

**Divergensi DNA Mitokondria pada Burung Pijantung Kecil (*Arachnothera longirostra*) dari Indonesia
(Divergence of Mitochondrial DNA in the Little Spiderhunter (*Arachnothera longirosta*) Birds from Indonesia)**

Siti Nuramaliati Priyono, Mohamad Irham, & Dwi Astuti

Bidang Zoologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI
Gd. Widyasatwaloka, CSC, Jl. Jakarta-Bogor KM 46, Cibinong. Jawa Barat
E-mail: asdwi2016@gmail.com

Memasukkan: Januari 2017, **Diterima:** Maret 2017

ABSTRACT

A total of 781 base pairs of mitochondrial DNA ND2 gene was analyzed to investigate their divergence in the *Arachnothera longirostra* (Nectariniidae) birds in Jawa and Sumatera islands of Indonesia. Blood and tissue samples were collected from 27 birds consisted of 8 samples from T.N.G. Halimun, 6 samples from T.N.G. Gede Pangrango, 6 samples from T.N. Ujung Kulon, 1 sample from Dieng (Jawa), and 6 samples from Jambi (Sumatera). Total genomic DNA was extracted from each sample and used in PCR to amplify a single fragment of mDNA ND2 gene. Their DNA sequence data were compared with those from Johor (Malaya Peninsula) and Sabah-Sarawak Borneo (GenBank). There were 61 variable sites included 34 parsimony sites and 27 sequence haplotypes. Mean genetic distance or sequence divergences within bird populations were ranged from the lowest (0.25 %) for Ujung Kulon to the highest (0.76 %) for G. Gede Pangrango; while mean genetic distance between populations were of 1.67% to 2.82 % for Jawa island vs Jambi (Sumatera), and 1.06 to 2.09 % for Jawa vs Borneo. Phylogenetic NJ tree showed that there were two main clades, *i.e.* 1) birds of Jambi (Sumatra), Johor (Malay Peninsula), Sabah-Sarawak (Borneo), and Ujung Kulon (Java), and 2) birds of G. Gede Pangrango, G. Halimun, and Dieng (Java). Past geologic event may influenced genetic divergence occurred within the populations. Moreover, geographic features such as mountain may played role for population isolation as showed on the Little Spiderhunter bird from G. Halimun, G. Gede Pangrango and Dieng.

Key words: mitochondrial DNA, ND2 gene, *Arachnothera longirostra*, genetic divergence

ABSTRAK

Sebanyak 781 pasang basa dari DNA mitokondria gen ND2 dianalisis untuk mengungkap divergensinya pada burung Pijantung kecil (*Arachnothera longirostra*; Nectariniidae) di Pulau Jawa dan Sumatera Indonesia. Sampel darah dan jaringan dikoleksi dari 27 burung terdiri dari 8 sampel dari T.N.G. Halimun, 6 sampel dari T.N.G. Gede Pangrango, 6 sampel dari T.N. Ujung Kulon, 1 sampel dari Dieng (Jawa), and 6 sampel dari Jambi (Sumatera). Terdapat 61 situs bervariasi dimana 34 diantaranya memiliki nilai parsimony, dan 27 haplotipe. Divergensi genetik antara individu di dalam populasi berkisar antara 0,25% (Ujung Kulon) sampai 0,76% (Gede Pangrango), sedangkan antar populasi berkisar antara 1,67% - 2,82% untuk Jawa-Jambi dan 1,06%-2,82% untuk Jawa-Kalimantan (Borneo). Pohon filogeni berdasarkan *neighbor-joining* (NJ) menunjukkan dua kluster utama, yaitu kluster Jambi (Sumatera), Johor (Semenanjung Malaya), Sabah – Sarawak (Kalimantan/Borneo), dan Ujung Kulon (Jawa), dan kluster Gede Pangrango, Halimun dan Dieng. Faktor geologis masa lampau kemungkinan berperan mempengaruhi divergensi genetik dari populasi. Lebih jauh lagi, gunung-gunung atau dataran tinggi dapat mempengaruhi isolasi geografis burung Pijantung Kecil (*A. longirostra*) seperti yang ditunjukkan populasi dari Halimun, Gede Pangrango dan Dieng.

Kata Kunci: DNA mitokondria, gen ND2, *Arachnotera longirostra*, divergensi genetik

PENDAHULUAN

Pijantung Kecil (*Arachnothera longirostra*) adalah anggota dari famili Nectariniidae yang memiliki sebaran mulai dari Asia Selatan di India bagian barat (Goa, Tamil dan Kerala) Bangladesh, Bhutan, Bangladesh; seluruh area Indo-China dan Asia Tenggara, kecuali wilayah Indonesia Tengah (Sulawesi dan Nusa Tenggara) dan

Timur (Maluku dan Papua) (Cheke & Mann 2017, MacKinnon *et al.* 2010; Myers 2009; Dickinson 2003). Pijantung kecil terbagi menjadi beberapa populasi-populasi kecil yang memiliki perbedaan karakter morfologi yang cukup jelas.

Pijantung Kecil terbagi antara 12-13 anak jenis (Paynter 1967, Cheke & Mann 2017, Sibley & Monroe 1990). Wilayah India hanya memiliki satu anak jenis, yaitu *A. l. longirostra*. Anak jenis ini

adalah *type locality* dari Pijantung Kecil (Deignan 1963). Wilayah Indo-China sampai Semenanjung Malaysia didiami oleh tiga anak jenis, yaitu *A. l. sordida*, *A. l. pallida*, dan *A. l. cinireicollis*. Filipina memiliki tiga anak jenis, yaitu *A. l. dilutior*, *A. l. flammifera*, dan *A. l. randi*. Anak jenis Pijantung Kecil paling banyak berada di Indonesia berjumlah tujuh anak jenis, yaitu *A. l. cinireicollis*, *A. l. zarhina*, *A. l. niasensis*, *A. l. rothschildi*, *A. l. atita*, *A. l. buettikoferi* dan *A. l. prillwitzii*.

Diversifikasi populasi Pijantung Kecil diperkirakan sejalan dengan sejarah geologi Asia Tenggara. Aliran gen diperkirakan masih terjadi selama masa *Last Glacial Maximum* (LGM) ketika semua pulau-pulau masih terhubung dengan daratan utama sampai pertengahan Holocene sebelum air laut naik (Rahman *et al.* 2010; Sathiamurthy & Voris. 2006). Aliran gen ini juga lebih mudah terjadi mengingat Pijantung Kecil mendiami banyak relung mulai dari hutan sekunder dataran rendah sampai hutan pegunungan (Irham 2015; Prawiradilaga dkk. 2002). Oleh karena itu pada situasi saat ini dimana secara geografis subpopulasi Sumatera, Kalimantan, Indochina-Semenanjung Malaya, dan Filipina terpisah oleh lautan yang menyebabkan isolasi total sejak akhir masa Holocene menunjukkan diversifikasi genetik yang tidak banyak kecuali untuk beberapa anak jenis dari Filipina (Rahman *et al.* 2010). Diversifikasi genetik ini juga terbukti tidak cukup kuat untuk memisahkan populasi-populasi anak jenis dari Pijantung Kecil menjadi jenis tersendiri, karena mereka tetap menjadi satu *clade* ketika digabungkan dengan jenis Pijantung lainnya (Moyle *et al.* 2011).

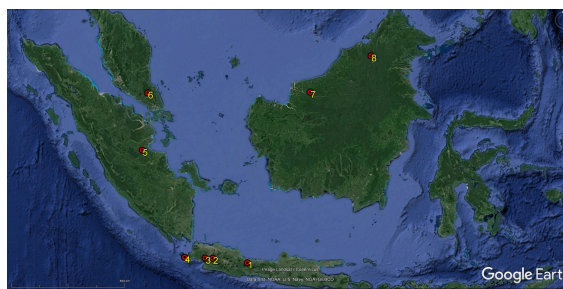
Penanda DNA mitokondria diketahui menjadi indikator dari struktur populasi (Zink & Barrowclough 2008) dan sudah banyak membuktikan peranannya di dalam berbagai studi tentang keragaman genetik (Chen *et al.* 2006; Rahman *et al.* 2010; Kitanishi *et al.* 2013; González *et al.* 2015; Astuti & Prijono 2016, Astuti 2017) dan juga filogeografinya (*i.e.* Matshuba *et al.* 2014, Kitanishi *et al.* 2016). Informasi mengenai hasil analisis molekuler DNA mitokondria pada kelompok burung ini pada populasi-populasi di Semenanjung Malaysia dan Thailand, Kalimantan (Borneo) dan Filipina sudah dilaporkan oleh peneliti sebelumnya (Lim

& Sheldon 2011; Rahman *et al.* 2010; Moyle *et al.* 2011). Belum ada informasi genetik dari burung *A. longirostra* ini di Indonesia, khususnya di pulau Jawa dan Sumatra, dan divergensinya dengan yang ada di pulau Kalimantan (Borneo). Oleh karena itu, pada penelitian ini dianalisis sekuen DNA dari gen ND2 yang merupakan bagian dari DNA mitokondria pengkode protein untuk mengetahui penyebaran genetiknya pada populasi-populasi di Indonesia, khususnya di pulau Jawa dan Sumatra .

BAHAN DAN CARA KERJA

Penelitian ini menggunakan sampel darah dan jaringan dari burung Pijantung kecil (*Arachnoptera longirostra*) yang dikoleksi dari beberapa wilayah di Pulau Jawa (T.N. Gunung Halimun, T.N. Gunung Gede Pangrango, T.N. Ujung Kulon, Pegunungan Dieng) dan Sumatra (Jambi). Sampel yang dianalisis berjumlah 27 terdiri dari 8 (T.N.G. Halimun), 6 (T.N.G. Gede Pangrango), 6 (T.N. Ujung Kulon), 1 (Dieng), dan 6 (Jambi). Sampel dari lokasi lain (Johor, Sarawak, dan Sabah) tidak diekstraksi DNANYa di sini tetapi data sekuen DNANYa diambil dari GenBank (JF956963, JF956937, JF956939, JF956940, JN126640, dan HQ010879) dan digunakan dalam analisis selanjutnya. Peta lokasi asal sampel disajikan pada Gambar 1.

Setiap sampel darah atau jaringan diekstraksi DNANYa menggunakan DNeasy tissue & blood kits (QIAGEN) dengan mengikuti standar protokol yang disediakan. Larutan DNA yang diperoleh, selanjutnya digunakan dalam proses PCR untuk mengamplifikasi fragmen DNA target dari gen ND2 pada mitokondria. Proses PCR meng



Gambar 1. Lokasi asal sampel *Arachnoptera longirostra*: 1. Dieng, 2. Gede Pangrango, 3. Gunung Halimun, 4. Ujung Kulon, 5. Jambi, 6. Johor, 7. Sarawak, 8. Sabah .

gunakan sepasang primer nukleotida dan pada kondisi temperatur mengikuti Slikas *et al.* 2000. Selanjutnya dilakukan proses sekuensing terhadap target fragmen gen ND2 yang telah diamplifikasi. Proses sekuensing tidak dilakukan sendiri tetapi menggunakan jasa dari laboratorium lain (First-Base, base-asia.com/dna-sequencing-services). Semua data sekuen dari masing-masing sampel/individu burung kemudian disejajarkan menggunakan Perangkat lunak ProSeq. Perangkat lunak Mega5.2 digunakan dalam analisis untuk mengetahui jarak genetik atau divergensi sekuen, Model Test, dan mengkonstruksi pohon filogeni berdasarkan *neighbor-joining* (NJ). Jenis-jenis burung dan data sekuen DNA dari *outgroup* *A. robusta* (JF 956962) dan *A. crassirostris* (JF 956981) diambil dari GenBank, sedangkan data sekuen dari *Nectaria jugularis* diperoleh pada penelitian ini. Jumlah basa yang mengandung nilai informasi dan situs yang bervariasi dianalisis menggunakan perangkat lunak DnaSP.

HASIL

Amplifikasi DNA melalui PCR menghasilkan fragmen sepanjang 1200 pb tetapi data panjang DNA yang digunakan dalam analisis selanjutnya adalah 1023 pb. Data sekuen DNA ND2 pada burung dari Dieng hanya 781 pb, maka untuk analisis selanjutnya hanya menggunakan 781 pb dengan 260 codon. Analisis Model test pada Mega5.2 untuk data sekuen DNA tersebut menghasilkan model HKY+G. Dari analisis ini diperoleh komposisi basa gen ND2 pada seluruh posisi codon pada burung *A. longirostra* ini adalah 26,0 % (timin), 31,10 % (sitosin), 31,09 % (adenin), dan 11,00 % (guanin). Seperti pada umumnya sifat DNA mitokondria yang mengkode protein, basa timin tertinggi pada

posisi codon kedua (40 %) dan terendah pada codon ketiga (17 %). Sedangkan sitosin relatif sama pada setiap posisi codon berkisar 30 – 33 %, adenin pada codon ketiga tertinggi (46 %) dan codon kedua terendah (17 %), dan guanin tertinggi pada codon kedua (17 %) dan terendah pada codon ketiga (4 %). Rasio basa transisi dengan tranversi (t1/tv) adalah 2,47 %. Rasio kecepatan transisi/transversi basa-basa purin adalah 4,617 dan 3,86 untuk basa-basa pirimidin.

Secara keseluruhan, dari 781 pb sekuen DNA ND2 ini terdapat 61 situs yang bervariasi yang mengandung 34 situs yang memiliki nilai parsimoni. Jika Semua individu dari semua populasi/ lokasi di Jawa dan Sumatra dibandingkan, maka terdapat 27 haplotipe yang berbeda. Sebagai pembanding, populasi di Sabah dan Sarawak dari 6 individu memiliki haplotipe yang sama (sekuen DNA-nya sama) sedangkan satu individu dari Johor memiliki haplotipe lain.

Analisis secara terpisah untuk masing-masing populasi/lokasi, hasilnya adalah masing-masing lokasi yang berbeda memiliki jumlah situs basa bervariasi dan jumlah haplotipe yang berbeda. Lokasi Jambi, 6 individu memiliki 6 haplotipe (HA1Jb1- HA1Jb6) dengan 7 situs basa yang bervariasi (Tabel 1). Lokasi Ujung Kulon, 6 individu memiliki 6 haplotipe (HA1UK1-Ha1UK6) dengan 6 situs basa bervariasi (Tabel 2). Lokasi G. Gede Pangrango, 6 individu memiliki 6 haplotipe (Ha1GP1-Ha1GP6) dan 15 situs basa bervariasi (Tabel 3). Lokasi G. Halimun, 8 individu memiliki 8 haplotipe (HA1GH1-Ha1GH8) dengan 18 situs basa bervariasi (Tabel 4). Sebagai pembanding, pada populasi Sarawak dan Sabah tidak terdapat situs yang bervariasi dan dari 5 individu hanya memiliki 1 haplotipe atau haplotipenya sama. Posisi/situs variasi nukleotida ditampilkan pada Tabel 1 sampai dengan Tabel 4.

Tabel 1: Variasi dan situs substitusi nukleotida, serta haplotipe pada *A. longirostra* di Jambi, Sumatera

No.	Individu	Situs nukleotida							Haplotipe
		2	3	4	4	5	6	7	
		6	9	2	7	3	4	4	
		0	4	0	2	8	4	4	
1	<i>A. longirostra</i> _da28Jb	T	C	C	C	C	T	C	HA1Jb1
2	<i>A. longirostra</i> _ (da29nd2-Jb)	.	T	.	.	.	C	T	HA1Jb2
3	<i>A. longirostra</i> _ (da31nd2-Jb)	C	C	.	HA1Jb3
4	<i>A. longirostra</i> _ (da26nd2-Jb)	.	.	.	T	.	C	.	HA1Jb4
5	<i>A. longirostra</i> _ (da27nd2-Jb)	.	.	T	.	T	C	.	HA1Jb5
6	<i>A. longirostra</i> _ (da30nd2-Jb)	C	.	HA1Jb6

Tabel 2. Variasi dan situs nukleotida, serta haplotipe pada *A. longirostra* di Ujung Kulon, Jawa Barat.

No.	Individu	Situs nukleotida					Haplotipe
		1	2	3	5	7	
1	<i>A. longirostra</i> _(da39nd2-UK)	C	T	C	C	.	HAIUK1
2	<i>A. longirostra</i> _(da40nd2-UK)	T	T	T	.	.	HAIUK2
3	<i>A. longirostra</i> _(da41nd2-UK)	.	T	.	T	.	HAIUK3
4	<i>A. longirostra</i> _(da42nd2-UK)	.	T	.	.	T	HAIUK4
5	<i>A. longirostra</i> _(da44nd2-UK)	.	C	.	.	T	HAIUK5
6	<i>A. longirostra</i> _(da45nd2-UK)	.	T	.	.	.	HAIUK6

Tabel 3. Variasi dan situs nukleotida, serta haplotipe pada *A. longirostra* di T.N.G. Gede Pangrango Jawa Barat

No.	Individu	Situs nukleotida													Haplotipe		
		7	8	9	1	1	1	4	7	1	3	7	3	4		5	
1	<i>A. longirostra</i> _(da33nd2-GP)	G	T	T	C	A	C	G	T	T	C	C	G	T	C	C	HAIGP1
2	<i>A. longirostra</i> _(da35nd2-GP)	.	.	C	.	C	T	G	C	G	G	.	.	.	G	.	HAIGP2
3	<i>A. longirostra</i> _(da34nd2-GP)	C	T	.	T	.	C	C	HAIGP3
4	<i>A. longirostra</i> _(da36nd2-GP)	A	.	.	A	C	C	.	T	G	G	T	HAIGP4
5	<i>A. longirostra</i> _(da37nd2-GP)	A	T	C	.	G	C	.	C	.	.	.	HAIGP5
6	<i>A. longirostra</i> _(da38nd2-GP)	.	C	.	.	C	T	.	T	.	G	.	.	C	.	.	HAIGP6

Jarak genetik antar individu (intraspesifik) pada masing-masing lokasi di P. Jawa berkisar antara 0,0025 (Ujung Kulon) hingga 0,0076 (Gede Pangrango), sedangkan pada Jambi (Sumatra) adalah 0,0010. Pada populasi P. Dieng, G. Gede Pangrango, dan G. Halimun memiliki jarak genetic individu yang lebih tinggi dari Ujung Kulon dan Jambi. Pada populasi Dieng, tidak diketahui jarak genetik antara individu karena sampel yang dianalisis hanya 1 individu burung.

Antara populasi, jarak genetik terendah (0,0054) terjadi antara populasi Johor (Malaysia) dengan Jambi (Sumatra) dan tertinggi (0,0284) antara populasi Johor dengan G. Gede Pangrango. Antara populasi di Jawa (Ujung Kulon, G. Gede Pangrango, G. Halimun, dan Dieng) dengan populasi di Sumatra (Jambi) berjarak genetik dari 0,0167 hingga 0,0282, dan populasi di Jawa dengan populasi di Borneo (Sabah dan Sarawak) sebesar 0,0106 hingga 0,0209 (Tabel 5). Jarak

genetik antara jenis (inter species) *Arachnothera* berkisar antara 0,1597 (*A. robusta* vs *A. crassirostris*), 0,1604-0,1775 (*A. longirostra* vs *A. robusta*), dan 0,1751-1888 (*A. longirostra* vs *A. crassirostris*) (Tabel 6).

Analisis filogeni

Pohon filogeni dikonstruksi berdasarkan metode neighbor-joining (NJ) dan maximum-likelihood. Kedua metode tersebut menghasilkan topologi pohon filogeni yang sama dengan nilai bootstap yang hampir sama. Gambar 2 menampilkan pohon filogeni berdasarkan neighbor-joining dengan memasukkan *outgroup species* dan Gambar 3 menampilkan pengelompokan tanpa menggunakan *outgroup species*.

Pohon filogeni memperlihatkan monofili dari *A. longirostra*. Masing-masing individu dari lokasi yang sama mengelompok sesuai kelompoknya dengan nilai bootstap 77% (Jambi), 99 % (Ujung Kulon), 99 % (G. Gede Pangrango), dan 76 %

Tabel 4. Variasi dan situs nukleotida, serta haplotipe pada *A. longirostra* di T.N.G. Halimun, Jawa Barat

No.	Individu	Situs nukleotida								Haplotipe	
		1	3	3	5	5	6	6	6		
		1	9	0	3	5	1	3	3	9	
		3	3	5	9	7	7	1	3	6	
1	<i>A. longirostra</i> _(da16nd2-GH)	T	C	A	A	A	C	C	A	A	HAIGH1
2	<i>A. longirostra</i> _(da17nd2-GH)	A	C	.	.	HAIGH2
3	<i>A. longirostra</i> _(da18nd2-GH)	.	C	.	.	A	T	C	C	C	HAIGH3
4	<i>A. longirostra</i> _(da19nd2-GH)	A	HAIGH4
5	<i>A. longirostra</i> _(da22nd2-GH)	A	.	C	.	.	HAIGH5
6	<i>A. longirostra</i> _(da23nd2-GH)	A	HAIGH6
7	<i>A. longirostra</i> _(da24nd2-GH)	.	.	C	.	.	.	C	.	.	HAIGH7
8	<i>A. longirostra</i> _(da25nd2-GH)	.	.	C	C	A	.	C	.	.	HAIGH8

Tabel 5. Jarak genetik antar individu pada masing-masing populasi *A. longirostra* berdasarkan 781 pb gen ND2

No	Populasi	Jumlah individu	Jarak genetik (divergensi sekuen)
1	Jambi	6	0,0034 (0,34 %)
2	Ujung Kulon	6	0,0025 (0,25 %)
3	Gede Pangrango	6	0,0076 (0,76 %)
4	Gunung Halimun	8	0,0057 (0,57 %)
5	Dieng	1	n/c
6	Sabah	4	0,0001 (0,01 %)

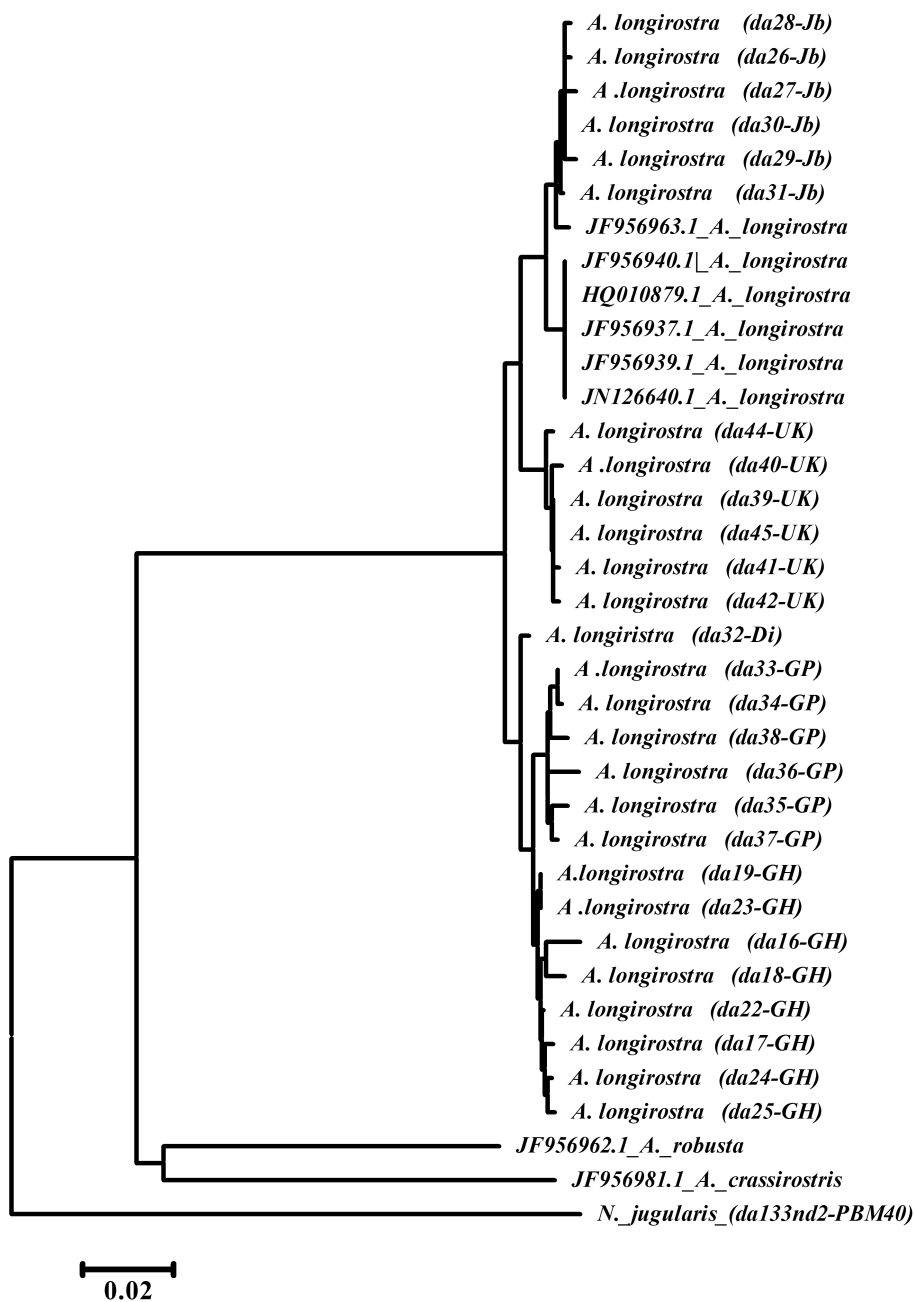
Tabel 6. Jarak genetik (% divergensi) antar populasi /lokasi burung *A. longirostra* berdasarkan 781 pb

No. Populasi	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 Jambi									
2 Ujung Kulon	0.0167								
3 Gede Pangrango	0.0282	0.0191							
4 G. Halimun	0.0265	0.0193	0.0111						
5 Dieng	0.0233	0.0203	0.0127	0.0085					
6 Sabah	0.0106	0.0191	0.0258	0.0237	0.0209				
7 Sarawak	0.0106	0.0191	0.0258	0.0237	0.0209	0.0001			
8 Johor	0.0054	0.0165	0.0284	0.0264	0.0236	0.0078	0.0078		
9 <i>A. robusta</i>	0.1725	0.1748	0.1725	0.1701	0.1604	0.1775	0.1775	0.1702	
10 <i>A. crassirostris</i>	0.1888	0.1817	0.1857	0.1849	0.1751	0.1851	0.1851	0.1852	0.1597

(G. Halimun).

Pohon filogeni membentuk dua kluster besar; yaitu kluster I terdiri dari populasi Jambi (Sumatra), Johor, Borneo, dan Ujung Kulon yang didukung nilai *bootstrap* 85 %, dan kluster II yang terdiri dari populasi di T.N.G. Gede Pangrango, T.N.G. Halimun, dan Dieng dengan nilai *bootstrap* 87 %.

Kluster I secara rinci menggambarkan, bahwa populasi burung *A. longirostra* di Jambi mengelompok dengan individu dari Johor dengan nilai *bootstrap* 77 % dan burung dari kedua lokasi (Jambi + Johor) dekat dengan burung dari lokasi Serawak/Sabah (Borneo) dengan nilai *bootstrap* 86 %. Populasi di Ujung Kulon mengelompok dengan populasi dari Jambi-Johor-Boreneo yang



Gambar 2. Pohon filogeni berdasarkan 781 pb sekuen DNA dari gen ND2 pada burung *A. longirostra*.

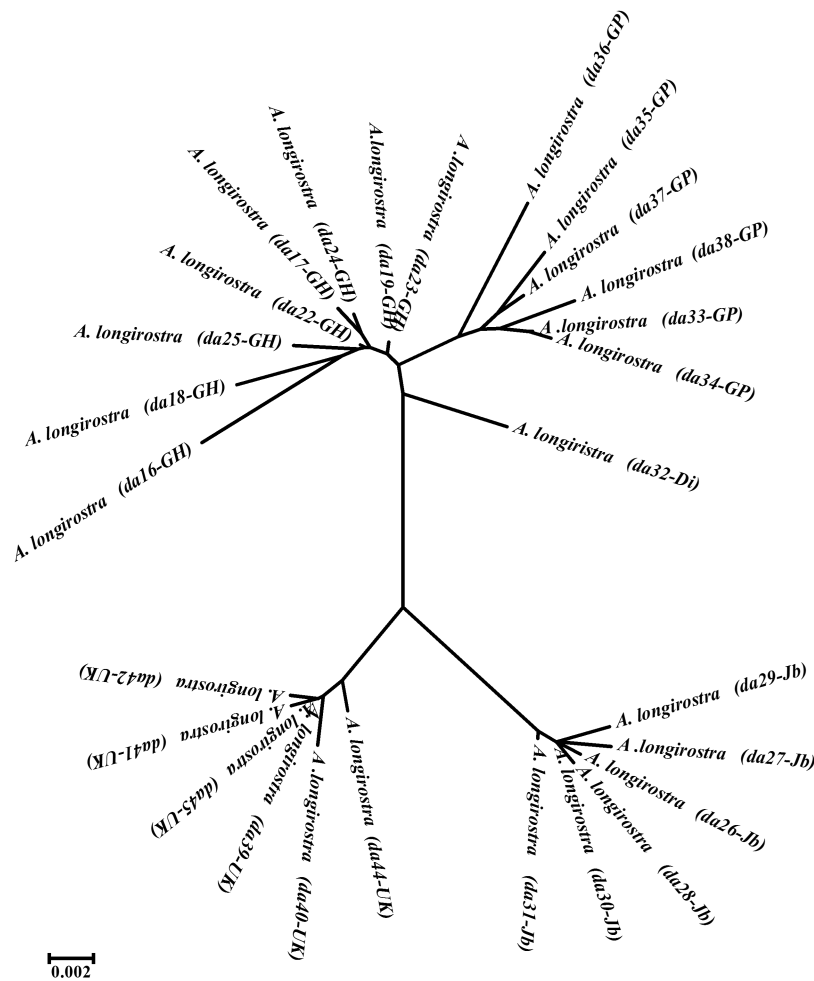
didukung dengan nilai bootstrap 88 %. Kluster II menggambarkan bahwa populasi burung di T.N.G. Gede Pangrango dekat dengan populasi burung dari G. Halimun, didukung nilai bootstrap 87 %. Dan individu dari Dieng mengelompok dengan populasi Gede Pangrango dan G. Halimun.

PEMBAHASAN

Karakter pada sekuen DNA gen ND2 yang

meliputi komposisi basa nukleotida dan adanya codon pertama hingga ketiga pada penelitian ini menggambarkan bahwa karakter ini sesuai dengan karakter gen pengkode protein pada mitokondria seperti yang dilaporkan oleh peneliti sebelumnya pada kelompok burung lain maupun pada burung *A. longirostra* pada populasi/lokasi/pulau yang lain (Moyle *et al.* 2011).

Masing-masing individu di dalam masing-



Gambar 3. Pengelompokan dari individu-individu *A. longirostra* dari berbagai populasi berdasarkan 781 pb dari gen ND2, tanpa *outgroup species*

masing populasi pada penelitian ini memiliki haplotipe DNA gen ND2 yang berbeda yang menunjukkan bahwa tidak ada individu yang memiliki urutan DNA yang identik. Haplotipe antara populasi satu dengan populasi lainnya juga berbeda. Situs nukleotida yang bervariasi merupakan gambaran terjadinya substitusi basa nukleotida. Masing-masing populasi di sini memiliki perbedaan jumlah situs dan komposisi basa nukleotida yang bervariasi, menyebabkan haplotipe DNA dan variasi genetik juga berbeda. Jumlah situs dan komposisi nukleotida yang bervariasi pada populasi G. Gede Pangrango dan G. Halimun relatif lebih banyak dibandingkan dengan populasi Ujung Kulon dan Jambi. Ini menunjukkan bahwa diantara individu-individu burung *A. longirostra* pada populasi G. Gede Pangrango dan G. Halimun lebih bervariasi pada tingkat karakter genetiknya dibandingkan

dengan yang di Ujung Kulon dan Jambi. Jika dilihat dari lokasinya, G. Gede Pangrango dan G. Halimun merupakan dataran tinggi, sedangkan T.N. Ujung Kulon dan Jambi merupakan dataran rendah. Belum ada penjelasan atau penelitian yang melaporkan bahwa keragaman atau variasi genetik suatu populasi burung atau satwa lainnya pada dataran tinggi lebih tinggi dari dataran rendah. Kondisi yang demikian sesuai dengan dilaporkan adalah bahwa kekayaan/keragaman jenis (*species richness*) hayati berkorelasi dengan ketinggian lokasi dan puncak dari kekayaan jenis pada ketinggian antara 1500 dan 3250 m (a.l. Grau *et al.* 2007; Baniya *et al.* 2010; Acharya *et al.* 2011) dan pada burung (Allouche *et al.* 2012; Hortal *et al.* 2013; Paudel & Sipos 2014). Kemungkinannya, individu-individu burung yang diambil sebagai sampel dan diteliti pada penelitian ini memiliki tingkat kedekatan tetua/

keturunan berbeda antara populasi satu dengan lainnya; pada populasi yang memiliki keragaman genetik lebih tinggi kemungkinan individu-individunya berasal dari tetua yang berbeda atau tetua yang hubungan kedekatannya lebih jauh. Ini juga dapat dijelaskan dari nilai jarak genetik atau persen divergensi antara individu pada masing-masing populasi. Divergensi (persentase dari nilai jarak genetik) pada populasi G. Gede Pangrango (0,76 %) dan G. Halimun (0,57 %) lebih tinggi dari populasi Jambi (0,34 %) dan Ujung Kulon (0,25 %). Sebagai pembandingan, pada populasi di Sabah (Borneo) divergensinya hanya 0,01 % (Moyle *et al.* 2011).

Divergensi antara populasi adalah 0,54% antara populasi Johor (Malaysia) dan Jambi (Sumatra) dan 2,84 % antara Johor dan populasi G. Gede Pangrango. Divergensi antara populasi-populasi di Jawa adalah 0,85 % (Dieng vs G. Halimun), 1,93 % (Dieng vs Gede Pangrango), dan 1,11 % (Gede Pangrango vs G. Halimun). Divergensi ND2 pada populasi *A. longirostra* di Borneo hanya 0,6 % dari yang di Malaysia Peninsula, 1,3 % dari Vietnam, 5,2 – 5,5 % dari Palawan, dan sekitar 16 % dari Philippina bagian Selatan (Moyle *et al.* 2011). Nilai divergensi ini mengasumsikan bahwa meskipun burung-burung dari berbagai lokasi ini secara taksonomi masih dalam jenis yang sama tetapi memiliki nilai divergensi yang sangat beragam, bahkan ada yang tinggi. Jenis burung *Arachnothera* yang lain, misalkan *A. affinis modesta* di Borneo (dataran rendah Timur Laut dan lainnya) divergensinya 4,5% dari dataran rendah di Sumatera dan Sarawak, 5,4% dari Jawa, sementara individu dari Sumatera 0,3 – 0,6% dari dataran rendah di Sarawak (Borneo) (Moyle *et al.* 2011).

Burung-burung di Jambi (Sumatera) memiliki nilai divergensi yang lebih kecil terhadap yang di Johor, Borneo (Sarawak dan Sabah), dan Ujung Kulon (Jawa) dibandingkan dengan divergensi terhadap yang di lokasi pulau Jawa (G. Gede Pangrango, G. Halimun, dan Dieng). Juga secara filogeni burung-burung dari Jambi membentuk kluster bersama dengan Johor, Borneo, dan Ujung Kulon, dan terpisah dari burung-burung dari Jawa (G. Gede Pangrango, G. Halimun, dan Dieng). Burung-burung dari lokasi Jawa (G. Gede Pangrango, G. Halimun, dan Dieng) mengelompok, hal ini sejalan dengan konsep batasan anak jenis,

karena ditinjau dari sisi taxonomi burung *A. longirostra* di Jawa masih dalam anak jenis yang sama dan secara geografis berada pada daerah pegunungan atau dataran tinggi di pulau yang sama. Tetapi, burung-burung dari Ujung Kulon yang juga terletak di P. Jawa, secara filogeni terpisah dari burung-burung dari populasi Jawa lainnya meskipun masih dalam anak jenis yang sama.

Faktor geografis kemungkinan memiliki peranan dalam hal ini. Populasi burung di Ujung Kulon pada awalnya memiliki kesamaan tetua dan atau masih mendapatkan aliran gen dari burung-burung di Sumatra pada saat pulau tersebut terhubung selama periode tingkat air laut rendah pada zaman Pleistocene (Voris 2000). Hal ini dapat terjadi pada populasi tersebut karena habitat pada dataran rendah tidak banyak halangan geografis yang dapat mendorong proses isolasi spesies. Namun demikian, hasil yang ditunjukkan pada populasi Pijantung Kecil menunjukkan adanya potensi halangan geografis lain yang dapat mengisolasi aliran gen. Populasi kluster dua yang meliputi Halimun, Gede Pangrango dan Dieng adalah populasi-populasi yang menempati habitat pegunungan. Oleh karena itu, kemungkinan pegunungan menjadi penghalang geografis sehingga memunculkan filogeni yang berbeda dari status taxonominya. Ini sejalan dengan yang terjadi pada beberapa jenis burung di Filipina yang menggambarkan bahwa tingkat variasi diferensiasi DNA mitokondria dan perbedaan genetik di dalam suatu pulau tidak selalu sesuai dengan gambaran batasan anak jenis burung (Sánchez-González *et al.* 2015). Efek isolasi pegunungan di Jawa juga dapat dilihat pada jenis-jenis endemik Jawa (Mees 1996). Juga, pada tingkat populasi, burung-burung *A. longirostra* di Borneo di dataran rendah pada daerah Timur Laut secara genetik bahkan secara morfologi dapat terpisah dari populasi di dataran rendah lainnya di Borneo (Moyle *et al.* 2005; Sheldon *et al.* 2009; Lim *et al.* 2010, 2011; Moyle *et al.* 2011).

KESIMPULAN

Burung Pijantung Kecil (*Arachnothera longirostra*) pada penelitian ini memiliki divergensi gen ND2 terendah pada populasi Ujung Kulon dan tertinggi pada populasi G.

Gede Pangrango. Populasi burung di Jambi (Sumatra) terhadap populasi di Johor memiliki divergensi genetik terendah. Populasi burung di dataran tinggi di P. Jawa terhadap populasi di Borneo divergensinya relatif lebih rendah dibandingkan dengan divergensinya terhadap populasi di Sumatra. Burung-burung dari populasi Jambi (Sumatra) bersama dengan populasi Johor (Semenanjung Malaya), Sabah–Sarawak (Kalimantan/Borneo) dan Ujung Kulon (Jawa) membentuk kluster yang terpisah dari kluster yang terdiri dari populasi burung G. Gede Pangrango, G. Halimun dan Dieng. Faktor geologis di masa lampau dan gunung-gunung atau dataran tinggi kemungkinan mempengaruhi divergensi genetik dan isolasi geografis burung Pijantung Kecil (*A. longirostra*).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Proyek DIPA Tematik Pusat Penelitian Biologi tahun 2015, melalui dukungan bahan kimia dari Sub Kegiatan Pemetaan Fauna Jawa. Terima kasih kepada para peneliti maupun staf lainnya atas kerjasamanya dan sumbangsinya berupa sampel pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Acharya, KP., OR. Vetaas & HJB. Birks. 2011. Orchid species richness along Himalayan elevational gradients. *Journal Biogeography*. 38: 1821–1833.
- Allouche, O., M. Kalyuzhn, G. Moreno-Rueda, M. Pizarro & R. Kadmon. 2012. Area–heterogeneity trade off and the diversity of ecological communities. *Proceedings Natal Academic Science*. USA 109, 17495–17500.
- Astuti, D. 2017. Struktur genetik populasi burung betet jawa (*Psittacula alexandri alexandri*) berdasarkan sekuen DNA mitokondria gen ND2. *Jurnal Biologi Indonesia*. 13 (1): 117 – 124.
- Astuti, D & SN. Prijono. 2016. Nucleotide variation in the NADH dehydrogenase subunit-2 gene sequences of lorikeet (genus *Trichoglossus*) birds from Sulawesi Island, Indonesia. AIP Conference Proceeding of The 4th International Conference on Biological Science. Towards the sustainable use of biodiversity in a changing environment: From basic to applied research. 1744: 0200141–0200145. AIP Publishing.
- Baniya, CB., T. Solhøy, Y. Gauslaa & MN. Palmer. 2010. The elevation gradient of lichen species richness in Nepal. *The Lichenologist* 42: 83–96.
- Cheke, R. & C. Mann. 2017. Little Spiderhunter (*Arachnothera longirostra*). In: del Hoyo, J., Elliott, A., Sargatal, J., Christie, D.A. & de Juana, E. (eds.). *Handbook of the Birds of the World Alive*. Lynx Edicions, Barcelona. (retrieved from <http://www.hbw.com/node/60090> on 5 January 2017).
- Chen, SY., ZY. Duan, T. Sha, J. Xiangyu, SF. Wu & YP. Zhang. 2006. Origin, genetic diversity, and population structure of Chinese domestic sheeps. *Gene*. 376: 216 – 223.
- Deignan, H.G. 1963. Checklist of the Birds of Thailand. *Bulletin U.S. National Museum*. 226: 208.
- Grau, O., JA. Grytnes & HJB. Birks. 2007. A comparison of altitudinal species richness patterns of bryophytes with other plant groups in Nepal, Central Himalaya. *Journal of Biogeography*. 34: 1907–1915.
- Irham, M. 2015. Komunitas Burung Bawah Tajuk di Hutan Perbatasan, Kabupaten Nunukan, Kalimantan Utara. *Zoo Indonesia*. 24(1): 1 – 14.
- Kitanishi, S., M. Nishio, K. Uehara, R. Ogawa, T. Yokoyama & K. Edo. 2013. Pattern of genetic diversity of mitochondrial DNA within captive population of the endangered Itasenpara bitterling: implication for a reintroduction program. *Environmental Biology of Fish*. 96: 567- 572.
- Kitanishi, S., A. Hayagawa, K. Takamura, J. Nakajima, Y. Kawaguchi, N. Onikura & T. Mukai. 2016. Phylogeography of *Opsariichthys plathypus* in Japan based on mitochondrial DNA sequences. *Ichthyological Research*. Doi:10.1007/s10228-016-0522-y.
- Lim, HC. & FH. Sheldon. 2011. Multilocus analysis of the evolutionary dynamics of rainforest bird populations in Southeast Asia. *Molecular Ecology* 20: 3414–3438

- MacKinnon, J., Phillips, K. & Bas van Balen. 2010. *Burung-Burung Di Sumatera, Jawa, Bali Dan Kalimantan (Termasuk Sabah, Sarawak, Dan Brunei Darussalam)*. Puslit Biologi-LIPI & Birdlife-IP.
- Matshuba, H., S. Yoshimi, M. Inoue & H. Hatta. 2014. Origin of *Tanakia limbata* in Ehime Prefecture indicated by phylogeography analysis of mitochondrial cytochrome b gene sequences. *Japan Journal of Ichthyology*. 61: 89-96.
- Mees. GF. 1996. *Geographical Variation in Birds of Java*. Publication of The Nuttall Ornithological Club no. 26, Museum of Comparative Zoology-Harvard University.
- Moyle, OG., SS. Taylor, CH. Oliveros, HC. Lim, CL. Haines, MA. Rahman & FH.Sheldon. 2011. Diversification of An Endemic Southeast Asian Genus: Phylogenetic Relationships of The Spiderhunters (Nectariniidae: *Arachno-thera*). *Auk*. 128 (4):777-788.
- Myers, S. 2009. *Birds of Borneo: Brunei, Sabah, Sarawak, and Kalimantan*. Princeton University Press. Dickinson, E.C. (eds 2003. *The Howard and Moore Complete Checklist of the Birds of the World Third Edition*. London: Christopher Helm.
- Paynter, RA. Jr. 1967. Check-list of birds of the world: A continuation of the work of James L. Peters. Eds. Cambridge: *Museum of Comparative Zoology*. 12: 282-285.
- Paudel PK. & J. Sipos. 2014. Conservation status affects elevational gradient in bird diversity in the Himalaya: A new perspective. *Global Ecology and Conservation*. 2: 338-348.
- Prawiradilaga, DM., M. Alwin, W. Satrio & K. Agus. 2002. Monitoring the bird community at G. Kendeng-G. Halimun National Park. *Edisi Khusus Biodiversitas Taman Nasional Gunung Halimun. Berita Biologi*. 6 (1): 57-66.
- Rahman, MA., DFA. Gawin & C. Moritz. 2010. Patterns of genetic Variation in The Little Spiderhunter (*Arachnothera longirostra*) in Southeast Asia. *The Raffles Bulletin of Zoology*. 58(2): 381-390.
- Sánchez-González, LA., AP. Hosner & RG. Moyle. 2015. Genetic Differentiation in Insular Lowland Rainforests: Insights from Historical Demographic Patterns in Philippine Birds. *PLoS ONE* 10(8): e0134284. doi:10.1371/journal.pone.0134284.
- Sathiamurthy, E. & HK. Voris. 2006. Maps of Holocene sea level transgression and submerged lakes on the Sunda shelf. The Natural History of *Journal of Chulalongkorn University*, Supplement 2: 1-43.
- Sheldon, RH, DJ. Lohman, HC. Lim, F. Zao, SM. Goodman, DM. Prawiradilaga, K. Winker, TM. Braile & RG. Moyle. 2009. Phylogeography of the magpie-robin species complex (Aves: Turdidae: *Copsychus*) reveals a Philippine species, an interesting isolating barrier and unusual dispersal patterns in the Indian Ocean and Southeast Asia. *Journal of Biogeography* 36:1070-1083.
- Sibley, CG. & BL. Monroe, Jr. 1990. *Distribution and taxonomy of birds: A study in molecular evolution*. Yale University Press, New Haven.
- Slikas, B., IB. Jones & SR. Derrickson. 2000. Phylogenetic relationships of Micronesian white-eyes based on mitochondrial sequence data. *Auk*, 117, 355-365.
- Voris, HK. 2000. Maps of the Pleistocene sea levels in Southeast Asia: shorelines, river systems and time durations. *Journal of Biogeography* 27:1153-1167.
- Zink, RM. & GF. Barrowclough. 2008. Mitochondrial DNA undersiege in avian phylogeography. *Molecular Ecology* 17: 2107-2121.