

**FILOGENI KATAK RANIDAE DI SEMENANJUNG  
MALAYSIA BERDASARKAN MORFOLOGI DAN  
GEN 16S rRNA MITOKONDRIA**

**ZALINA BINTI AWANG**

**UNIVERSITI SAINS MALAYSIA**

**2013**

**FILOGENI KATAK RANIDAE DI SEMENANJUNG  
MALAYSIA BERDASARKAN MORFOLOGI DAN  
GEN 16S rRNA MITOKONDRIA**

**Oleh**

**ZALINA BINTI AWANG**

**Tesis yang diserahkan untuk memenuhi keperluan bagi**

**Ijazah Sarjana Sains**

**Disember 2013**

## **PENGHARGAAN**

Dengan nama Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang.

Alhamdulillah setinggi-tinggi kesyukuran dipanjat ke hadrat Ilahi kerana dengan izin-Nya tesis ini dapat disiapkan dengan lengkap dan sempurna.

Di kesempatan ini saya ingin mengucapkan jutaan terima kasih kepada penyelia utama; Prof Dr Ibrahim Jaafar dan penyelia bersama; Prof Siti Azizah Mohd Nor yang banyak memberi nasihat, tunjuk ajar, idea-idea dan cadangan sepanjang tempoh kajian ini dijalankan. Juga ucapan terima kasih kepada Universiti Sains Malaysia kerana menyediakan peruntukan melalui Skim Penyelidikan Siswazah Universiti Penyelidikan (PRGS), Kementerian Pengajian Tinggi Malaysia atas tajaan Program Pembiayaan MyMaster dan Pusat Pengajian Sains Kajihayat serta Pusat Pengajian Pendidikan Jarak Jauh, Universiti Sains Malaysia kerana menyediakan kemudahan dari segi penggunaan makmal dan peralatan penyelidikan.

Seterusnya, ucapan terima kasih kepada pembantu penyelidik dan rakan seperjuangan di Makmal Amfibia, PPPJJ; En. Shara, Amir, Seventh, Hisyam, Acap, Wan, Amit, Mira dan Yap kerana banyak membantu, meringankan beban dan menceriakan suasana sepanjang tempoh aktiviti persampelan katak. Untuk rakan-rakan di Makmal 308; Dr Tan Min Pau, K. Naz, K. Adel, Su Yin, Lim, Semah, Balkhis, Jam, Danial, Faisal, Dilla, Lutfi, Ana, Sue dan Ktie terima kasih di atas segala sokongan moral, bimbingan dan tunjuk ajar yang telah diberikan.

Akhir sekali, untuk keluarga tercinta, jutaan terima kasih tak terhingga terutamanya kepada ayahanda Hj Awang Mat Hassan, bonda Hjh Fatimah Muda, kekanda dan adinda di atas segala sokongan dan dorongan yang berterusan sehinggalah kajian ini selesai.

## ISI KANDUNGAN

<b>PENGHARGAAN</b>	ii
<b>ISI KANDUNGAN</b>	iii
<b>SENARAI JADUAL</b>	vii
<b>SENARAI RAJAH</b>	x
<b>SENARAI PLAT</b>	xii
<b>SENARAI RINGKASAN</b>	xiv
<b>ABSTRAK</b>	xvi
<b>ABSTRACT</b>	xviii
<b>BAB 1</b>	<b>PENGENALAN</b>
1.1	Kajian biodiversiti amfibia di Malaysia 1
1.2	Objektif 7
<b>BAB 2</b>	<b>TINJAUAN BACAAN</b>
2.1	Biodiversiti dan taburan global famili Ranidae 8
2.2	Taksonomi dan morfologi katak ranid 13
2.2.1	Genus <i>Amolops</i> 14
	i. <i>Amolops larutensis</i> (Boulenger, 1899) 14
2.2.2	Genus <i>Odorrana</i> 15
	i. <i>Odorrana hosii</i> (Boulenger, 1882) 15
2.2.3	Genus <i>Hylarana</i> 19

i.	<i>Hylarana labialis</i> (Boulenger, 1887)	19
ii.	<i>Hylarana banjarana</i> (Leong & Lim, 2003)	20
iii.	<i>Hylarana erythraea</i> (Schlegel, 1837)	20
iv.	<i>Hylarana luctuosa</i> (Peter, 1871)	21
v.	<i>Hylarana laterimaculata</i> (Barbour & Noble, 1916)	21
vi.	<i>Hylarana glandulosa</i> (Boulenger, 1882)	22
vii.	<i>Hylarana signata</i> (Gunther, 1872)	22
viii.	<i>Hylarana nigrovittata</i> (Blyth 1856)	23
ix.	<i>Hylarana nicobariensis</i> (Stoliczka, 1870)	24
2.3	Kajian morfometrik secara am	30
2.4	Penanda molekul DNA dalam kajian filogenetik	32
2.5	DNA mitokondria	33
2.6	Gen 16S ribosomal RNA (rRNA) dalam kajian amfibia	34
<b>BAB 3</b>	<b>BAHAN DAN KAEDAH</b>	
3.1	Persampelan dan pengenalpastian spesies	36
3.2	Kaedah pengukuran morfometrik	41
3.3	Analisis data morfometrik	46
3.4	Prosedur umum dalam analisis filogenetik katak ranid menggunakan penanda gen mitokondria 16S rRNA.	48
3.5	Penyediaan dan pengawetan sampel	48
3.6	Pengekstrakan DNA genomik	51
3.7	Analisis kualiti dan kuantiti DNA.	52
3.8	Amplifikasi DNA melalui kaedah PCR (Polimerase Chain Reaction)	53

3.9	Elektroforesis gel agarosa	54
3.10	Penulenan produk PCR	55
3.11	Penjukkan DNA	56
3.12	Analisis DNA mitokondria	56
<b>BAB 4</b>	<b>KEPUTUSAN</b>	
4.1	Analisis data kuantitatif morfometrik	59
4.1.1	Analisis Regresi Pelbagai (Multiple Regression) untuk dimorfisme seks	59
4.1.2	Statistik deskriptif	60
4.1.3	Analisis Univariat dalam perbandingan morfologi katak Ranid	63
4.1.4	Analisis Komponen Prinsipal (PCA)	67
4.1.5	Analisis Fungsi Diskriminan (DFA)	71
4.2	Analisis mitokondria DNA 16S rRNA dalam menentukan hubungan filogenetik katak ranid di Malaysia	80
4.2.1	Pengekstrakan DNA	80
4.2.2	Kualiti dan kuantiti DNA genom	80
4.2.3	Amplifikasi PCR terhadap segmen mtDNA 16S rRNA	82
4.2.4	Analisis penjukkan DNA	83
4.2.5	Ujian penggantian ketepuan (Substitution saturation test)	84
4.2.6	Variasi genetik intraspecies dan interspecies katak ranid	86
4.2.7	Analisis hubungan filogenetik katak ranid di Semenanjung Malaysia	89

4.3	Analisis variasi morfometrik dan genetik terhadap populasi <i>Hylarana labialis</i> .	98
4.3.1	Analisis morfologi	98
4.3.2	Analisis jujukan DNA mitokondria 16S rRNA	104
4.3.3	Filogeni <i>Hylarana labialis</i> di Semenanjung Malaysia	107
<b>BAB 5</b>	<b>PERBINCANGAN</b>	
5.1	Kajian morfometrik ke atas empat spesies katak ranid di Semenanjung Malaysia.	110
5.1.1	Kelimpahan spesies katak ranid	110
5.1.2	Dimorfisme seks bagi ciri morfometrik	116
5.1.3	Perbezaan ciri morfometrik di antara empat spesies katak ranid	119
5.2	Hubungan filogenetik katak ranid (genus <i>Amolops</i> , <i>Odorrana</i> , <i>Hylarana</i> ) berdasarkan DNA mitokondria 16S rRNA separa di Semenanjung Malaysia.	124
5.3	Variasi morfometrik dan genetik populasi <i>Hylarana labialis</i> (Boulenger, 1887) di Semenanjung Malaysia.	130
5.4	Pendekatan kaedah morfometrik vs molekul	133
<b>BAB 6</b>	<b>KESIMPULAN</b>	136
	<b>RUJUKAN</b>	138
	<b>LAMPIRAN</b>	
	Lampiran A	
	Lampiran B	
	Lampiran C	
	<b>PENERBITAN/ PERSIDANGAN</b>	

## SENARAI JADUAL

Jadual		Halaman
3.1	Lokasi, koordinat dan kawasan persampelan untuk analisis morfometrik	38
3.2	Spesies, lokasi, dan saiz sampel untuk analisis morfometrik	42
3.3	Senarai pengukuran ciri morfometrik dan deskripsi ciri yang diukur.	45
3.4	Sampel katak daripada spesies Ranidae yang digunakan dalam analisis filogenetik	50
3.5	Jujukan primer 16S rRNA (Matsui et al., 2005)	54
3.6	Profil tindakbalas PCR	54
4.1	Min SVL $\pm$ sisihan piawai (SD), min nisbah (R) ukuran badan $\pm$ sisihan piawai (SD) dan julat bagi 15 variabel bagi empat spesies katak ranid.	61
4.2	Nilai P untuk perbandingan variabel dalam empat spesies katak ranid. ANOVA digunakan untuk SVL dan Kruskal-Wallis H untuk variabel nisbah ukuran bahagian badan.	64
4.3	Nilai P untuk perbandingan variabel antara spesies katak ranid. Ujian SNK untuk SVL dan Ujian Mann-Whitney U dengan kaedah Bonferroni untuk untuk variabel nisbah ukuran bahagian badan.	65
4.4	Komponen Matriks Berputar selepas pemutaran Varimax katak ranid jantan.	68
4.5	Komponen Matriks Berputar selepas pemutaran Varimax katak ranid betina.	70



4.6	Matrik korelasi di dalam kumpulan bagi 15 variabel untuk katak ranid (A) jantan dan (B) betina. Bacaan yang dihitamkan menunjukkan nilai korelasi ( $r$ ) = > 0.5.	72
4.7	Nilai eigen, peratusan varians, peratusan kumulatif, pekali korelasi kanonikal, dan Wilk's Lamda dalam Analisis Fungsi Diskriminan.	74
4.8	Pekali fungsi diskriminan kanonikal piawai untuk katak ranid (A) jantan dan (B) betina. Bacaan yang dihitamkan merupakan pekali fungsi yang diutamakan.	77
4.9	Keputusan klasifikasi ahli kumpulan bagi katak ranid.	78
4.10	Spektropotometer bagi kualiti dan kuantiti DNA genom katak ranid di Semenanjung Malaysia.	81
4.11	Purata variasi jarak genetik intraspesies (tulisan tebal) dan interspesies katak ranid bersama dengan outgroup	88
4.12	Jumlah jujukan 16S rRNA katak yang digunakan dalam analisis filogenatik	90
4.13	Karakter data untuk mtDNA 16S rRNA	89
4.14	Purata komposisi bes bagi 63 jujukan mtDNA 16S rRNA katak ranid di Semenanjung Malaysia	89
4.15	Perbandingan morfometrik <i>Hylarana labialis</i> daripada sembilan (9) populasi di Semenanjung Malaysia. Nilai SVL (min $\pm$ sisihan piawai (SD), mm), median (nisbah (R) variabel kepada SVL) dan julat (minimum-maksimum). Populasi FRIM* adalah data yang telah direkodkan oleh Inger et al. (2009).	100
4.16	Lokasi, koordinat, kawasan dan jumlah sampel yang telah berjaya diamplifikasi menggunakan DNA mitokondria 16S rRNA.	105

4.17	Jarak genetik intrapopulasi (tulisan tebal) dan interpopulasi (termasuk jujukan DNA daripada genebank) <i>H. labialis</i> di Semenanjung Malaysia.	106
------	--	-----

## SENARAI RAJAH

Rajah		Halaman
3.1	Peta lokasi persampelan di Semenanjung Malaysia (disunting daripada <a href="http://www.malaysiamap.org/">http://www.malaysiamap.org/</a> )	37
3.2	Rangka kerja untuk pengenalpastian spesies ranid melalui kaedah morfometrik	41
3.3	Ciri-Ciri pembolehubah untuk morfometrik tradisional	44
3.4	Carta aliran analisis DNA.	49
4.1	Plot serakan Faktor 1 dan Faktor 2 bagi empat spesies katak ranid jantan.	68
4.2	Plot serakan Faktor 1 dan Faktor 2 bagi empat spesies katak ranid betina.	70
4.3	Plot serakan bagi Analisis Fungsi Diskriminan Fungsi 1 dan Fungsi 2 dalam katak ranid.	79
4.4	Plot ketepuan untuk jujukan separa 16S rRNA menggunakan DAMBE V 5.3.10 (Xia & Xie, 2001). Bilangan anggaran penggantian nukleotida transisi dan tranversi di plot melawan jarak Kimura-2-parameter ( $K_{k80}$ )	85
4.5	Hubungan filogenetik katak ranid di Semenanjung Malaysia menggunakan kaedah neighbour-joining (NJ)	94
4.6	Pohon Maximun-Parsimony katak ranid di Semenanjung Malaysia menggunakan mtDNA 16S rRNA (457 bp). Panjang pohon ialah 664 dengan consistency index (CI)= 0.48 dan retention index (RI)= 0.89. Nilai bootstrap 50% rule consensus ditunjukkan pada cabang pohon filogenetik.	95
4.7	Hubungan katak ranid di Semenanjung Malaysia menggunakan	96

- kaedah Maximun-Likelihood (ML). Nilai bootstrap (100 replikasi) ditunjukkan pada pohon filogenetik.
- 4.8 Hubungan katak ranid di Semenanjung Malaysia menggunakan Kaedah Inferens Bayesian. Nilai Bayesian posterior probabilities (BPP) yang melebihi 95% ditunjukkan pada pohon filogenetik dengan tanda bulatan. 97
- 4.9 Pohon consensus maximun-parsimony bagi semua sampel *H. labialis*, *H. raniceps* dan Outgroup menggunakan mtDNA 16S rRNA. Nilai bootstrap (%) ditunjukkan pada setiap cabang pohon untuk mewakili nilai sokongan bagi analisis NJ (1000 replikasi) dan MP (500 replikasi). Dorsal =● (berbintik) 109

## SENARAI PLAT

Plat		Halaman
2.1	<i>Amolop larutensis</i> (a, b, c) yang diperolehi di Semenanjung Malaysia. Terdapat variasi dari segi morfologi dalam kumpulan spesies ini.	17
2.2	<i>Odorrana hosii</i>	18
2.3	<i>Hylarana labialis</i> (a, b, c) yang diperolehi di Semenanjung Malaysia. Terdapat variasi dari segi morfologi dalam kumpulan spesies ini.	25
2.4	<i>Hylarana banjarana</i>	26
2.5	<i>Hylarana erythraea</i>	26
2.6	<i>Hylarana luctuosa</i>	27
2.7	<i>Hylarana laterimaculata</i>	27
2.8	<i>Hylarana glandulosa</i>	28
2.9	<i>Hylarana signata</i>	28
2.10	<i>Hylarana nigrovittata</i>	29
2.11	<i>Hylarana nicobariensis</i>	29
4.1	DNA genomik yang diekstrak dengan menggunakan kit pengekstrakan tisu DNeasy (QIAGEN). Lorong M=Penanda DNA (Lambda Hind III). Lorong 1-3: Kualiti ekstrak DNA bagi spesies katak ranid.	81

- 4.2 Hasil amplifikasi mtDNA 16S rRNA melalui tindakbalas PCR. 83  
M ialah penanda Fermentas 100 bp DNA Ladder Plus, -ve adalah kawalan negatif dalam amplifikasi DNA. Lorong 1-12 merupakan sampel DNA katak daripada famili Ranida yang berjaya diamplifikasi. Fragmen DNA yang dihasilkan dalam anggaran 500 bp.
- 4.3 Hasil penulenan daripada produk PCR sampel DNA spesies 83  
katak Ranid (lorong 1-12). M ialah penanda Fermentas 100 bp DNA Ladder Plus.

## SENARAI RINGKASAN

ha	hektar
Kb	kilobes
mtDNA	DNA mitokondria
DNA	asid deoksiribonukleik
PCR	tindak balas berantai polymerase
ml	mililiter
EtOH	etanol
bp	pasangan bes
mg	milligram
μl	mikroliter
EtBr	etidium bromida
OD	kepadatan optik
mM	milimolar
ng	nanogram
dNTP	deoksiribonukleotida trifosfat
w/v	berat per volum
Ti/Tv	transisi/tranversi
16S rRNA	16 subunit kecil ribosomal RNA
COI	sitokrom c oksidase subunit I
Cyt b	sitokrom b
SVL	panjang muncung ke anus
MW	lebar mulut

TY	panjang betis
HL	panjang kepala
SL	panjang muncung
ED	diameter mata
HW	lebar kepala
IND	jarak antara lubang hidung
UEMD	jarak antara kelopak mata
ICD	jarak interchantal
FLL	panjang dari bahu ke hujung jari
LAL	panjang lengan
HAL	panjang tapak tangan ke hujung jari
HLL	panjang dari anus ke hujung jari kaki
FL	panjang tapak kaki



**FILOGENI KATAK RANIDAE DI SEMENANJUNG MALAYSIA  
BERDASARKAN MORFOLOGI DAN GEN 16S rRNA MITOKONDRIA.**

**ABSTRAK**

Kajian morfologi dan filogenetik telah dijalankan ke atas sebelas (11) spesies katak ranid daripada tiga genus (*Amolops*, *Odorrana*, *Hylarana*) yang terdapat di Semenanjung Malaysia. Spesies yang dikaji adalah *Amolops larutensis*, *Odorrana hosii*, *Hylarana labialis*, *H. banjarana*, *H. erythraea*, *H. luctuosa*, *H. laterimaculata*, *H. glandulosa*, *H. signata*, *H. nigrovittata* dan *H. nicobariensis*. Gabungan pendekatan morfometrik dan genetik molekul digunakan untuk mengkaji dan menentukan hubungan filogeni di antara katak ranid. Sampel yang terhad hanya membolehkan empat spesies katak ranid iaitu *A. larutensis*, *O. hosii*, *H. erythraea* dan *H. labialis* dikaji dalam analisis morfometrik. Lima belas (15) ukuran ciri-ciri telah diperolehi daripada 121 individu katak dewasa. Perbezaan antara jantina katak menunjukkan bahawa ciri SVL adalah signifikan. Statistik analisis multivariat dapat membeza dan mengklasifikasikan kesemua empat spesies ke dalam kelas masing-masing dengan pertindihan yang minimum. *Odorrana hosii* adalah yang paling berbeza kerana bentuk dan saiz yang besar. Di antara jantina, saiz dan bentuk pada bahagian kepala adalah bahagian diskriminasi yang terbaik dalam membezakan spesies. Keputusan morfologi telah dilengkapi lagi dengan pendekatan genetik molekul menggunakan separa (490 bp) gen 16S rRNA mitokondria yang berevolusi perlahan untuk menganggarkan capahan genetik dan mengkaji hubungan filogenetik daripada 108 sampel yang mewakili 11 spesies katak ranid. Nilai capahan genetik (Kimura-2 parameter) menunjukkan bahawa *A. larutensis* mempunyai variasi genetik intraspesies yang tertinggi sebanyak 6.8% diikuti oleh *H. labialis* (2.3%) dan *H.*

*nicobariensis* (2.1%). Analisis Neighbour Joining (NJ), Maximum Parsimony (MP), Maximum Likelihood (ML) dan Bayesian Inference (BI) menghasilkan topologi yang serupa dan menyokong kuat himpunan monofiletik tiga genus katak ranid. *Amolops larutensis* menunjukkan penstrukturan genetik dengan dua kelompok yang berbeza memisahkan populasi Pantai Timur daripada Pantai Barat. *Hylarana labialis* pula tidak menunjukkan penstrukturan geografi antara Utara, Tengah dan Timur Semenanjung Malaysia.

**PHYLOGENY OF RANIDAE FROGS IN PENINSULAR MALAYSIA BASED ON  
MORPHOLOGY AND MITOCHONDRIAL 16S rRNA GENE.**

**ABSTRACT**

A morphological and phylogenetic study was conducted on eleven (11) ranid frog species from three genera (*Amolops*, *Odorrana*, *Hylarana*) found in Peninsular Malaysia. The species investigated were *Amolops larutensis*, *Odorrana hosii*, *Hylarana labialis*, *H. banjarana*, *H. erythraea*, *H. luctuosa*, *H. laterimaculata*, *H. glandulosa*, *H. signata*, *H. nigrovittata* and *H. nicobariensis*. The combination of morphometric and molecular genetics approaches were employed to investigate and to determine phylogeny relationships among ranid frogs. Due to limited sample, only four species of ranid frogs namely *A. larutensis*, *O. hosii*, *H. erythraea*, and *H. labialis* were investigated in the morphometric analysis. Fifteen (15) measurements of characteristics were obtained from 121 adult individual of ranid frogs. The differences in characteristics between sexes of frogs and the results revealed that SVL was significantly different. Multivariate statistical analysis was able to differentiate and classify all four species into their classes respectively with minimal overlap. *Odorrana hosii* was the most differentiated because of its large size and shape. For both sexes, size and shape of the head region were the best discriminating region in differentiating among the species. Morphological findings were complemented by molecular genetic approaches using partial (490 bp) of the slow evolving mitochondrial 16S rRNA gene to estimate genetic distance and to investigate the phylogenetic relationships of 108 representative samples of the eleven ranid frogs species. Values of genetic distance (Kimura-2 parameter) revealed that *A. larutensis* had the highest intraspecies genetic variation value of 6.8% followed by *H. labialis* (2.3%) and *H. nicobariensis* (2.1%). The Neighbour Joining (NJ),

Maximum Parsimony (MP), Maximum Likelihood (ML) and Bayesian Inference (BI) produced similar topologies and strongly supported the monophyletic assemblages of the three genera of ranid frogs. *Amolops larutensis* showed genetic structuring with two distinct clusters separating the East Coast from the West Coast populations. However, *H. labialis* did not show any clustering according to region (geographic structuring) between North, Central and East Peninsular Malaysia

# BAB 1

## PENGENALAN

### 1.1 Kajian Biodiversiti Amfibia Di Malaysia

Malaysia merupakan negara ke dua di Asia Tenggara yang mempunyai bilangan populasi amfibia terbanyak selepas negara Indonesia (<http://www.iucn.org>). Menurut laporan Das dan Norsham (2007), bilangan amfibia yang terdapat di Malaysia ialah 203 spesies. Berdasarkan kepada senarai semak spesies yang telah dilakukan, lebih 210 spesies katak dan kodok di Malaysia (103 spesies di Semenanjung Malaysia dan lebih 155 spesies di Borneo) (Norhayati et al., 2009; Chan et al., 2010; Grismer et al., 2010; Norhayati et al., 2011; Haas & Das, 2012) telah direkod. Daripada jumlah tersebut, order Anura ini terdiri daripada tujuh famili iaitu Bombinatoridae (katak air), Megophryidae (katak serasah), Bufonidae (kodok/katak puru), Dicroglossidae (katak benar), Microhylidae (katak mulut kecil), Ranidae (katak asli) dan Rhacophoridae (katak pokok). Taburan Anura bagi famili-famili ini adalah meluas di Asia Tenggara kecuali famili Bombinatoridae yang hanya terdapat di Borneo dan Pulau Palawan, Filipina (Inger & Stuebing, 1997). Berdasarkan kajian inventori dan senarai semak amfibia, Norhayati et al. (2009) melaporkan famili Ranidae yang terdapat di Semenanjung Malaysia adalah terdiri daripada enam genus iaitu *Amolops*, *Odorrana*, *Hylarana*, *Ingerana*, *Humerana* dan *Lithobates*. Chan et al. (2010) melaporkan terdapat sebanyak 19 spesies Ranidae di Semenanjung Malaysia manakala di Borneo sebanyak 26 spesies katak ranid telah dicatatkan (Haas & Das, 2012).

Das dan Norsyam (2007) melaporkan bahawa kajian terhadap amfibia dan reptilia di Semenanjung Malaysia masih kebelakangan jika dibandingkan di Borneo. Perkara ini juga turut dinyatakan oleh Matsui et al. (2012) bahawa banyak inventori amfibia telah dilakukan di kepulauan Borneo jika dibandingkan dengan kepulauan Sumatra. Di Semenanjung Malaysia, kebanyakan kajian yang dilakukan terhadap amfibia adalah lebih tertumpu kepada kajian kepelbagaian, taburan, sistematik dan ekologi (Berry, 1975; Grismer et al., 2004; Grismer et al., 2006; Ibrahim et al., 2008; Chan et al., 2009; Chan et al., 2010; Grismer et al., 2010; Shahriza et al., 2010; Norhayati et al., 2011; Shahriza et al., 2011; Ibrahim et al., 2012). Berdasarkan kepada kajian tersebut, famili Ranidae merupakan kumpulan katak yang paling kerap dan banyak dijumpai. Merujuk kepada Perintah Pemuliharaan Hidupan Liar (Pindaan Jadual) 2012 (<http://www.wildlife.gov.my>), terdapat enam spesies katak ranid telah di senaraikan dalam seksyen 3 (hidupan liar buruan yang dilindungi) iaitu *A. larutensis*, *H. banjarana*, *H. erythraea*, *H. picturata*, *H. raniceps*, dan *O. hosii*. Spesies katak daripada famili Ranidae mempunyai ciri-ciri tertentu yang membolehkannya mendiami pelbagai jenis habitat mengikut kesesuaian diri terhadap persekitaran. Menurut Inger dan Stuebing (1997), katak di Borneo boleh dibahagikan kepada dua kumpulan utama berdasarkan kepada tabiat umum dan habitatnya, iaitu kumpulan yang tinggal berhampiran dengan kediaman manusia dan kumpulan yang tinggal di dalam hutan.

Selain daripada katak Ranidae, terdapat juga kajian morfologi dan kajian molekul telah dilakukan terhadap famili amfibia yang terdapat di Malaysia. Matsui (2009) menggunakan dua kaedah iaitu morfologi dan bio-akustik dalam pengecaman spesies baru daripada genus Microhylidae iaitu *Kalophrynus yongi* yang diperolehi dari Cameron Highland Semenanjung Malaysia. Berdasarkan kepada data morfologi, Grismer (2006) merekod spesies baru dari genus *Ansonia* Stoliczka 1872 iaitu *A.*

*latirostra* dari Pahang yang mempunyai persamaan dengan spesies *A. malayana* tetapi berbeza dari segi morfologi kepala dan tuberkel pada badan. Menurut Savage et al. (2011), empat famili katak di Semenanjung Malaysia iaitu Megophryidae (*Leptobrachium hendricksoni*), Microhylidae (*Kaloula pulchra*, *Metaphrynella pollicaris*, *Microhyla annectens*, *M. heymonsi*), Ranidae (*Hylarana glandulosa*, *H. picturata*, *Limnonectes laticeps*) dan Rhacophoridae (*Philautus petersi*, *P. vermiculatus*) berjaya dikesan telah dijangkiti oleh patogen *Batrochochytrium dendrobatidis* dengan menggunakan kaedah molekul “quantitative real-time PCR”. Ramlah (2003) telah mengkaji kepelbagaian DNA populasi *Limnonectes leporinus* dari Borneo menggunakan penanda molekul mtDNA sitokrom c oksidase subunit I (COI). Das dan Has (2010) menggunakan kaedah penanda molekul (16S rRNA), bio-akustik dan morfologi untuk mengkaji spesies *Microhyla nepenthicola* **sp. nov.** (katak terkecil di dunia) dari Sarawak di mana katak ini menggunakan lubang perangkap pokok periuk kera (*Nepenthes ampullaria*) untuk pembiakannya. Walau bagaimanapun, kajian semula yang dilakukan oleh Matsui (2011) dengan menggunakan mtDNA membuktikan *Microhyla nepenthicola* Das & Haas 2010 adalah junior sinonim dengan *M. borneensis*.

Namun, hingga kini, tiada lagi kajian yang menyeluruh dan lengkap dengan gabungan kaedah morfologi dan molekul yang dilakukan terhadap katak ranid di Malaysia. Berry (1975) menggunakan kaedah morfologi untuk pengecaman spesies amfibia di Semenanjung Malaysia. Untuk pengesahan semula bagi spesies *Rana laterimaculata* dan *R. baramica*, Leong et al. (2003) telah menggunakan kaedah morfologi dan bio-akustik. Leong (2005) telah mengkaji sistematik larva famili Ranidae di Semenanjung Malaysia dengan menggunakan kaedah morfologi. Dengan menggunakan penanda molekul mtDNA (16S rRNA), Inger et al. (2006) telah

megenalpasti larva daripada spesies *H. glandulosa* dari Sarawak. Ramlah (2009) telah menggunakan penanda molekul (16S rRNA, COI dan 28S rRNA) dan bio-akustik untuk menyelesaikan hubungan filogenetik katak daripada genus *Rana* Linnaeus 1758 di Sarawak. Penanda molekul sitokrom c oksidase subunit I (COI) telah digunakan dalam kajian genetik populasi bagi spesies *H. erythraea* di Malaysia (Ramlah et al., 2010b) dan *R. chalconota* dari Borneo (Ramlah, 2005). Matsui et al. (2007) menggabungkan kaedah morfologi dan penanda molekul mtDNA (cytochrome b, 12S rRNA, 16S rRNA) untuk membezakan dua spesies *Staurois* iaitu *S. parvus* dan *S. tuberilinguis* dari Borneo. Shimada et al. (2007) menggunakan kaedah morfologi dan penanda molekul (12S rRNA) untuk mengkaji hubungan antara berudu dan katak dewasa daripada genus *Meristogenys* yang terdapat di Sungai Mahua, Crocker Range, Sabah. Berdasarkan keputusan morfologi dan penanda molekul (16S rRNA, ND3, COI), Inger et al. (2009) melaporkan bahawa kompleks *R. chalconota* yang terdapat di Tengah dan Selatan Semenanjung Malaysia dikenali sebagai *H. labialis* manakala spesimen di bahagian Utara Semenanjung tidak dapat dipastikan statusnya. Ramlah dan Siti Nurlydia (2011) melaporkan keputusan berdasarkan kepada analisis morfometrik bahawa wujudnya spesies kriptik dalam kumpulan *H. signata*.

Spesies kriptik kompleks merujuk kepada kehadiran dua atau lebih spesies yang tidak dapat dibezakan secara morfologi tetapi telah diklasifikasikan sebagai spesies tunggal. Kehadiran dan penemuan spesies kriptik katak semakin meningkat dilaporkan di Asia Tenggara (Brown & Guttman, 2002; Stuart et al., 2006; Rowley et al., 2009; Inger & Stuart, 2010; Matsui et al., 2010). Ini juga melibatkan spesies daripada famili Ranidae di Malaysia seperti *R. laterimaculata* dan *R. baramica* (Leong et al., 2003), kompleks *R. chalconota* (Inger et al., 2009) serta *H. picturata* dan *H. signata* (Ramlah, 2009). Dalam usaha menyelesaikan masalah tersebut,



gabungan kaedah morfometrik dan kaedah molekul adalah pendekatan yang efisien dan sering digunakan (Wahlberg & Nylin, 2003; Hart et al., 2006; Matsui et al., 2010; Tosevski et al., 2011).

Data morfometrik adalah kaedah penyelidikan asas dalam bidang biologi yang melibatkan analisis kuantitatif ukuran saiz dan interpretasi terhadap bentuk serta perubahan bentuk morfologi organisma yang dikaji. Data analisis morfometrik telah diaplikasikan bagi meningkatkan kefahaman dan memberikan data sokongan untuk menerangkan sejarah evolusi dan ekologi organisma (Jenner, 2004; Doyle, 2005), menghurai dan klasifikasi spesies baru (Gawor et al., 2009; Matsui et al., 2012) serta kajian hubungan filogenetik dan populasi (Vink & Patersen, 2003). Kaedah ini telah digunakan untuk menjelaskan variasi morfologi dalam populasi bagi spesies kodok Jepun (Famili Bufonidae) (Matsui, 1984), *Rana arvalis* (Babik & Rafinski, 2000) dan *Rana saharica* (Nabil et al., 2009). Leong dan Lim (2003) serta Matsui dan Ibrahim (2006) telah menggunakan kaedah morfologi untuk menganalisis spesies baru daripada Ranidae yang dijumpai di Semenanjung Malaysia. Oleh kerana kaedah ini hanya melibatkan kos yang rendah, mempunyai kuasa diskriminasi dan melengkap data molekul, maka kaedah morfologi telah digunakan secara meluas dalam merungkai masalah sistematik dan taksonomi (Bain et al., 2003; Ohler & Delorme, 2006; Inger & Stuart, 2010; Chan & Grismer, 2010).

Secara umumnya, ciri kuantitatif morfologi adalah diwarisi tetapi ia boleh berubah mengikut umur dan peringkat tumbesaran spesimen serta boleh dipengaruhi oleh faktor persekitaran. Variasi morfologi yang dipamerkan akibat faktor luaran, merupakan salah satu masalah besar dalam melakukan pengecaman serta pengenalpastian yang tepat terhadap suatu spesies Anura. Maka, pendekatan genetik

molekul yang melibatkan penanda molekul berasaskan DNA telah dilihat sebagai alternatif dan pelengkap kepada penyelesaian masalah ini. DNA mitokondria (mtDNA) telah menjadi pilihan sebagai penanda genetik bagi kajian kepelbagaian genetik, genetik populasi, taksonomi DNA, sistematik molekul dan pembinaan semula hubungan filogenetik (Avise, 1994; Rand, 2001; Wang et al., 2002; Vences et al., 2005). Pada haiwan, genom mitokondria biasanya bersaiz antara 15-17kb dan merupakan tetali ganda dua yang berbentuk bulat atau cecincin (Cao et al., 2006). Antara kelebihan mtDNA sebagai penanda molekul ialah kadar evolusi relatif yang tinggi berbanding dengan gen nuklear, pewarisan secara maternal dan saiz yang kecil sehingga mudah dikaji. Antara penanda molekul yang sering digunakan dalam kajian vertebrata ialah gen sitokrom b (cyt b), sitokrom c oksidase subunit I (COI) dan 16S dan 12S ribosomal RNA (rRNA) (Goebel et al., 1999; Cawthorn et al., 2011).

Kini aplikasi mtDNA dalam menentu dan mencadangkan hubungan antara spesies katak yang berkait rapat iaitu filogenetik telah banyak didokumentasikan (Matsui et al., 2005; Che et al., 2007b; Inger et al., 2009). Banyak kajian yang dijalankan telah menggunakan gen mitokondria 16S rRNA kerana kadar evolusinya yang perlahan. Ia amat sesuai digunakan untuk perbandingan taksonomi spesies, genus dan juga intrafamili kerana keupayaannya dalam pengenalpastian dan penentuan hubungan filogenatik katak. Dengan bantuan kemajuan teknologi dalam bidang biologi molekul seperti kaedah tindak balas berantai polimerase (Polymerase Chain Reaction, PCR) dan penjujukan DNA, analisis filogenetik digunakan untuk pengecaman dan perbezaan organisma di peringkat genetik. Analisis filogenetik memberikan gambaran keseluruhan hubungan spesies yang dikaji dengan mengumpulkannya dalam satu pohon atau klad yang menunjukkan perkaitan genetik di antara mereka. Oleh itu, secara keseluruhannya, pohon filogenetik bukan sahaja

memberi maklumat tentang kepelbagaian spesies tetapi juga menjelaskan salasilah genetik spesies.

Dalam kajian ini, dua pendekatan digunakan iaitu data morfologi dan penanda molekul dalam menentu dan mencadangkan hubungan filogeni katak ranid terutamanya di bahagian Utara, Tengah dan Timur Semenanjung Malaysia. Untuk morfologi, teknik morfometrik tradisional digunakan dan data kuantitatif dianalisis dengan kaedah statistik untuk menjelaskan tahap diskriminasi dan hubungan antara spesies katak ranid. Analisis filogenetik adalah berdasarkan kepada data jujukan gen mitokondria 16S rRNA dan pokok filogenetik dibina dengan menggunakan perisian MEGA 5 dan MrBayes.

## **1.2 Objektif**

Secara amnya objektif kajian ini ialah

1. Mengenalpasti tahap dan bentuk kebolehubahan morfologi dalam beberapa spesies katak ranid yang terdapat di Semenanjung Malaysia berdasarkan analisis morfometrik tradisional.
2. Menentukan hubungan filogeni tiga genus katak ranid di Semenanjung Malaysia menggunakan gen mitokondria 16S rRNA.
3. Membandingkan korelasi data morfometrik dan genetik untuk pengelasan spesies ranid di Semenanjung Malaysia.

## BAB 2

### TINJAUAN BACAAN

#### 2.1 Biodiversiti Dan Taburan Global Ranidae

Malaysia dengan keluasan tanah yang melebihi 32.98 juta hektar (ha) adalah antara negara membangun yang mempunyai tanah hutan dengan peratusan yang tinggi. Pada tahun 2010 keluasan hutan dianggarkan 62.4% daripada keluasan seluruh negara ini bersamaan 20.57 juta hektar (ha) (Malaysia, 2010). Ia salah sebuah daripada 17 negara di dunia yang dikenali sebagai pusat megadiversiti (Mittermeier et al., 1997), di mana hutan hujan tropika Malaysia terdiri daripada ekosistem yang unik dan kompleks kerana kekayaan dan kepelbagaian spesies flora dan faunanya. Iklim khatulistiwa yang panas dan lembap sepanjang tahun menjadikan hutan ini sebagai suatu tempat yang amat sesuai dan kondusif bagi perkembangan dan kemandirian pelbagai spesies hidupan liar.

Amfibia adalah salah satu kelas haiwan vertebrata yang mendiami hutan hujan tropika dan menjadikan kawasan seperti daratan, paya, sungai dan tasik sebagai habitat utamanya. Haiwan ini memainkan peranan yang penting dalam keseimbangan proses-proses ekologi dalam ekosistem hutan di mana peranannya sebagai penyalur dan pemindah tenaga dalam jaringan makanan serta antara habitat, memberi kesan kepada produktiviti ekosistem dan sebagai petunjuk biologi kepada gangguan habitat (Ibrahim, 2010). Menurut Conlon dan Sonneved (2010), rembesan kulit kodok dan katak (famili Bufonidae, Dicroglossidae, Microhylidae, Ranidae) mengandungi peptida antimikrob yang berguna dalam bidang perubatan. Di samping itu, katak seperti *Limnonectes macrodon*, *L. malesianus* dan *Fejervarya cancrivora* dijadikan makanan dan sumber protein oleh penduduk di negara Indonesia, China,

India dan Malaysia. Malahan Indonesia merupakan negara pengeksport utama dunia bagi daging dan kaki katak ke Eropah, Amerika, Asia dan Australia (Kusrini & Alford, 2006; Warkentin et al., 2009).

Faktor seperti perubahan dan kemusnahan habitat, peningkatan pendedahan kepada sinaran ultra-lembayung iaitu penipisan lapisan ozon, pencemaran dari bahan kimia, perubahan iklim dan cuaca (Bickford et al., 2010) serta jangkitan penyakit kulat (Fisher et al., 2009), menyebabkan banyak spesies amfibia terutamanya daripada order Anura mengalami masalah penyusutan serta kepupusan. Ini merupakan fenomena global yang berlaku di seluruh dunia. Berdasarkan kepada laporan yang dikeluarkan oleh Kesatuan Antarabangsa Pemuliharaan Alam Alamiah (IUCN) pada tahun 2009, status amfibia di Malaysia masih terkawal dan tidak wujud kepupusan bagi kumpulan haiwan ini. Namun begitu untuk mengesahkan status terkini diversiti dan meningkatkan strategi pemuliharaan amfibia di Malaysia, kajian terhadap biodiversiti yang melibatkan kajian kepelbagaian genetik, diversiti spesies dan taburan spesies dalam ekosistem kita, perlu dilakukan dari semasa ke semasa.

Sehingga Mac 2012, jumlah order Anura (kodok dan katak) di seluruh dunia yang direkodkan ialah 6120 spesies yang terdiri daripada 38 famili (<http://amphibiaweb.org/>). Ranidae (katak asli) mencatat jumlah spesies yang tertinggi iaitu 1445. Ia tersebar secara meluas di mana kewujudannya boleh didapati pada semua benua dunia kecuali Antartika (Van der Meijden et al., 2005). Taburan katak ranid ini telah direkodkan terdapat di kawasan dunia seperti di Afrika, Asia Tenggara, Asia Selatan, Asia Utara, Australia, Eropah, Madagaskar, Amerika Utara, Amerika Tengah dan juga Amerika Selatan. Daripada 10 kawasan tersebut, Asia Tenggara merupakan kawasan yang mempunyai bilangan spesies katak tertinggi

daripada famili Ranidae iaitu 457 (Wiens et al., 2009). Di Asia Tenggara, kumpulan ranid yang dicatat terdiri daripada tiga subfamili iaitu Dicroglossines, Rhacophorines dan Raninae (Wiens et al., 2009). Status taksonomi untuk kumpulan ranid telah disemak dan dipinda beberapa kali (Hillis & Wilcox, 2005; Dubois, 2005; Frost et al., 2006; Bossuyt et al., 2006; Che et al., 2007a). Walau bagaimanapun, status taksonomi monofili subfamili, genus dan spesies ranid masih lagi tidak stabil dan menjadi suatu kontroversi. Dalam menentukan hubungan taksonomi dan filogenetik subfamili Raninae yang masih belum selesai dan difahami sepenuhnya, banyak kajian telah dilakukan ke atas genus dan spesiesnya pada dekad kebelakangan ini Che et al. (2007a) mencadangkan bahawa Raninae dinaikkan taraf kepada status famili yang terdiri daripada 12 genus: *Staurois*, *Meristogenys*, *Clinotartus*, *Amolops*, *Hylarana*, *Babina*, *Odorrana*, *Pseudorana*, *Rana*, *Lithobates*, *Glandirana* dan *Pelophylax*. Seterusnya, Frost (2011) telah membahagikan subfamili Raninae kepada 16 genus iaitu: *Amolops*, *Babina*, *Clinotarsus*, *Glandirana*, *Huia*, *Humerana*, *Hylarana*, *Lithobates*, *Meristogenys*, *Odorrana*, *Pelophylax*, *Pseudorana*, *Pterorana*, *Rana*, *Sanguirana* dan *Staurois*.

Perubahan iklim dan perubahan permukaan air laut serta aktiviti letusan gunung berapi pada kala Eosen-Pliosen (50-5 juta tahun yang lalu) telah menenggelamkan sebahagian Pelantar Sunda yang menghubungkan Tanah Besar Asia Tenggara dengan Kepulauan Melayu (Inger, 2005). Ia juga menyebabkan terpisahnya beberapa pulau seperti Borneo, Sumatra dan Jawa daripada daratan Asia Tenggara. Wilting et al. (2012) menyatakan suhu panas serta lembab dan keadaan geologi yang kompleks sejak era Pleistosen merupakan penyebab utama penyebaran spesies fauna seperti mamalia, reptilia dan amfibia di Pelantar Sunda (Jawa, Sumatra, Borneo dan Semenanjung Malaysia). Katak dianggap sebagai penyebar yang lemah kerana

ketidakupayaannya untuk merentasi lautan dan sensitif terhadap air masin, namun kewujudan spesies katak endemik telah direkodkan terdapat di Kepulauan Filipina dan Wallacea (Sulawesi, Palau Sunda Lesser dan Pulau Maluku) (Evans et al., 2003), di Pulau Seychelles dan Mascarene (Afrika) (Vences et al., 2004) dan di Teluk Guinen (Measay et al., 2007). Menurut Vences et al. (2004), amfibia boleh merentasi lautan dengan menjadikan kaedah rakit (batang kayu terapung) sebagai pengangkutan untuk tujuan penyebaran. Di Kepulauan Melayu, amfibia didapati telah berulang kali melintasi selat laut dalam pada Garis Wallace dan Huxley (Evans et al., 2003; Wilting et al., 2012).

Secara umumnya, terdapat lebih kurang 53 spesies katak ranid yang dicatatkan terdapat di Pelantar Sunda (Semenanjung Malaysia, Borneo, Sumatra dan Jawa) (Frost, 2011). Daripada jumlah tersebut, katak ranid ini terbahagi kepada lapan genus: *Amolops* (1 spesies), *Hui* (4 spesies), *Humerana* (1 spesies), *Hylarana* (28 spesies), *Meristogeny* (11 spesies), *Odorrana* (2 spesies), *Sanguirana* (1 spesies) dan *Staurois* (4 spesies). Penyelidikan yang dilakukan oleh Inger dan Voris (2001) terhadap hubungan biogeografi katak di Pelantar Sunda mendapati spesies katak yang terdapat di Semenanjung Malaysia adalah lebih sama seperti spesies katak di Sumatra berbanding dengan spesies katak yang terdapat di Jawa dan Borneo. Ini kerana Pulau Jawa adalah yang pertama terpisah daripada daratan Asia Tenggara, diikuti dengan Borneo dan terakhir ialah Sumatra dari Semenanjung Malaysia (Ramlah, 2009).

Dari segi morfologi luaran, katak mempamerkan pelbagai warna, corak, saiz dan bersifat pewarnaan aposematik (aposematic colouration). Variasi morfologi yang kompleks telah menyumbang kepada kekeliruan dalam menentukan taksonomi katak sehingga menimbulkan fenomena spesies kriptik. Bagi spesies katak yang mempunyai

taburan geografi yang meluas, penggunaan kaedah morfologi sahaja dalam pengecaman dan pembezaan spesies kriptik adalah tidak efisien. Rowley et al. (2009) menyatakan kajian molekul terhadap spesies katak kriptik yang taburannya meluas di Asia Tenggara membuktikan terdapatnya kepelbagaian genetik spesies yang tidak dikenalpasti. Kajian telah dilakukan terhadap katak hutan iaitu *Odorrana livida* (taburannya di Myanmar, India dan Vietnam) dan *Hylarana chalconota* (taburannya di Thailand, Semenanjung Malaysia, Sumatra dan Borneo) dengan menggunakan penanda molekul DNA mitokondria (mtDNA). Keputusan molekul terhadap spesies tersebut ialah kedua-duanya adalah spesies kompleks dalam kawasan taburan geografi, tetapi pengecaman kumpulan spesies tersebut boleh menimbulkan kekeliruan kerana persamaan dari segi morfologinya (Stuart et al., 2006). Dengan menggabungkan kaedah molekul (mtDNA dan DNA nuklear) dan kaedah morfologi (analisis univariat dan multivariat), katak benar (Dicroglossidae) daripada genus *Limnonectes* dari Thailand yang dianggap sebagai populasi kompleks *L. kuhlii* telah ditukarkan status kepada *L. megastomias* (Matsui et al., 2010).



## 2.2 Taksonomi Dan Morfologi Katak Ranid

Kajian morfologi dan filogenetik dilakukan ke atas 11 spesies katak ranid yang berjaya dikumpul di Semenanjung Malaysia. Hierarki taksonomi bagi famili Ranidae adalah seperti berikut (Che at al., 2007a):

<b>Alam</b>	: Animalia
<b>Filum</b>	: Chordata
<b>Subfilum</b>	: Vertebrata
<b>Kelas</b>	: Amphibia
<b>Order</b>	: Anura
<b>Famili</b>	: Ranidae
<b>Genus</b>	: <i>Amolops</i> , <i>Odorrana</i> dan <i>Hylarana</i>
<b>Spesies</b>	: <i>Amolops larutensis</i>
	: <i>Odorrana hosii</i>
	: <i>Hylarana labialis</i>
	: <i>Hylarana banjarana</i>
	: <i>Hylarana erythraea</i>
	: <i>Hylarana luctuosa</i>
	: <i>Hylarana laterimaculata</i>
	: <i>Hylarana glandulosa</i>
	: <i>Hylarana signata</i>
	: <i>Hylarana nigrovittata</i>
	: <i>Hylarana nicobariensis</i>

### 2.2.1 Genus *Amolops*

Katak ranid dari genus *Amolops* Cope 1865 mendiami kawasan air terjun dan anak sungai berbatu yang berarus deras. Taburan genus ini terdapat di Asia meliputi China, Thailand, India, Nepal, Myanmar (Burma), Vietnam dan Semenanjung Malaysia. Sehingga Mei 2012, sebanyak 50 spesies daripada genus *Amolops* telah dicatat dan sebanyak 27 spesies ini boleh ditemui di China (<http://amphibiaweb.org>). Menurut Chan et al. (2010), di Malaysia, hanya terdapat satu spesies daripada genus ini iaitu *Amolops larutensis*. Dari segi morfologi, katak dewasa mempunyai tibia yang panjang, jari kaki berselaput, mempunyai cakera kembang pada hujung jari kaki depan (Yang, 1991), kantung suara pada katak jantan, mempunyai gigi vomerin dan kelenjar humerus (kelenjar di lengan atas) yang tidak jelas. Unikinya, larva genus ini mempunyai kelenjar racun dan cakera pelekat gastromizoforus yang berfungsi untuk melekatkan diri pada permukaan batuan yang licin bagi menyokong kedudukannya di dalam sungai yang berarus deras (Ngo et al., 2006).

#### (i) *Amolops larutensis* (Boulenger, 1899)

*Amolops larutensis* (Plat 2.1) atau dikenali sebagai katak batu hijau bertompok, boleh dijumpai di Thailand dan juga Semenanjung Malaysia. Spesies ini boleh ditemui di kawasan tanah rendah hinggalah tanah tinggi pada aras 1800 m (Yang, 1991). Di Semenanjung Malaysia, Berry (1975) melaporkan, spesies ini boleh dijumpai di Sungai Gombak Selangor, Bentong Pahang, Genting Sempah Selangor, Templer Park Selangor, Sungai Burok Kelantan, Sungai Terengganu, Bukit Larut Perak, Gunung Brinchang, Cameron Highland dan Gunung Benom Pahang. Bagi katak betina dewasa, saiznya ialah 75 mm (SVL=panjang muncung hingga ke kloaka), kepala dan muncungnya bulat, jari kaki dan tangannya mempunyai cakera

bulat, kaki berselaput penuh manakala katak jantan dewasa mempunyai lubang suara (vocal slit) dan pad mengawan (nuptial pad) pada jari tangan yang pertama (Leong, 2005). Dalam senarai IUCN Red List, status spesies ini ialah "Least Concern (LC)".

### **2.2.2 Genus *Odorrana***

Spesies daripada genus *Odorrana* Fei, Ye, dan Huang 1990 boleh dijumpai pada sepanjang sungai di kawasan hutan tanah pamah hinggalah pada kawasan hutan tanah tinggi yang melebihi daripada 1000 m dari aras laut (Leong, 2005). Antara ciri utama genus *Odorrana* ialah rembesan daripada kulitnya adalah beracun dan berbau busuk (Bain et al., 2003; Matsui et al., 2005; Stuart, 2006). Conlon et al. (2008) melaporkan rembesan kulit daripada *O. hosii* mengandungi lapan peptida antimikrobial (esculentin-1 (1), esculentin-2 (1), brevinin-1 (2), brevinin-2(2) dan nigrocin-2 (2)) yang amat berguna sebagai agen terapeutik. Sehingga tahun 2011, sebanyak 53 spesies daripada genus *Odorrana* direkodkan (<http://research.amnh.org/vz/herpetology/amphibia/>) dan taburannya boleh didapati di China, Jepun hinggalah ke negara-negara di Asia Tenggara.

#### **(i) *Odorrana hosii* (Boulenger, 1882)**

Di Malaysia, genus *Odorrana* terdiri daripada dua spesies iaitu *Odorrana monjerai* dan *Odorrana hosii*. Matsui dan Ibrahim (2006) melaporkan bahawa *O. monjerai* dijumpai di sepanjang sungai pada ketinggian 720 m dari aras laut di Gunung Jerai. Kini spesies endemik ini boleh ditemui di Gunung Jerai dan juga Hutan Rekreasi Bukit Hijau Kedah (Chan et al., 2010). *Odorrana hosii* (Plat 2.2) atau dikenali sebagai katak batu beracun mendiami kawasan berhampiran air terjun

di hutan primer dan hutan sekunder. Ia boleh mendiami kawasan pada ketinggian 1800 m dari aras laut. Spesies ini sangat aktif pada waktu malam dan sering dijumpai bertenggek di atas batu dan di atas ranting pokok yang berhampiran dengan sungai (Ibrahim et al., 2008). Dari segi morfologi, *O. hosii* adalah spesies katak besar di mana panjang muncung hingga ke kloaka boleh melebihi 100 mm, dimorfisme seks adalah jelas di mana saiz katak betina lebih besar daripada katak jantan, warna badan adalah polimorfik (hijau metalik gelap, hijau-kuning) dan biasanya tiada bintik perang, manakala sisi kaki belakang berwarna coklat muda dan ada jalur silang kehitaman pada kakinya. Sekali pandang, *O. monjerai* menyerupai *O. hosii* tetapi yang membezakan antara dua spesies ini ialah terdapatnya kantung suara pada katak jantan *O. hosii* (Matsui & Ibrahim, 2006). Dalam senarai IUCN Red List, status spesies ini ialah "Least Concern (LC)".

a.



b.



c.



Plat 2.1: *Amolop larutensis* (a, b, c) yang diperolehi di Semenanjung Malaysia. Terdapat variasi dari segi morfologi dalam kumpulan spesies ini.



Plat 2.2: *Odorrana hosii*  
(Photo: Shahriza Shahrudin)

### 2.2.3 Genus *Hylarana*

Katak ranid daripada genus *Hylarana* Tschudi 1838 telah dicatatkan sebanyak 86 spesies pada tahun 2011 (<http://research.amnh.org/vz/herpetology/amphibia/>). Taburan bagi genus ini tersebar dengan meluas di dua kawasan iaitu: 1) Afrika Tropika (walau bagaimanapun, status *Hylarana* di Afrika masih lagi dibahaskan), 2) Asia Tropika bermula dari Sri Lanka dan Barat Ghats (Barat-Selatan India) melalui Timur India dan Nepal ke Selatan China (termasuk Taiwan dan Hainan), merentasi Kepulauan Indo-Australia ke Filipina, New Guinea dan Utara Australia (Gawor et al., 2009). Di Semenanjung Malaysia, genus *Hylarana* terdiri daripada 12 spesies (Chan et al., 2010) manakala di Borneo sebanyak 10 spesies telah direkod (<http://frogsofborneo.org>). Spesies-spesies ini boleh dijumpai di kawasan hutan paya gambut, hutan tanah pamah dan juga hutan tanah tinggi.

#### (i) *Hylarana labialis* (Boulenger, 1887)

Taburan spesies kompleks *H. chalconota* tersebar secara meluas bermula dari Thailand, Semenanjung Malaysia, Borneo dan Jawa. Kajian taksonomi dan filogenetik menunjukkan spesies kompleks ini terdiri daripada tujuh spesies di mana tiga spesies iaitu *H. chalconota* (Pulau Jawa), *H. raniceps* (Sarawak), *H. labialis* (Melaka) dan empat lagi spesies diterangkan sebagai spesies baru (Inger et al., 2009). Di Semenanjung Malaysia, *H. labialis* (Plat 2.3) atau katak bibir putih sering dijumpai di sepanjang sungai-sungai kecil di dalam hutan primer dan sekunder serta di kawasan berpaya di dalam hutan. Bentuk badannya adalah langsing, SVL=jantan (37-48 mm) betina (44-71 mm), mempunyai gigi vomerin, dorsal; warnanya adalah berubah-ubah dari hijau tua kepada kuning muda, dengan atau tanpa tompok coklat;

bibir atas kuning berkrim atau putih manakala pada bahagian ventral; berwarna krim dan kaki belakangnya ada atau tiada garis silang (<http://amphibia.my/>). Dalam senarai IUCN Red List, status spesies ini ialah "Least Concern (LC)".

**(ii) *Hylarana banjarana* (Leong & Lim, 2003)**

*Hylarana banjarana* (Plat 2.4) atau katak gunung boleh mendiami kawasan pada ketinggian 750-1500 m dari aras laut (Leong, 2005). Taburannya merangkumi Thailand dan Semenanjung Malaysia seperti di Negeri Sembilan (Gunong Telapak Burok ), Perak (Bukit Larut, Gunung Bubu, Hulu Kenas) dan Pahang (Cameron Highlands, Bukit Fraser, Genting Highlands) (Leong & Lim, 2003; Grismer et al., 2010; Norhayati et al., 2011). Dari segi morfologi, katak jantan mempunyai pad mengawan pada jari pertama, mempunyai kantung suara dan tiada kelenjar humerus (humeral gland) manakala saiz katak betina (SVL= 40.9-55.0 mm) adalah lebih besar dari saiz katak jantan (SVL= 32.9-42.2 mm), gegendang telinga berwarna coklat pekat, warna pada bahagian dorsal ialah jingga pekat kepada perang jingga manakala warna pada ventral ialah kelabu muda kepada coklat gelap dengan terdapat secara rawak bintik-bintik putih. Dalam senarai IUCN Red List, status spesies ini ialah "Near Threatened (NT)".

**(iii) *Hylarana erythraea* (Schlegel, 1837)**

*Hylarana erythraea* (Plat 2.5) atau dikenali sebagai katak padi hijau, adalah spesies bersaiz kecil hingga sederhana (katak betina: 48-75 mm SVL dan katak jantan lebih kecil: 30-45 mm SVL), mempunyai badan langsing dengan kaki belakang panjang, berwarna hijau pada atas dan sisi badannya (boleh berubah dari hijau kusam kepada coklat kekuningan) dan terdapat garisan gelap sepanjang hujung mata ke sisi badan (Ibrahim et al., 2008). Menurut Ramlah et al. (2010a), spesies ini



menjadi petunjuk penting kepada gangguan habitat di Malaysia, kerana ia sering ditemui di kawasan terganggu oleh manusia seperti kawasan pertanian (sawah padi), ladang tanaman dan juga di kawasan pengairan atau parit. Di Asia Tenggara, *H. erythraea* tersebar secara meluas dan boleh di jumpai di negara Malaysia, Singapura, Indonesia, Thailand, Filipina, Vietnam, Laos, Myanmar dan Kemboja.

**(iv) *Hylarana luctuosa* (Peter 1871)**

Leong (2005) melaporkan, di Semenanjung Malaysia, spesies ini boleh ditemui di hutan tidak terganggu bermula dari tanah rendah sehingga ke tanah tinggi (sekitar 1000 m dari aras laut). Biasanya, pada waktu malam, ia akan bertenggek pada batu, tebing yang curam dan pada pokok tumbuhan renek berhampiran air yang mengalir. Taburan *H. luctuosa* (Plat 2.6) atau katak mohagani terdapat di Indonesia, Thailand dan juga Malaysia. Dari segi morfologi, saiz badannya sekitar 43-60 mm SVL, bahagian atas badan berwarna coklat kemerahan dan terdapat garisan dorsolateral yang berwarna krim manakala bahagian ventral iaitu kaki belakang berwarna kelabu dan terdapat garisan jalur gelap serta ada bintik-bintik bulat berwarna krim (<http://amphibia.my/>). Dalam senarai IUCN Red List, status spesies ini ialah "Least Concern (LC)"

**(v) *Hylarana laterimaculata* (Barbour & Noble, 1916)**

Inger (1966) menganggap *H. laterimaculata* (Plat 2.7) atau katak paya sebagai junior sinonim kepada *H. baramica*. Walau bagaimanapun, Leong et al. (2003) telah mengesahkan semula bahawa *H. laterimaculata* adalah spesies yang sah berdasarkan kepada beberapa morfologi luar dan bio-akustik. Ia adalah spesies katak yang bersaiz sederhana (SVL: 38-67 mm), kulit atasnya adalah berbutir dan kulit bawahnya licin, kaki belakangnya adalah sederhana panjang dan langsing, warna dorsal adalah coklat

dengan hitam dan terdapat warna merah jambu pudar, warna pada ventral ialah kelabu krim dengan warna hitam pada lehernya manakala bibir atasnya berwarna coklat, putih dan gelap (Ibrahim et al., 2008). Ia boleh dijumpai di kawasan paya di hutan primer dan sekunder. Taburan bagi spesies ini merangkumi Indonesia, Malaysia, Singapura dan Thailand. Dalam senarai IUCN Red List, status spesies ini ialah "Least Concern (LC)"

**(vi) *Hylarana glandulosa* (Boulenger, 1882)**

*Hylarana glandulosa* (Plat 2.8) atau katak sisi kesat menyerupai *H. baramica* dari segi karakter dan bentuk badan, tetapi ia berbeza daripada segi saiz di mana *H. glandulosa* lebih besar (SVL katak jantan =58-93 mm, SVL katak betina = 65-84 mm) dan mempunyai tompok gelap besar (coklat pudar) pada bahagian sisi badannya. *Hylarana glandulosa* mengeluarkan laungan 'wahk' yang berulang (Ramlah et al., 2010a) dan ia merupakan antara spesies katak ranid yang mengeluarkan panggilan bunyi paling kuat. Spesies ini mendiami kawasan hutan berpaya gambut dan ia tidak pernah ditemui mendiami kawasan yang melebihi ketinggian 700 m dari aras laut (Inger & Steubing, 1997). Taburannya boleh didapati di Thailand, Malaysia, Indonesia dan Brunei. Dalam senarai IUCN Red List, status spesies ini ialah "Least Concern (LC)".

**(vii) *Hylarana signata* (Boulenger 1920)**

Oleh kerana mempunyai persamaan dari segi bentuk dan perlakuan kecuali pada warna, *H. picturata* dianggap sinonim dengan spesies *H. signata* (Inger, 1996). Walau bagaimanapun, Inger dan Tan (1996) telah mengasingkan status taksonomi kedua takson ini yang mempunyai taburan di Brunei, Kalimantan, Sabah dan Sarawak. Namun, sehingga kini, status taksonomi *H. picturata* dan *H. signata* tidak jelas dan

di Borneo kumpulan ini dianggap terdiri lebih daripada satu spesies (<http://www.frogsofborneo.org>). *Hylarana signata* (Plat 2.9) atau katak sungai berjalur merupakan katak bersaiz sederhana; katak jantan 33-47 mm SVL, katak betina 48-69 mm SVL, warna dorsal; perang gelap atau kehitaman dengan tompok dan bintik putih atau oren, terdapat satu garisan oren atau kuning dari hujung muncung, sepanjang hujung atas mata bersambung tanpa putus sehingga ke lipatan dorsolateral, manakala pada ventral; berwarna kelabu pudar hingga perang gelap dengan tompok kecil berwarna kuning. Spesies ini sangat aktif pada waktu malam dan boleh dijumpai berhampiran dengan sungai atau anak sungai di hutan primer dan sekunder (Ibrahim et al., 2008). Taburannya terdapat di Thailand, Malaysia, Indonesia dan Brunei. Dalam senarai IUCN Red List, status spesies ini ialah "Least Concern (LC)".

**(viii) *Hylarana nigrovittata* (Blyth 1856)**

*Hylarana nigrovittata* (Plat 2.10) atau katak berjalur hitam mendiami kawasan tanah pamah hutan primer. Taburannya boleh didapati di Nepal, Bengal Barat (India) ke Yunnan (China), Vietnam, Thailand ke Semenanjung Malaysia dan Sumatra (Leong, 2005). Menurut Ohler et al. (2002), ia dianggap "kompleks *nigrovittata*" kerana terdapat lima taksa yang berlainan di dalam kumpulan spesies ini bermula dari Thailand hingga ke rantau Indochina. Di Semenanjung Malaysia, spesies ini dicatatkan terdapat di bahagian Utara dan Tengah (Perlis, Kedah, Perak, Pahang dan Selangor), tetapi hingga akhir tahun 2011, spesies ini tidak pernah dicatatkan di bahagian selatan (Johor). Dari segi morfologi, katak ini bersaiz sederhana (SVL: 38-60 mm), warna dorsal; coklat, terdapat tompokan kecil berwarna gelap, garisan jalur perang gelap pada bahagian sisi badannya bermula daripada muncung hingga ke

pangkal paha manakala warna pada ventral; terdapat tompokan perang keputihan (<http://amphibia.my/>). Dalam senarai IUCN Red List, status spesies ini ialah "Least Concern (LC)".

**(ix) *Hylarana nicobariensis* (Stoliczka, 1870)**

*Hylarana nicobariensis* (Plat 2.11) atau katak cengkerik merupakan katak yang mempunyai bentuk langsing, saiz SVL sekitar 50 mm, kulitnya berbutir pada bahagian dorsal dan sisi badan, warna dorsal; coklat dengan bintik gelap, tepi badannya coklat gelap, bibir atasnya adalah putih manakala warna ventral ialah putih dengan bintik kelabu. Spesies ini boleh ditemui di tanah pamah hutan sekunder atau kawasan terganggu biasanya di dalam atau sekitar kawasan paya (<http://amphibia.my/>). Taburannya terdapat di negara India (Pulau Nicobar), Myanmar, Thailand, Semenanjung Malaysia, Sumatra, Pulau Mentawai, Pulau Enggano, Jawa, Bali, Borneo, Filipina. Dalam senarai IUCN Red List, status spesies ini ialah "Least Concern (LC)".