Trichixos*): Implications for island biogeography in Southeast Asia: Biogeography of magpie-robins and shamas. *Journal of Biogeography*, 37, pp. 1894–1906 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2010.02343.x>
- Lim, H.C., Rahman, M.A., Lim, S.L.H., Moyle, R.G. and Sheldon, F.H. 2011. Revisiting Wallace's haunt: Coalescent simulations and comparative niche modeling reveal historical mechanisms that promoted avian population divergence in the Malay Archipelago: Malay Archipelago avian phylogeography. *Evolution*, 65(2), pp. 321–334. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2010.01105.x>.
- Lim, H.C., Zou, F., Taylor, S.S., Marks, B.D., Moyle, R.G., Voelker, G. and Sheldon, F.H., 2010. Phylogeny of magpie-robins and shamas (Aves: Turdidae: *Copsychus* and *Trichixos*): implications for island biogeography in Southeast Asia. *Journal of Biogeography*, 37(10), pp. 1894–1906.
- Lovette, I.J., McCleery, B.V., Talaba, A.L. and Rubenstein, D.R., 2008. A complete species-level molecular phylogeny for the 'Eurasian' starlings (Sturnidae: Sturnus, Acridotheres, and allies): Recent diversification in a highly social and dispersive avian group. *Journal Molecular Phylogenetics and Evolution*, 47 (1), pp. 251–260.
- Moore, W.S., 1995. Inferring phylogenies from mtDNA variation: mitochondrial-gene trees versus nuclear-gene trees. *Evolution* 49, pp. 718–726.
- Ng, E.Y.X., Garg, K M., Low, G.W., Chattopadhyay, B., Oh, R.R.Y., Lee, J.G.H., and Rheindt, F.E., 2017. Conservation genomics identifies impact of trade in a threatened songbird. *Biological Conservation*, 214, pp. 101–108. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2017.08.007>.
- O'Connell, D.P., Kelly, D.J., Lawless, N. O'Brien, K., Marcaigh, A. Karya, K. Analuddin, and Marples, N.M., 2019. A sympatric pair of undescribed white-eye species (Aves: Zosteropidae: *Zosterops*) with different origins. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 186, pp. 701–724
- Price, M.N., Dehal, P.S. and Arkin, A.P., 2010. FastTree 2—approximately Maximum-Likelihood trees for large alignments. *PLoS ONE*, (3), e9490. [doi:10.1371/journal.pone.0009490](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009490).
- Putranto, H.D., Brata, B. and Yumiati, Y., 2020. Ex-situ population of white-rumpedshama (*Copsychus malabaricus*): studies of density, distribution and bird keepers in Bengkulu, Sumatra. *Biodiversitas*, 21(3), pp. 865–874. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210303>
- Rheindt, F.E., Baveja, P., Ferasyi, T.R., Nurza, A., Rosa, T.S., Haminuddin, Ramadhan, R. and Gwee, C.Y., 2019. The extinction-in-progress in the wild of the Barusan Saham *Copsychus (malabaricus) melanurus*. *Forktail*, 35, pp. 28–35.
- Rentschlar, K.A., Miller, A.E., Lauck, S.L., Rodiansyah, Bobby, M., Muflihati and Kartikawati, 2020. A silent morning: The songbird trade in Kalimantan, Indonesia. *Tropical Conservation Science*, 11(1), pp. 1–10.
- Roberts, G.E., Male, T.D. and Conant, S. 2020. White-rumped Shama (*Copsychus malabaricus*), version 1.0. In: Billerman, S.M. Ed. *Birds of the World*. Cornell Lab of Ornithology, Ithaca. New York. <https://doi.org/10.2173/bow.whrsha.01>.
- Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez-DelBarrio, J.C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S. E., and Sánchez-Gracia, A. 2017. DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Molecular Biology and Evolution*, 34(12), pp. 3299–3302. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx248>.
- Sadanandan, K.R., Low, G.W., Sridharan, S., Gwee, C.Y., Ng, E.Y.X., Yuda, P., Prawiradilaga, D.M., Lee, J.G.H., Tritto, A. and Rheindt, F.E. 2020. The conservation value of admixed phenotypes in a critically endangered species complex. *Scientific Reports*, 10(1), article number 15549. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72428-2>
- Shakya, S.B., Haryoko, T., Burner, R.C. Prawiradilaga, D. and Sheldon, F.H., 2018. Preliminary assessment of community composition and phylogeographic relationships of the birds of the Meratus Mountains, southeastern Borneo, Indonesia. *Bulletin of the British Ornithologists' Club*, 138(1), pp. 45–66.
- Shakya, S.B., Irfham, M., Brady, M.L., Haryoko, T., Fitriana, Y.S. Johnson, O., Rahman, M.A., Robi, N.J., Moyle, R.G., Prawiradilaga, D.M. and Sheldon, F.H., 2020. Observations on the relationships of some Sundaic passerine taxa (Aves: Passeriformes) previously unavailable for molecular phylogenetic study. *Journal of Ornithology*: in press. (Published online 24 March 2020). <https://doi.org/10.1007/S10336-020-01766-9>
- Sorenson, M.D., Ast, J.C., Dimcheff, D.E., Yuri, T. and Mindell, D.P., 1999. Primers for a PCR-based approach to mitochondrial genome sequencing in birds and other vertebrates. *Journal Molecular Phylogenetics and Evolution*, 12(2), pp. 105–114.