

<https://doi.org/10.17576/serangga-2024-2903-09>

**PERKEMBANGAN DAN CIRI-CIRI UTAMA INTRAPUPARIA
Spiniphora genitalis SCHMITZ, 1940 (DIPTERA: PHORIDAE)
PADA SUHU BILIK**

[*DEVELOPMENT AND MAIN INTRAPUPARIAL CHARACTERISTICS OF
Spiniphora genitalis SCHMITZ, 1940 (DIPTERA: PHORIDAE)
AT ROOM TEMPERATURE*]

Hemavashini Krebanatham¹, Reena Abd. Rashid^{1,2} & Raja M. Zuha^{1,3*}

¹Program Sains Forensik,
Fakulti Sains Kesihatan,
Basement 1, Perpustakaan Tun Seri Lanang,
Universiti Kebangsaan Malaysia,
43600 Bangi, Malaysia.

²Fakulti Sains Gunaan,
Universiti Teknologi MARA,
40450, Shah Alam, Malaysia.

³Pusat Sistemik Serangga,
Fakulti Sains dan Teknologi,
Universiti Kebangsaan Malaysia,
43600 Bangi, Selangor, Malaysia.

*Corresponding email: rmzuha@ukm.edu.my

Hantar: 30 Mac 2024; Terima: 24 Julai 2024

ABSTRAK

Bidang entomologi forensik lazimnya menggunakan perkembangan spesimen Diptera yang paling lama berada pada mayat untuk menganggar selang masa pasca kematian minimum (*Postmortem Interval_{min}* – *PMI_{min}*). Walaupun pupa adalah peringkat metamorfosis yang paling lama berlaku dalam kitar hidup Diptera, maklumat mengenai perkembangan pupa sebagai kronometri biologi untuk digunakan dalam siasatan forensik amatlah terhad. Kekurangan ini dapat diatasi dengan memperihalkan perkembangan intrapuparia berdasarkan peristiwa yang berlaku sepanjang proses metamorfosis dalam puparium. Objektif kajian ini adalah untuk memperihalkan perkembangan pupa *Spiniphora genitalis* Schmitz, 1940 (Diptera: Phoridae) pada suhu bilik berdasarkan perkembangan intrapuparia. Larva *S. genitalis* yang diperolehi daripada koloni peliharaan Makmal Entomologi Forensik, Fakulti Sains Kesihatan, Universiti Kebangsaan Malaysia (UKM), Malaysia, dipelihara pada hati lembu di suhu bilik 25°C – 37°C. Pada permulaan peringkat pempupaan, pupa disampel pada selang masa 3, 6 dan 12 jam, dan kemudiannya puparium dipisahkan dengan teliti dan dianalisis secara stereomikroskopi. Dalam kajian ini, sejumlah 14 peringkat perkembangan dikenal pasti bagi pupa *S. genitalis*, dengan jumlah tempoh perkembangan intrapuparia adalah 240 – 252 jam sebelum menjadi lalat dewasa. Ciri-ciri utama morfologi intrapuparia turut dihasilkan yang mana ia menunjukkan

warna mata majmuk dan gabungan beberapa ciri-ciri lain, dapat dijadikan penunjuk berguna untuk menentukan usia pupa bagi anggaran PMI_{min} dalam entomologi forensik.

Kata kunci: pereputan, kronometri, bangkai, morfologi, pempupaan

ABSTRACT

Forensic entomology commonly utilizes the development of the oldest dipterous specimens on cadavers to estimate the minimum postmortem interval (PMI_{min}). Even though the pupal stage holds the longest developmental duration in the life cycle of Diptera, information related to pupal development as biological chronometry for forensic application is extremely scarce. This insufficiency can be overcome by describing intrapuparial development based on the events that happen during metamorphosis within the puparium. The objective of this study was to describe pupal development of *Spiniphora genitalis* Schmitz, 1940 (Diptera: Phoridae) at room temperature based on intrapuparial development. *Spiniphora genitalis* larvae were obtained from a stock colony maintained at the Forensic Entomology Laboratory, Faculty of Health Sciences, Universiti Kebangsaan Malaysia (UKM), Malaysia and reared on cow's liver at an ambient room temperature of 25°C – 37°C. At the onset of pupariation, the pupae were sampled at three-, six-, and 12-hour intervals, and subsequently subjected to removal of the puparium and stereomicroscopic analysis. From this study, a total of 14 developmental stages were successfully established for *S. genitalis* female pupa, with total intrapuparial development of 240 – 252 hours before emerging into an adult. Intrapuparial morphology key characteristics were also established indicating compound eye colors, combined with other characteristics, can be the most useful marker to age the pupa for PMI_{min} estimation in forensic entomology.

Keywords: decomposition, chronometry, carrion, morphology, pupariation

PENDAHULUAN

Dalam siasatan entomologi forensik, larva Diptera adalah spesimen yang paling kerap digunakan sebagai rujukan untuk menganggar nilai selang masa pasca kematian minimum (*minimum Postmortem Interval* – PMI_{min}). PMI_{min} dianggar secara restrospektif dengan menganalisis usia larva nekrofagus paling tua pada mayat berdasarkan saiz dan spesies lalat yang dipengaruhi oleh suhu persekitaran (Wells & LaMotte 2020). Walau bagaimanapun, tempoh perkembangan peringkat larva tidak mencecah separuh daripada jumlah keseluruhan kitar hidup sesuatu Diptera, manakala sebahagian besarnya terdiri daripada perkembangan intrapuparia ketika peringkat pupa (Brown et al. 2015). Berbanding larva, usia pupa lebih sukar untuk ditentukan kerana kekurangan penunjuk morfometri dan perubahan morfologi luaran.

Pada peringkat pereputan lanjut mayat, kebanyakan larva instar ketiga telah pun memasuki fasa pasca makan dan mula menjalani proses pempupaan dan ini menjadikan spesimen pupa lebih konklusif untuk digunakan sebagai spesimen rujukan dalam penentuan PMI_{min} berbanding spesimen larva (Thyssen et al. 2018). Walaupun kekurangan penunjuk morfologi luaran yang boleh diukur, perkembangan intrapuparia dapat digunakan sebagai penunjuk usia pupa dalam analisis PMI_{min} . Peringkat perkembangan intrapuparia adalah peristiwa atau proses yang berlaku ketika metamorfosis Diptera dalam puparium. Berdasarkan Hall dan Martin-Vega (2019), peringkat-peringkat ini dan istilah yang berkaitan dengannya telah dihasilkan melalui beberapa kajian yang dijalankan terhadap pupa Diptera. Ia terdiri daripada empat peringkat perkembangan utama, i.e. prapupa, pupa kriptosefalik, pupa fanerosefalik dan dewasa farat. Selain itu, terdapat tiga peristiwa perkembangan utama yang

berlaku sepanjang proses ini, i.e. pupariasi, apolisis larva-pupa dan apolisis pupa-dewasa. Peringkat dan istilah yang digunakan tersebut adalah asas kepada huraian kejadian yang berlaku sepanjang tempoh perkembangan intrapuparia Diptera (Flissak & Moura 2018).

Beberapa kajian terdahulu telah menerangkan perkembangan intrapuparia Diptera seperti langau (Diptera: Calliphoridae) dan Lalat Askar (Diptera: Stratiomyidae) pada suhu berbeza. Antara spesies lalat yang telah dikaji adalah *Lucilia sericata* (Meigen) (Karabey & Sert 2014), *Calliphora vicina* Robineau-Desvoidy (Brown et al. 2015), *Hermetia illucens* (L.) (Li et al. 2016), *Lucilia cuprina* (Wiedemann) (Barros-Cordeiro et al. 2016), *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Zhang et al. 2018) dan *Hemilucilia semidiaphana* (Rondani) (Da Silva & Moura 2019). Walaupun kajian-kajian tersebut memberikan penekanan terhadap spesies Diptera berkepentingan forensik, kajian terhadap lalat phorid (Diptera: Phoridae) masih amat terhad.

Lalat phorid adalah kumpulan Diptera forensik yang spesifik dalam kes pereputan mayat di dalam bangunan dan ia boleh hidup di dalam ruang tertutup termasuklah di dalam keranda (Disney 1994). Lalat ini bersaiz kecil (kira-kira 0.4 – 6.0 mm) dan berupaya menembusi rekahan kecil pada bangunan atau tanah untuk tiba pada mayat lebih awal berbanding lalat forensik lain seperti langau dan Lalat Daging (Diptera: Sarcophagidae) (Zuha et al. 2015). Oleh sebab itu, lalat phorid dapat dijadikan bukti utama dalam siasatan PMI_{min} bagi ruang tertutup. Di kalangan ratusan spesies lalat phorid dari Semenanjung Malaysia, *Spiniphora genitalis* Schmitz adalah spesies yang dapat diketengahkan sebagai spesies berkepentingan forensik. Spesies ini pertama kali direkodkan di Semenanjung Malaysia memakan bangkai siput (Schmitz 1940) dan kini bertaburan di sekitar Indonesia, Thailand, Fiji (Beaver 1987; Disney & Bänziger 2009; Disney 1994) dan Hawaii, Amerika Syarikat (Joyce 1967). Dalam satu kajian oleh Zuha et al. (2017), *S. genitalis* ditemui pada bangkai arnab yang diletakkan di dalam bekas sampah plastik yang tertutup di Malaysia. Walaupun *S. genitalis* belum pernah direkodkan dalam kes kematian manusia, spesies kosmopolitan daripada genus yang sama iaitu *Spiniphora bergenstammi* Mik telah disampel daripada mayat (Oliva 2004). Sehubungan itu, kajian ini bertujuan untuk memperihalkan perkembangannya pupa *S. genitalis* berdasarkan perubahan morfologi intrapuparia dan tempoh perkembangannya pada suhu bilik. Ciri-ciri utama morfologi intrapuparia turut dihasilkan agar ia dapat digunakan sebagai rujukan kepada ahli entomologi forensik.

BAHAN DAN KAEDAH

Rekabentuk Penyelidikan

Kajian ini dijalankan secara pemerhatian dan kualitatif di Makmal CSI III (Makmal Entomologi Forensik), Program Sains Forensik, Fakulti Sains Kesihatan, UKM, Kuala Lumpur, Malaysia pada 11 Ogos 2023 hingga 2 Oktober 2023.

Pengendalian Koloni *Spiniphora genitalis*

Spesimen *S. genitalis* yang digunakan dalam kajian ini diperolehi daripada koloni hidup yang dipelihara di Makmal Entomologi Forensik, Fakulti Sains Kesihatan, UKM Kuala Lumpur. Koloni lalat dewasa dipelihara dalam sangkar akrilik bersaiz 30 cm (panjang) × 18 cm (lebar) × 28 cm (tinggi) pada suhu (25°C – 37 °C) dan kelembapan relatif bilik (47 - 93%). Koloni dibekalkan kira-kira 30 g hati lembu yang dipotong kiub bersaiz 1 cm³ selama 2 jam untuk merangsang aktiviti oviposisi oleh lalat dewasa (Lee et al. 2021). Larva *S. genitalis* diberikan hati lembu sebagai sumber makanan manakala lalat dewasa dibekalkan 20 ml air dan 30 g ketulan gula.

Penyediaan Subjek Kajian

Bagi setiap eksperimen, koloni *S. genitalis* dibekalkan hati lembu selama dua jam untuk merangsang oviposisi. Kira-kira 30 g hati lembu diletakkan di dalam dua bekas umum steril sebagai sumber makanan dan bekas-bekas ini disediakan setiap dua hari dalam 10 hari untuk mendapatkan tiga replikasi bekas peliharaan. Sepanjang proses peliharaan, bekas peliharaan ditutup rapi dengan kertas tisu untuk mengelakkan larva daripada keluar, selain bertujuan untuk membantu pengudaraan (Sharanya & Zuha 2019). Ia turut digunakan bagi mengelakkan sebarang potensi pencemaran tisu haiwan reput oleh serangga saprofit yang lain. Bekas yang mengandungi telur *S. genitalis* diletakkan di ruang yang mempunyai keamatan cahaya yang rendah di makmal dan perakam data suhu dan kelembapan relatif (Lascar USB, UK) diletakkan berhampiran bekas peliharaan.

Bekas peliharaan kemudiannya dipindahkan ke dalam sangkar akrilik kering dan dibahagikan kepada dua kumpulan, i.e. kumpulan sampel dan kumpulan rujukan. Kumpulan sampel terdiri daripada puparia yang akan digunakan dalam analisis melalui pemerhatian ciri-ciri intrapuparia manakala kumpulan rujukan digunakan sebagai petunjuk masa penetasan pupa. Proses perkembangan larva diperhatikan sehingga peringkat larva instar ketiga berhenti memakan dan kemudiannya larva pasca makan tersebut diperhatikan setiap jam sehingga proses pupariasi bermula.

Pensampelan Puparia dan Perolehan Data

Permulaan pupariasi dikenalpasti melalui perubahan warna dan tekstur prepupa putih yang semakin mengeras dan gelap (Fraenkel & Bhaskaran 1973) (Rajah 1) manakala kaedah Pensampelan puparia berdasarkan kajian Li et al. (2016). Pada permulaan pupariasi, pupa dipindahkan ke piring petri yang mengandungi kertas tisu lembap dan kemudiannya pupa disampel pada selang masa 3, 6 dan 12 jam.

Puparium dipisahkan daripada pupa dengan menggunakan pin serangga (saiz 0 dan 1) dan stereomikroskop untuk mengurangkan risiko kerosakan terhadap spesimen. Ciri-ciri morfologi luaran pupa diperihalkan dan imej dirakam menggunakan kamera digital 12 megapiksel (Toupcam, China) yang dipasang pada stereomikroskop trinocular SMZ745T (Nikon, Jepun). Tempoh selang masa minimum bagi setiap peringkat perkembangan direkodkan. Untuk menghasilkan garis masa perubahan morfologi intrapuparia, selang masa pembentukan penanda morfologi yang dapat digunakan sebagai penunjuk usia telah direkodkan. Ini termasuklah julat usia puparia ketika setiap pembentukan ciri-ciri paling awal dan paling lambat berlaku. Spesimen pupa yang telah diproses kemudiannya diawet di dalam larutan etanol 70%. Dalam kajian ini, kesemua pupa yang diproses adalah pupa betina.

Analisis Data

Kajian ini menggunakan analisis deskriptif melalui pengukuran sebaran data (nilai minimum dan maksimum) dan kualitatif untuk menghasilkan satu garis masa yang menunjukkan perubahan ciri-ciri intrapuparia *S. genitalis* pada selang masa berbeza. Analisis ini dijalankan dengan menggunakan perisian Microsoft Excel.

Pemprosesan Imej

Latar belakang imej, sorotan dan bayang-bayang diubah menggunakan perisian Adobe Photoshop bagi meningkatkan kualiti imej. Walau bagaimanapun imej pupa telah diasingkan tidak dimanipulasi sepanjang proses ini.

HASIL

Perubahan Morfologi Ketika Peringkat Intrapuparia

Pada hari pertama perkembangan pupa, kutikel pupa diperhatikan terpisah daripada puparium. Badan pupa tidak begitu bersegmen tetapi rangka sefalofarinks masih kelihatan. Selepas beberapa jam perkembangan, kutikel pupa menunjukkan transisi warna daripada lut sinar, kepada warna kuning dan kuning legap (Rajah 1). Selain itu, bentuk badan pupa di dalam puparium juga kekal sama tanpa sebarang pembahagian.

Tempoh intrapuparia dicirikan berdasarkan sampel pupa *S. genitalis* betina dan dibahagikan kepada 14 peringkat seperti berikut, manakala perubahan perkembangan pupa ditunjukkan dalam Rajah 2:



Rajah 1. Pandangan dorsolateral pupa *S. genitalis* (dengan puparium)

S1: Prapupa putih

D0: Pupa melekat pada dinding bekas peliharaan dan tidak bergerak. Satu lapisan lut sinar terbentuk sekeliling larva instar ketiga (Rajah A₀).

S2: Pemanjangan tanduk respiratori

D1: Tanduk respiratori pupa memanjang menembusi puparium dengan badannya masih terkapsul di dalamnya. Sisa larva kelihatan (Rajah B₁, anak panah) dan bahagian genitalia kosong.

D2: Kehilangan sisa larva secara berperingkat. Bahagian genitalia semakin kecil (Rajah C₁). Margin kosta sayap mula terbentuk (Rajah C₂).

S3: Pembahagian toraks dan abdomen

D3: Pada pandangan dorsal, abdomen mula dapat dibezakan dan terpisah daripada toraks (Rajah D₁). Alur longitudinal dapat diperhatikan sepanjang bahagian ventral (Rajah D₂).

S4: Pengecutan kepala

D4: Kepala, toraks dan abdomen lalat dewasa kelihatan (Rajah E₂). Mata dapat dibezakan kepada dua bahagian dengan tompokan lut sinar (Rajah E₂, anak panah)

S5: Pembezaan otot toraks dorsal dan segmen abdomen

D5: Bahagian hujung dorsal abdomen berkembang dan membentuk lubang (Rajah F₃). Segmen dorsal abdomen dapat dibezakan dengan jelas (Rajah F₁, anak panah).

D6: Genitalia mula terbentuk (G₂, anak panah).

D7: Segmen akhir abdomen dapat dibezakan dan secara keseluruhannya, menunjukkan ciri-ciri bentuk lalat dewasa (Rajah H₁).

S6: Mata majmuk kuning

D6: Membran mata majmuk terbentuk dan menjadi warna kuning. Pembentukan sayap di bahagian lateral (Rajah G₂) dan kaki di bahagian ventral (Rajah G₃) dapat diperhatikan.

D7: Mata majmuk beransur menjadi kuning gelap (Rajah H₂). Peringkat ini juga diterima sebagai permulaan peringkat pigmentasi bahagian posterior mata.

S7: Kaki coklat terang

D7: Kaki semakin tebal dan berpigmen (Rajah H₂ dan H₃). Genitalia menjadi semakin jelas kelihatan (Rajah H₁).

S8: Bulu kejur kepala dan skutelum hitam

D7: Terdapat pembentukan bulu pada kepala dan toraks. Peringkat ini menandakan fasa permulaan proses perubahan warna kecoklatan di bahagian kepala dan toraks.

D8: Pembezaan pigmen mula terbentuk di bahagian toraks dan abdomen, dengan bulu halus meliputi abdomen (Rajah I₃) manakala bulu marginal kelihatan (Rajah I₁). Bahagian dorsal tergigit abdomen mula menunjukkan pigmen gelap (Rajah I₁).

S9: Mata majmuk coklat

D8: Mata majmuk mula menunjukkan pigmen berwarna coklat (Rajah I₂) manakala kaki semakin gelap (Rajah I₃). Kaki menunjukkan ciri-ciri yang lebih nyata (kuku, tarsus dan tibia) dan mempunyai bulu kejur.

S10: Mata coklat kemerahan

D9: Warna mata menjadi coklat kemerahan, lipatan sayap berwarna kelabu (Rajah J₂).

S11: Penipisan kutikel pupa

D9: Kutikel pupa menipis, mudah ditanggalkan dan kebanyakan tersimpan di dalam puparium ketika pengasingan puparium (Rajah J₃).

S12: Genitalia semakin gelap

D9: Genitalia ditolak ke arah keluar dan menjadi berwarna kuning terang (Rajah J₃).

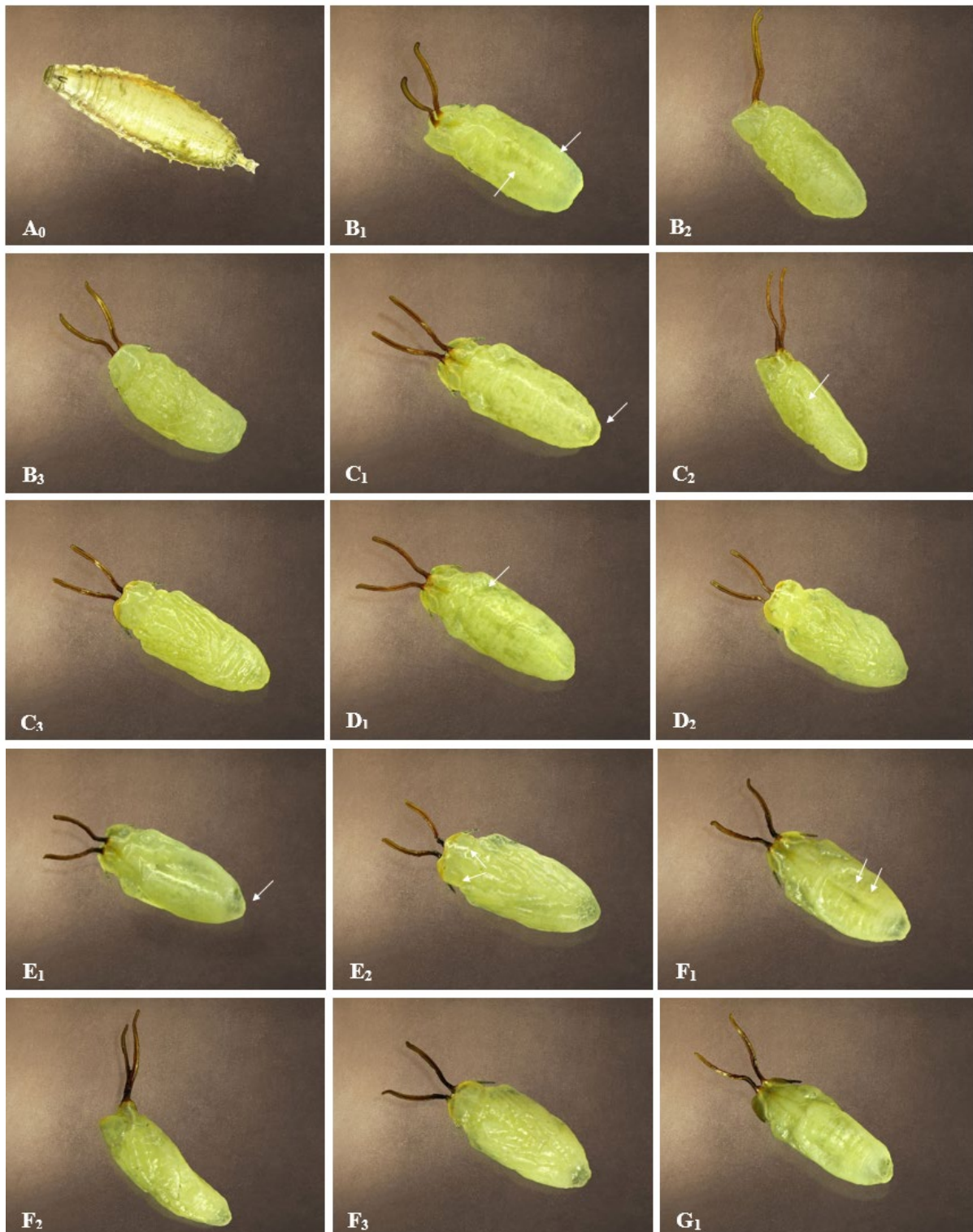
D10: Genitalia lebih jelas kelihatan seperti hampir terbentuk sepenuhnya dan berwarna coklat jingga (Rajah K₂).

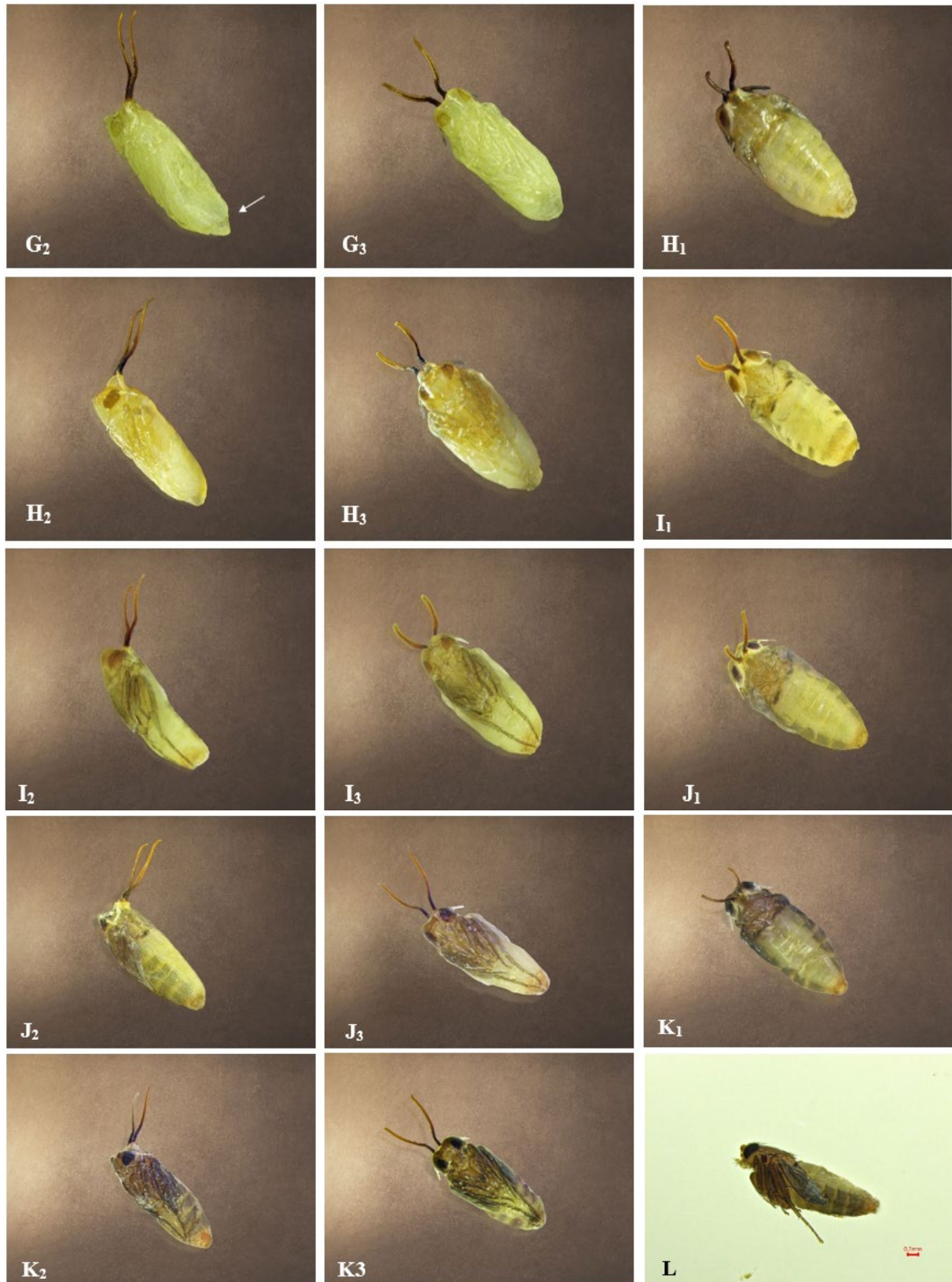
S13: Pigmentasi badan

D10: Kepala dan toraks menjadi coklat gelap (Rajah K₁). Semua bulu kejur pada abdomen menjadi gelap (Rajah K₃).

S14: Mata majmuk hitam

D10: Mata majmuk berubah menjadi hitam secara signifikan (Rajah K₃). Lipatan sayap mula terbentuk dengan tegument bermembran (Rajah K₂).





Rajah 2. Perubahan morfologi pupa *S. genitalis* betina pada suhu bilik. A₀: pandangan dorsal prepupa; B₁ - B₃: pandangan dorsal, lateral dan ventral pupa pada hari pertama; C₁- C₃: pandangan dorsal, lateral dan ventral pupa pada hari ke-2; D₁ - D₂: pandangan dorsal dan ventral pupa pada hari ke-3; E₁ - E₂: pandangan dorsal dan ventral pupa pada hari ke-4; F₁- F₃: pandangan dorsal, lateral dan

ventral pupa pada hari ke-5; G₁- G₃: pandangan dorsal, lateral dan ventral pupa pada hari ke-6; H₁ - H₃: pandangan dorsal, lateral dan ventral pupa pada hari ke-7; I₁ - I₃: pandangan dorsal, lateral dan ventral pupa pada hari ke-8; J₁ - J₃: pandangan dorsal, lateral dan ventral pupa pada hari ke-9; K₁ - K₃: pandangan dorsal, lateral dan ventral pupa pada hari ke-10; L: pandangan lateral lalat dewasa betina yang baharu muncul, Skala bar = 0.2 mm, bagi kesemua gambar

Tempoh Perkembangan Pupa *Spiniphora genitalis* Pada Suhu Bilik

Julat tempoh perkembangan pupa *S. genitalis* ditabulasi berdasarkan perubahan morfologi (Jadual 1) dengan permulaan pupariasi bermula pada jam 0 – 6 dan kemunculan lalat dewasa (*eclosion*) pada jam 240 – 252. Pupa *S. genitalis* mengambil masa kira-kira 10 hari untuk berkembang menjadi lalat dewasa berdasarkan empat peristiwa utama, diikuti beberapa kejadian lain yang berlaku dalam tempoh yang sama. Keempat-empat kejadian tersebut adalah apolisis larva-pupa, pupa kriptosefalik, pupa fanerosefalik dan dewasa farat yang mana warna mata majmuknya bervariasi daripada lut sinar, kuning, coklat, coklat kemerahan kepada hitam. Berdasarkan morfologi, usia minimum pupa *S. genitalis* dapat dianggarkan, khususnya apabila ia mencecah peringkat dewasa farat, dan pemerhatian mendapati kebanyakan peringkat adalah berkait rapat dengan pewarnaan bahagian tubuh.

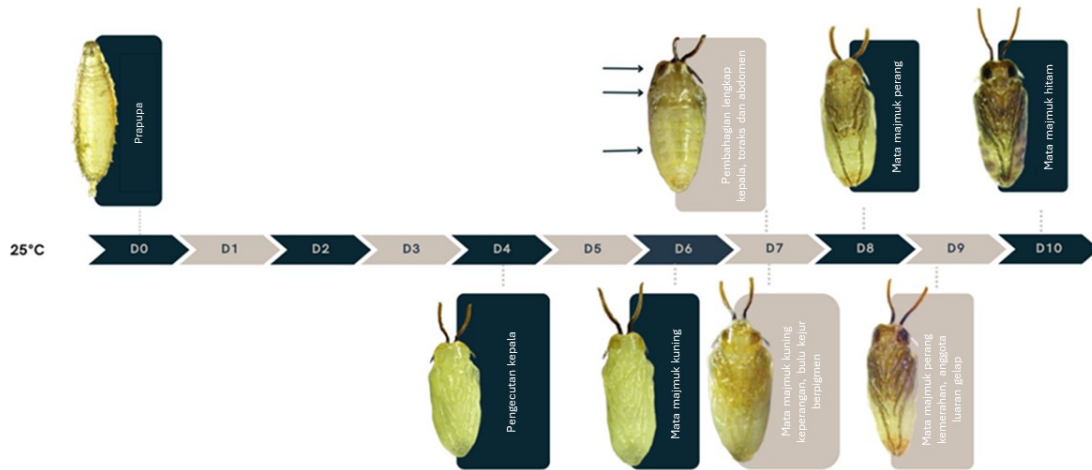
Jadual 1. Tempoh perkembangan pupa *S. genitalis* betina pada suhu bilik

Peringkat		Tempoh (Jam)	
		Min	Max
S0	Prapupa	0	6
S2	Peringkat kriptosefalik	35	48
	- Pemanjangan tanduk respiratori		
	Peringkat fanerosefalik	72	120
S3, S5	- Pembahagian toraks dan abdomen		
S4	- Pengecutan kepala	96	120
	Dewasa farat		
S6	Mata majmuk kuning	144	168
S7	Kaki coklat terang	168	180
S8	Bulu kejur kepala dan skutelum hitam	168	204
S9	Mata majmuk coklat	192	204
S10	Mata majmuk coklat kemerahan	216	228
S11	Penipisan kutikel pupa	216	240
S12	Genitalia gelap	216	240
S13	Pigmentasi badan	228	240
S14	Mata majmuk hitam	230	240
	Kemunculan lalat dewasa	240	252

Garis Masa Perkembangan Intrapuparia *Spiniphora genitalis*

Rajah 3 menunjukkan garis masa penunjuk morfologi utama yang dapat dijadikan sebagai rujukan kepada usia pupa *S. genitalis*. Ciri-ciri morfologi yang paling ketara dapat dilihat pada hari ke-4 hingga hari ke-10 yang mana kepala mula terbentuk dan mata majmuk menjadi lut sinar. Pada hari ke-6, mata majmuk berwarna kuning terang dan dapat dibezakan daripada hari-hari sebelumnya manakala pada hari ke-7, bahagian kepala, toraks dan abdomen dapat

dibezakan. Terdapat juga perubahan ketara yang boleh dijadikan penunjuk usia seperti warna mata majmuk bertukar menjadi kuning gelap manakala kaki berwarna coklat terang.



Rajah 3. Garis masa perkembangan (hari) pupa *S. genitalis* betina berdasarkan ciri-ciri morfologi intrapuparia utama yang berpotensi dijadikan rujukan untuk anggaran usia

Dalam kajian ini, penunjuk morfologi intrapuparia yang paling utama adalah warna mata majmuk. Apabila usia semakin meningkat, keamatan warna semakin gelap dengan variasi warna kuning, coklat, coklat kemerahan dan hitam. Contohnya, pada hari ke-8, mata majmuk berwarna coklat bertukar menjadi coklat kemerahan pada hari ke-9 sebelum menjadi warna hitam pada hari ke-10.

PERBINCANGAN

Kajian ini memperihalkan perubahan morfologi intrapuparia yang pertama bagi *S. genitalis* pada suhu bilik. Maklumat ini berpotensi untuk digunakan sebagai rujukan anggaran usia pupa spesies ini dalam siasatan entomologi forensik. Pada ketika ini, maklumat mengenai perkembangan intrapuparia Phoridae dan lain-lain Diptera nekrofagus amat terhad dan perlu diingatkan bahawa ciri-ciri morfologi utama dan garis masa perkembangan intrapuparia sesuatu spesies tidak sesuai untuk digunakan pada spesies lain. Bagi mengatasi isu ini, kajian ini menggunakan garis masa perkembangan dan peringkat perkembangan utama spesies Diptera lain yang hampir sama dengan spesies yang dikaji (Feng & Liu 2013; Karabey & Sert 2014).

Berdasarkan kajian ini, sejumlah 14 peringkat perkembangan pupa *S. genitalis* telah dikenalpasti dan kami mendapati tanduk pernafasan yang terbentuk sekitar 35 – 48 jam selepas pupariasi dapat digunakan sebagai penunjuk berguna untuk membezakan pupa kriptosefalik dan fanerosefalik. Ini bermakna, penyiasat boleh menggunakan pembentukan tanduk respiratori sebagai penanda perubahan kriptosefalik – fanerosefalik tanpa perlu membedah

pupa kerana ia secara tidak langsung boleh merosakkan pupa hidup jika membran kutikelnya bocor.

Selain itu, dimorfisme seksual juga perlu diberikan perhatian semasa menggunakan spesimen pupa lalat phorid untuk menganggar PMI_{min}. Sebagai contoh, pupa jantan *Megaselia scalaris* (Loew) dan *M. spiracularis* Schmitz lebih kecil dan berkembang lebih cepat daripada pupa betina (Lee et al. 2021; Zuha & Omar 2014). Sepanjang tempoh kajian ini, tiada ciri-ciri khusus pada pupa yang dapat membezakan jantina *S. genitalis* hingga pada hari ke-9 yang mana pembentukan genitalia mula diperhatikan. Sehubungan itu, kami mencadangkan supaya perbandingan relatif morfometri puparia *S. genitalis* digunakan sebagai penunjuk jantina, e.g. pupa *S. genitalis* betina memiliki purata saiz 5.9 ± 0.26 mm panjang dan 1.73 ± 0.10 mm lebar, manakala pupa *S. genitalis* jantan lebih kecil dengan purata saiz 5.35 ± 0.24 mm panjang dan 1.63 ± 0.10 mm lebar.

Walau bagaimanapun, ketepatan data perkembangan intrapuparia dalam kajian ini mungkin dipengaruhi oleh susunan pensampelan dan suhu persekitaran. Berdasarkan kajian ini, spesimen disampel pada setiap selang 3, 6 dan 12 jam tetapi teknik ini berpotensi mengabaikan fasa perkembangan yang kritikal di luar tempoh pensampelan. Selang masa pensampelan yang lebih panjang mungkin boleh mengakibatkan sebarang perubahan intrapuparia yang berlaku secara mendadak tidak dapat diperhatikan, dan seterusnya tidak dapat memberikan gambaran penuh mengenai perkembangan *S. genitalis*. Bagi mengatasi masalah ini, kajian lanjutan perlu mengambil kira kekerapan pensampelan yang lebih tinggi dengan selang masa yang lebih singkat. Selain itu, suhu bilik naik-turun turut dapat mempengaruhi tempoh perkembangan yang normal, seterusnya meningkatkan variasi kadar perkembangan pupa. Untuk mengatasi isu ini, kajian masa depan perlu mengkaji perkembangan pupa pada suhu malar yang berlainan supaya perkembangan intrapuparia *S. genitalis* dapat difahami dengan lebih terperinci.

KESIMPULAN

Secara keseluruhannya, perubahan morfologi intrapuparia *S. genitalis* dalam kajian ini dapat digunakan sebagai rujukan asas untuk menentukan usia pupa. Sejumlah 14 peringkat perkembangan telah dikenalpasti bagi pupa *S. genitalis*, dan tempoh untuk pupa *S. genitalis* melengkapkan perkembangan pupa pada suhu bilik 25°C – 37°C adalah 240–252 jam (kira-kira 10 hari). Sepanjang tempoh perkembangan, warna mata majmuk serta beberapa ciri lain yang dinyatakan dapat dijadikan penanda untuk menentukan usia pupa dalam penganggaran PMI_{min} bagi aplikasi entomologi forensik.

PENGHARGAAN

Sekalung penghargaan kepada kakitangan makmal Program Sains Forensik, Fakulti Sains Kesihatan, UKM, terutamanya Puan Norwahida Zamani dan Encik Muhamad Hilmi Baba kerana memberikan bantuan teknikal serta peralatan penyelidikan. Penghargaan turut diberikan kepada penyelidik-penyelidik di Makmal Entomologi Forensik, iaitu Wong Junfung, Ahmad Hadri Juma'at, Logeswari Parameswaran, Muhammad Hasrul dan Chin Jian Pei.

PENGISYTIHARAN PENGARANG

Pernyataan Biaya

Kajian ini telah dijalankan dengan dana Tabung Agihan Penyelidikan (TAP-K014874).

Percanggahan Kepentingan

Penulis mengakui tiada percanggahan kepentingan dalam kajian yang dijalankan.

Penyataan Etika

Tiada isu etika yang terkait dengan kajian ini.

Pernyataan Kehadiran Data Tambahan

Ini adalah sebahagian daripada penyelidikan PhD (UKM) bertajuk Ontogeni, Taksonomi dan Ekologi *Spiniphora genitalis* Schmitz, 1940 (Diptera: Phoridae) Sebagai Penunjuk Entomologi Forensik yang sedang dijalankan oleh pengarang kedua.

Sumbangan Pengarang

Hemavashini Krebanatham (HM) menjalankan pensampelan, pemprosesan spesimen serta analisis perkembangan intrapuparia *S. genitalis*; Reena Abd. Rashid (RAR) menguruskan koloni serta mengkaji perkembangan *S. genitalis*; Raja M. Zuha (RMZ), HM dan RAR bertanggungjawab ke atas reka bentuk penyelidikan serta tafsiran data berdasarkan imej intrapuparia *S. genitalis* yang dirakam oleh HM. Manuskrip asal dalam Bahasa Inggeris disediakan bersama oleh HM dan RMZ, dan kemudiannya disunting serta diterjemah ke Bahasa Melayu oleh RAR dan RMZ. Semua pengarang telah membaca dan memperakukan suntingan akhir manuskrip.

RUJUKAN

- Barros-Cordeiro, K.B., Pujol-Luz, J.R., Name, K.P.O. & B ao, S.N. 2016. Intra-puparial development of the *Cochliomyia macellaria* and *Lucilia cuprina* (Diptera, Calliphoridae). *Revista Brasileira de Entomologia* 60: 334–340.
- Beaver, R. 1987. Biological studies of muscoid flies (Diptera) breeding in mollusc carrion in Southeast Asia. *Medical Entomology and Zoology* 37: 205–211.
- Brown, K., Thorne, A. & Harvey, M. 2015. *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae) pupae: A timeline of external morphological development and a new age and PMI estimation tool. *International Journal of Legal Medicine* 129(4): 835–850.
- Da Silva, S.M. & Moura, M.O. 2019. Intrapuparial development of *Hemilucilia semidiaphana* (Diptera: Calliphoridae) and its use in forensic entomology. *Journal of Medical Entomology* 56(6): 1623–1635.
- Disney R H L. 1994. *Scuttle Flies: The Phoridae*. London: Chapman & Hall.
- Disney, R.H.L. & B anziger, H. 2009. Further records of scuttle flies (Diptera : Phoridae) imprisoned by *Aristolochia baenzigeri* (Aristolochiaceae) in Thailand. *Journal of the Swiss Entomological Society* (82): 233–251.
- Feng, D.-X. & Liu, G.-C. 2013. Pupal age estimation of forensically important *Megaselia spiracularis* Schmitz (Diptera: Phoridae). *Forensic Science International* 231(1–3): 199–203.
- Flissak, J.C. & Moura, M.O. 2018. Intrapuparial development of *Sarconesia chlorogaster* (Diptera: Calliphoridae) for postmortem interval estimation (PMI). *Journal of Medical Entomology* 55(2): 277–284.
- Hall, M.J.R. & Martin-Vega, D. 2019. Visualization of insect metamorphosis. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 374: 20190071.
- Joyce, C.R. 1967. Proceedings of the Hawaiian Entomological Society for 1966. *Hawaiian Entomological Society. Honolulu, Hawaii* 19(3): 334.
- Karabey, T. & Sert, O. 2014. The analysis of pupal development period in *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) forensically important insect. *International Journal of Legal Medicine* 132: 1185–1196.
- Lee, Y.M., Disney, R.H.L. & Zuha, R.M. 2021. Development of forensically important scuttle fly, *Megaselia spiracularis* Schmitz (Diptera: Phoridae) at ambient temperatures with distinguishing features of the larval instars. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 24(3): 858–865.
- Li, L., Wang, Y. & Wang, J. 2016. Intra-puparial development and age estimation of forensically important *Hermetia illucens* (L.). *Journal of Asia-Pacific Entomology* 19(1): 233–237.

- Oliva, A. 2004. Insects of forensic interest in Buenos Aires (Argentina). Addenda et corrigenda. I. Phoridae (Diptera: Brachycera), Physis (Buenos Aires), *Sección C.* 60(138–139): 45–50.
- Schmitz, H., 1940. Eine neue ostasiatische *Spiniphora* (Phoridae, Diptera). *Naturhistorisch Maandblad* 29(8): 78-79.
- Sharanya, B. & Zuha, R.M. 2019. A preliminary geometric morphometric assessment of two forensically important blow fly larvae in Malaysia, *Chrysomya megacephala* (Fabricius) and *Chrysomya rufifacies* (Macquart) (Diptera: Calliphoridae). *Serangga* 24(1):70–79.
- Thyssen, P.J., Aquino, M.F., Purgato, N.C., Martins, E., Costa, A.A., Lima, C.G. & Dias, C.R. 2018. Implications of entomological evidence during the investigation of five cases of violent death in Southern Brazil. *Journal of Forensic Science and Research* 2(1): 001–008.
- Wells, J.D. & LaMotte, L. R. 2020. Chapter 9: Estimating the postmortem interval. Dlm. Byrd, J.H. & Tomberlin, J.K. (pnyt.) *Forensic Entomology – the Utility of Arthropods in Legal Investigations*, hlm. 213 – 224. Boca Raton: CRC Press.
- Zhang, Y., Wang, Y., Yang, L., Tao, L. & Wang, J. 2018. Development of *Chrysomya megacephala* at constant temperatures within its colony range in Yangtze River Delta region of China. *Forensic Sciences Research* 3(1): 74–82.
- Zuha, R.M. & Omar, B. 2014. Developmental rate, size, and sexual dimorphism of *Megaselia scalaris* (Loew) (Diptera: Phoridae): Its possible implications in forensic entomology. *Parasitology Research* 113(6): 2285-2294.
- Zuha, R.M., Ankasha, S.J., Disney, R.H.L. & Omar, B. 2015. Indoor decomposition study in Malaysia with special reference to the scuttle flies (Diptera: Phoridae). *Egyptian Journal of Forensic Sciences* 6(3): 216–222.
- Zuha, R.M., See, H.-W., Disney, R.H.L. & Omar, B. 2017. Scuttle flies (Diptera: Phoridae) inhabiting rabbit carcasses confined to plastic waste bins in Malaysia include new records and an undescribed species. *Tropical Life Sciences Research* 28(1): 131–143.