

Pengaruh Suhu Terhadap Perkembangan Lalat Berkepentingan Forensik
Chrysomya villeneuvi Patton (Diptera: Calliphoridae)
(Effects of Temperatures on Development of a Forensically Important Fly
Chrysomya villeneuvi Patton (Diptera: Calliphoridae))

AHMAD FIRDAUS MOHD. SALLEH*, MOHAMED ABDULLAH MARWI, SYAMSA RIZAL ABDULLAH,
AISHAH HANI AZIL & BAHARUDIN OMAR

ABSTRAK

Entomologi forensik adalah satu bidang ilmu yang menggunakan serangga sebagai bahan bukti untuk menganggarkan selang masa kematian atau selang post mortem (PMI). Penentuan PMI tersebut berdasarkan kepada saiz dan peringkat perkembangan serangga. *Chrysomya villeneuvi* merupakan salah satu spesies langau yang boleh dijadikan sebagai petunjuk yang baik untuk menganggarkan PMI apabila ia ditemukan pada mayat. Kajian ini bertujuan untuk menghasilkan suatu data asas dan graf perkembangan bagi lalat *Ch. villeneuvi* pada suhu yang berbeza. Data yang diperoleh juga digunakan untuk membangunkan jadual jam darjah terkumpul (ADH). Justifikasi kajian dijalankan kerana data perkembangan lalat spesies ini belum dibangunkan di Malaysia. Penentuan PMI terpaksa dilakukan dengan berpandukan kepada data perkembangan *Ch. megacephala*. Ini akan menyebabkan pengiraan PMI menjadi kurang tepat. Kajian terdahulu juga hanya melibatkan kajian berkaitan morfologi dan tingkah laku spesies ini. Kajian perkembangan telur, larva dan pupa lalat *Ch. villeneuvi* dijalankan pada suhu bawah 25, 27, 30, 33 dan 37°C di makmal dengan menggunakan kebuk pertumbuhan serangga. Sumber asal lalat dewasa diperolehi dengan meletakkan bangkai tikus di Pusat Penyelidikan Universiti Malaya, Batu 16, Gombak. Lalat dewasa dipelihara di makmal untuk dijadikan sumber koloni. Lebih kurang 150 biji telur dibiakkan dengan meletakkannya ke dalam bekas yang mengandungi 200 g hati lembu sebagai sumber makanan untuk larva yang baru menetas. Lima ekor larva diukur panjangnya setiap tiga jam untuk mendapatkan satu nilai purata untuk setiap suhu. Pemprosesan slaid dan pengambilan foto larva dilakukan untuk mengetahui peringkat perkembangan larva. *Ch. villeneuvi* mengambil masa selama 9.40 ± 0.02 hari pada suhu 25°C, 9.34 ± 0.04 hari (27°C), 9.00 ± 0.07 hari (30°C), 7.95 ± 0.02 hari (33°C) dan 7.51 ± 0.02 hari (37°C) untuk melengkapkan satu kitar hidup. Pada suhu pembiakan yang berbeza, terdapat perbezaan signifikan ($p < 0.001$) ke atas masa perkembangan kitar hidup lalat *Ch. villeneuvi*. Semakin tinggi suhu dan nilai ADH, semakin pendek satu kitar hidup lalat *Ch. villeneuvi*. Kajian ini menyatakan tentang tempoh peringkat dalam kitar hidup berdasarkan suhu membantu dalam pembangunan data ADH. Penyiasat forensik di Malaysia boleh menganggarkan PMI berdasarkan graf perkembangan dan data ADH yang diperolehi daripada kajian ini apabila *Ch. villeneuvi* ditemui pada mayat.

Kata kunci: *Chrysomya villeneuvi*; jam darjah terkumpul (ADH); selang post-mortem; suhu

ABSTRACT

Forensic entomology is a field of knowledge that uses insects as evidence to estimate the duration after death or post mortem interval (PMI). The PMI determination is based on the developmental size and stage of the insects found on the dead body. *Chrysomya villeneuvi* is one of the important species of flies that can serve as an indicator for estimating the PMI. This study aimed to develop a database on the developmental progress of *Ch. villeneuvi* at different temperatures. The data are also used to develop accumulated degree hours (ADH) tables. Justification of this study is because the developmental data of *Ch. villeneuvi* have not been developed in Malaysia. PMI determinations were made by referring to *Ch. megacephala* developmental data. This will cause calculation of PMI becomes less precise. Earlier studies also involve a relating morphology and behavior of this species. Observations on the development of eggs, larvae and pupae of *Ch. villeneuvi* were carried out at 25, 27°C, 30, 33 and 37°C inside an insect growth chamber. Adult flies were obtained by placing dead rats at the University of Malaya Research Center, 16th Mile, Gombak. These adult flies were reared in the laboratory as a source for the colony. Approximately 150 eggs were placed in a container with 200 g of beef liver as a food source for newly hatched larvae. The lengths of five larvae were measured every 3 h to get an average value for size at each temperature. Photographs and slides were also processed to ascertain the larval development. *Ch. villeneuvi* needed $9:40 \pm 0.02$ days at 25°C, $9:34 \pm 0.04$ days (27°C), $9:00 \pm 0.07$ days (30°C), $7:95 \pm 0.02$ days (33°C) and $7:51 \pm 0.02$ days (37°C) to complete its life cycle. There is a significant difference ($p < 0.001$) on the duration of the life cycle of *Ch. villeneuvi* at different temperatures. The higher the temperature and the ADH, the shorter of the life cycle of flies *Ch. villeneuvi*. Knowledge about the duration of stages in a temperature-dependent life cycle facilitates the development of ADH data. Forensic investigators in Malaysia can calculate PMI based on developmental graft and ADH data obtained from this study when *Ch. villeneuvi* is found on corpses.

Keywords: Accumulated degree hour (ADH); *Chrysomya villeneuvi*; post-mortem interval; temperature

PENGENALAN

Entomologi forensik adalah kajian mengenai serangga yang berkaitan dengan kematian dan proses dekomposisi terutama dalam kes-kes jenayah untuk memperoleh maklumat berguna dalam penyiasatan (Amendt et al. 2011) seperti pembunuhan, bunuh diri, rogol, penderaan fizikal (Gill 2005) serta kes-kes pengabaian warga tua dan kanak-kanak (Keh 1985). Sumbangan utama biasanya dibuat oleh ahli-ahli entomologi forensik dalam penyiasatan kematian ialah selang masa kematian (PMI), iaitu anggaran masa antara waktu kematian dan mayat ditemui (Amendt et al. 2007). Pengiraan PMI ini adalah diasaskan kepada umur larva tertua yang dikutip daripada mayat dan/atau masa yang diperlukan untuk larva lalat tersebut berkembang kepada peringkat dewasa (Zoe & Martin 2003).

Data perkembangan larva lalat merupakan faktor penting dalam penentuan PMI (Ireland & Turner 2006). Hall (1948) telah membangunkan data perkembangan lalat terawal diikuti dengan Greenberg (1985) yang membangunkan data *Accumulated Degree Hours* (ADH). Jason dan Jerry (1997) menyatakan suhu memainkan peranan yang penting dalam perkembangan larva lalat *Chrysomya rufifacies*.

Lalat *Chrysomya villeneuvei* dipilih sebagai bahan kajian kerana spesies ini telah mula dijumpai dalam kes-kes forensik yang sebelum ini didominasi oleh spesies *Ch. megacephala* dan *Ch. rufifacies* di Malaysia (Ahmad et al. 2007). Di samping itu, spesies ini juga telah mula beradaptasi di kawasan bandar menjadikan peluang ia ditemui dalam kes forensik lebih tinggi (Sukontason et al. 2007). Tiadanya data perkembangan bagi spesies ini juga membuatkan ia dipilih sebagai bahan kajian. Di Malaysia, kehadiran lalat daripada spesies ini pada mayat yang telah mereput dilaporkan oleh Ahmad et al. (2008) dan Nor Affandy et al. (2003). Sukontason et al. (2003) melaporkan penemuan larva lalat *Ch. villeneuvei* pada mayat yang dijumpai di kawasan hutan di Thailand.

Kajian ini bertujuan untuk menghasilkan satu data pertumbuhan pada suhu yang berbeza iaitu 25, 27, 30, 33 dan 37°C. Selain itu, menyedari bahawa perkembangan larva adalah bergantung kepada suhu persekitaran, maka pangkalan data ADH bagi spesies ini turut dibangunkan.

BAHAN DAN KAEDAH

Lalat dewasa *Ch. villeneuvei* dikumpul dengan menggunakan perangkap bersaiz 22 cm panjang × 22 cm lebar dan 32 cm tinggi dengan bangkai tikus putih (*Rattus norvegicus*) daripada jenis Sprague-Dawley dengan berat lebih kurang 300 hingga 400 g digunakan sebagai umpan. Lalat dewasa yang ditangkap dikenal pasti dengan menggunakan kekunci piawai oleh Kurahashi et al. (1997). Ia dipelihara di dalam insektarium pada suhu 20 hingga 25°C ± 2°C dengan kelembapan relatif lebih kurang 60% dan jangka masa pencahayaan adalah 12:12 (Ahmad Firdaus et al. 2009). Lalat dewasa *Ch. villeneuvei* diberi makan campuran gula

dan susu tepung sebagai sumber proteinnya (Grassberger & Reiter 2001).

Sebanyak 100 g hati lembu diletakkan ke dalam sangkar sebagai medium untuk lalat dewasa bertelur di atasnya. Tarikh dan masa lalat dewasa mula bertelur dicatatkan. Sebanyak 150 biji telur diambil dan diletakkan ke dalam bekas yang mengandungi hati lembu (200 g) (Jason & Jerry 1997) yang telah dipotong seperti kiub (1×1×1 cm) (Grassberger & Reiter 2001). Bekas kemudian dimasukkan ke dalam inkubator (EnviroMaker, FS-9383, Vorter Technology Industries, Malaysia) yang telah ditetapkan suhunya (suhu 25, 27, 30, 33 dan 37°C dengan kelembapan relatif 70-85%) serta pendedahan cahaya sebanyak 12:12. Tarikh dan masa telur lalat menetas juga dicatatkan.

Lima ekor larva paling besar diambil dan dimatikan dengan air panas (suhu 60°C) setiap tiga jam dari 8.00 pagi hingga 5.00 petang sebelum diawet dengan alkohol 70%. Baki larva dibiakkan ke peringkat seterusnya iaitu sehingga ke peringkat instar tiga lanjut (L3 lanjut). Larva dipindahkan ke dalam bekas yang mengandungi serbuk kayu apabila ia berada pada peringkat L3 lanjut bagi membantu proses menjadi pupa. Pengawetan larva dihentikan apabila sejumlah 10% daripada baki larva telah berkembang menjadi peringkat pupa (Grassberger & Reiter 2001). Puparium dimasukkan ke dalam botol plastik (7.5 × 3.5 cm) dan dibiarkan menetas menjadi lalat dewasa. Tarikh dan masa lalat dewasa muncul dicatatkan. Kajian ini dilakukan sebanyak tiga replikasi untuk mendapatkan satu purata data perkembangan. Pengukuran larva dilakukan dengan menggunakan perisian Leica Application Suite EZ4D Version 2.8.1 (Leica. Microsystems Ltd., Heerbrugg, Switzerland). Peringkat larva ditentukan dengan memproses larva untuk dijadikan slaid seperti kaedah yang digunakan oleh Omar et al. (1994a).

Tempoh perkembangan ditentukan berdasarkan saiz larva dan peringkat larva. Nilai ADH pula dikira berdasarkan formula berikut: suhu perkembangan (T) – suhu minimum perkembangan (TL) × tempoh perkembangan (jam) (Neideregger et al. 2010). Data perkembangan dianalisis menggunakan perisian SPSS versi 17.0. Selang keyakinan yang digunakan ialah 95%. Analisis deskriptif dijalankan bagi memperoleh nilai purata, median dan SEM. Ujian ANOVA digunakan dengan aras signifikan, $p < 0.05$. Variabel tak bersandar ialah suhu (°C) dan variabel bersandar ialah saiz larva (mm).

HASIL

Purata panjang larva instar I (L1) pada suhu 25°C ialah 1.49 ± 0.18 mm. Larva instar II (L2) pula berukuran 3.88 ± 0.02 mm panjang dan boleh mencapai panjang maksimum sehingga 5.92 ± 0.06 mm. Larva instar III (L3) berukuran sehingga 11.78 ± 0.02 mm panjang. Selepas itu panjang larva akan mula berkurangan sehingga ke 10.59 ± 0.02 mm. Larva tidak aktif memakan pada peringkat ini dan mula mencari tempat yang kering untuk menjadi pupa. Pada masa ini, larva dikenali sebagai larva instar III lanjut

(L3 lanjut). Hasil kiraan purata, lalat dewasa muncul dari puparium pada jam ke 225.49 ± 0.33 . Ini bersamaan dengan 9.40 ± 0.02 hari untuk melengkapkan satu kitar hidup.

Pada suhu 27°C , L1 berukuran 1.51 ± 0.01 mm panjang manakala L2 berukuran antara 3.87 ± 0.02 mm hingga 6.20 ± 0.05 mm panjang. Panjang L3 pula bermula daripada 6.21 ± 0.06 mm hingga 12.27 ± 0.14 mm. *Ch. villeneuvi* mengambil masa selama 9.34 ± 0.04 hari untuk melengkapkan kitar hidupnya pada suhu 27°C .

Pada suhu 30°C , L1 berukuran 1.53 ± 0.03 mm panjang sementara L2 berukuran antara 3.68 ± 0.04 mm hingga 7.21 ± 0.11 mm panjang. L3 berukuran daripada 7.22 ± 0.06 mm panjang sehingga 12.75 ± 0.26 mm. Pada suhu ini, kitar hidup lalat *Ch. villeneuvi* mengambil masa selama 215.90 jam atau bersamaan dengan 9.00 ± 0.07 hari.

Saiz L1 pada suhu 33°C ialah 1.59 ± 0.03 mm panjang. Panjang L2 adalah antara 3.72 hingga 7.68 ± 0.11 mm. L3 berukuran sehingga 12.82 ± 0.14 mm dan semakin berkurang kepada 10.64 ± 0.12 mm. Pada suhu ini, hampir separuh daripada kitar hidup *Ch. villeneuvi* berada pada peringkat pupa iaitu selama 94.46 ± 1.15 jam. Kitar hidup lalat *Ch. villeneuvi* pada suhu ini ialah selama 7.95 ± 0.02 hari.

L1 muncul dengan panjang 1.59 ± 0.03 mm pada suhu 37°C . Panjang L2 adalah antara 3.97 ± 0.2 mm hingga 7.84 ± 0.06 mm. Panjang maksimum L3 ialah 12.63 ± 0.16 mm. Larva instar III lanjut akan mengecut sehingga saiz berkurangan kepada 10.40 ± 0.05 mm untuk bertukar kepada peringkat pupa. Lalat *Ch. villeneuvi* mengambil masa selama 7.51 ± 0.02 hari untuk melengkapkan kitar hidupnya.

PERBINCANGAN

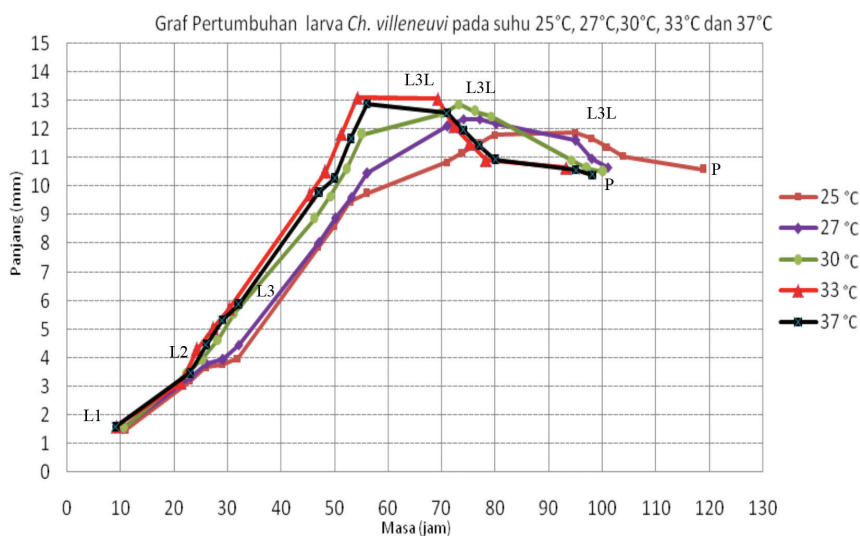
Suhu memainkan faktor penting dalam mempengaruhi dan mengawal aktiviti serangga serta perkembangan larva

seperti yang dilaporkan sebelum ini (Marinho et al. 2006). Dalam kajian ini, perkembangan larva paling perlahan pada suhu 25°C jika dibandingkan dengan suhu-suhu lain iaitu keputusan yang sama direkodkan oleh Payne (1965) dan Smith (1986).

Daripada kajian yang dijalankan, pada suhu pembiakan yang berbeza, terdapat perbezaan signifikan ($p < 0.001$) ke atas masa perkembangan kitar hidup lalat *Ch. villeneuvi*. Didapati semakin meningkat suhu, semakin cepat perkembangan kitar hidup spesies *Ch. villeneuvi*. Ini bersamaan dengan Ames dan Turner (2003) dan Sukontason et al. (2008) yang menyatakan semakin tinggi suhu, semakin cepat perkembangan berlaku. Peningkatan suhu didapati meningkatkan kadar metabolisme dan tenaga kinetik sesuatu larva.

Kajian ini menunjukkan terdapat perbezaan signifikan pada perkembangan peringkat larva instar I antara suhu 25 , 27 dan 30°C . Pada peringkat larva instar II, perkembangan larva *Ch. villeneuvi* menunjukkan terdapat perbezaan yang signifikan pada semua suhu perkembangan. Pada peringkat larva instar III pula, hanya pada suhu 30°C dan 33°C menunjukkan perbezaan yang signifikan ke atas perkembangan larva. Peringkat instar III lanjut menunjukkan terdapat perbezaan signifikan antara setiap suhu pembiakan. Pada suhu 27 dan 30°C , perkembangan pupa tidak menunjukkan perbezaan yang signifikan berbanding dengan tiga suhu lain.

Suhu juga memberi kesan kepada panjang larva di mana semakin tinggi suhu, lebih panjang larva tersebut (Day & Wallman 2006). Purata panjang larva *Ch. villeneuvi* meningkat dengan cepat pada peringkat awal perkembangan sehinggalah ia sampai kepada peringkat larva instar III lanjut. Selepas itu, saiznya akan berkurangan sedikit demi sedikit akibat kontraksi kutikel untuk bertukar kepada peringkat pupa. Oleh sebab itu, graf perkembangan larva yang diperoleh berbentuk



RAJAH 1. Graf pertumbuhan larva *Ch. villeneuvi* pada suhu 25 , 27 , 30 , 33 dan 37°C

sigmoid (Donovan et al. 2006) sama seperti yang diperoleh dalam kajian ini.

Peringkat larva lanjut dan pupa mengambil lebih kurang 57- 67% jumlah keseluruhan peringkat perkembangan *Ch. villeneuvi*. Greenberg (1985) pula menyatakan peringkat larva lanjut dan pupa mengambil masa hampir 75% dari keseluruhan kitar hidup langau. Ini mungkin disebabkan oleh suhu kajian yang digunakan adalah lebih rendah (22°C - 29°C) berbanding kajian ini di samping spesies yang digunakan adalah berbeza iaitu *Phormia regina* (Meigen), *Phaenicia sericata* (Meigen), *Calliphora vicina* (Robineau-Desvoidy) dan *Megaselia scalaris* (Loew).

Kitar hidup *Ch. villeneuvi* selama 9.34 ± 0.04 pada suhu 27°C dalam kajian ini adalah hampir sama dengan *Ch. albiceps* (Wiedemann) pada suhu perkembangan purata 26.7°C di Amazon, Brazil (Barros-Souza et al. 2012) iaitu selama 9.25 hari. Ini bertepatan dengan Sukontason et al. (2003) yang menyatakan kedua-dua spesies ini mempunyai persamaan kerana mempunyai tuberkulum pada badannya. Di samping itu, kedua-dua lalat ini juga merupakan spesies monogenik (Barros-Souza et al. 2012; Omar et al. 1994b).

Kajian ini juga menunjukkan perkembangan larva *Ch. villeneuvi* lebih cepat pada suhu 37°C (Jadual 1). Ini menunjukkan bahawa aktiviti memakan meningkat berbanding pembiakan pada suhu yang lebih rendah. Ini bersamaan dengan Niederegger et al. (2010) yang menyatakan semakin tinggi suhu pembiakan larva, semakin kerap otot faringel akan menguncup. Keadaan ini akan menyebabkan pengambilan makanan per unit masa juga akan meningkat. Peningkatan aktiviti memakan ini akan menyebabkan saiz larva yang dipelihara pada suhu yang lebih tinggi akan menyebabkan larva lebih cepat memanjang dan peringkat perkembangan menjadi semakin cepat. Charabidzea et al. (2008) menyatakan apabila suhu meningkat, larva akan bergerak dan berkontraksi dengan lebih cepat dengan peningkatan kelajuan akan meningkatkan fungsi panjang badan larva. Miller (1929) menyatakan bahawa kadar kontraksi larva akan meningkat secara langsung dengan suhu.

Penentuan suhu minimum perkembangan amat penting dalam pengiraan ADH. Di dalam kajian ini, suhu

minimum perkembangan ditentukan berdasarkan kajian lepas yang menggunakan genus sama (Well 1994). Byrd dan Butler (1996) juga menggunakan suhu 10°C sebagai suhu minimum perkembangan dalam kajian ke atas *Cochliomya macellaria*. Kajian ini mendapati sebanyak 175.95 unit termal terkumpul untuk telur *Ch. villeneuvi* menetas pada suhu 27°C manakala untuk spesies *Ch. megacephala* memerlukan sebanyak 174.73 unit termal (pada suhu 26.7°C). Ini bersamaan dengan Davies dan Ratcliffe (1994) yang mencadangkan bahawa nilai ADH akan dijangka lebih kurang sama untuk dua spesies kongenerik yang sama saiz.

Keputusan menunjukkan jumlah keseluruhan nilai ADH meningkat secara terus dengan peningkatan suhu (Jadual 2). Walau bagaimanapun, peningkatan nilai ADH ini adalah berlawanan dengan tempoh kitar hidup *Ch. villeneuvi* yang semakin cepat membesar. Konsep ADH menerangkan nilai tetap aktiviti metabolik dikawal oleh masa dan suhu.

Umur larva boleh ditentukan berdasarkan saiz larva yang diawet, tempoh masa larva yang dipelihara sehingga menjadi lalat dewasa dan data ADH yang dibina. PMI ditentukan dengan mengira ke belakang berdasarkan tarikh pengumpulan spesimen dan masa kemunculan lalat dewasa. Umur larva boleh ditentukan dengan segera berdasarkan panjangnya sekiranya larva masih belum memasuki peringkat L3 lanjut. Ini kerana dalam peringkat L3 lanjut, saiz larva semakin berkurangan dan ia hampir menyamai saiz L3.

KESIMPULAN

Perkembangan *Ch. villeneuvi* bergantung kepada suhu persekitaran kerana semakin meningkat suhu dan nilai ADHnya, semakin cepat ia melengkapkan kitar hidup. Kajian ini berjaya membangunkan data perkembangan larva dan data ADH *Ch. villeneuvi* yang pertama di Malaysia. Data daripada kajian ini boleh digunakan oleh ahli entomologi dan penyiasat forensik untuk menganggarkan PMI berdasarkan graf pertumbuhan dan data ADH yang diperoleh daripada kajian ini apabila *Ch. villeneuvi* ditemui pada mayat.

JADUAL 1. Purata tempoh perkembangan *Ch. villeneuvi*

Peringkat	Tempoh (Jam)				
	25°C	27°C	30°C	33°C	37°C
Telur	10.96±0.18	10.35±0.11	10.59±0.17	9.17±0.15	9.11±0.19
Instar I	19.41±0.30	17.21±0.31	13.07±0.06	13.55±0.58	15.37±0.79
Instar II	9.00±0.24	12.00±0.30	15.00±0.58	15.00±0.66	15.00±0.61
Instar III	57.00±0.58	39.00±0.30	36.00±0.58	24.00±0.66	24.00±0.61
Instar III lanjut	24.50±0.29	24.00±0.30	27.00±0.58	34.50±1.50	35.56±1.73
Pupa	104.62±0.39	121.58±0.99	114.24±1.04	94.46±1.15	81.26±1.64
Dewasa	225.49±0.33	224.14±0.72	215.90±1.31	190.68±0.36	180.30±0.84

L1= larva instar I; L2= larva instar II; L3= larva instar III; L3L= larva instar III lanjut

JADUAL 2. Data jam darjah terkumpul (ADH) bagi spesies *Ch. villeneuvei* pada suhu 25, 27, 30, 33 dan 37°C

Peringkat	ADH (Unit termal)				
	25°C	27°C	30°C	33°C	37°C
Telur	164.40	175.95	211.80	210.61	245.97
Instar I	291.15	292.57	261.40	311.65	414.99
Instar II	135.00	204.00	300.00	345.00	405.00
Instar III	855.00	663.00	720.00	552.00	648.00
Instar III lanjut	367.00	408.00	540.00	793.50	960.12
Pupa	1569.30	2066.86	2284.80	2172.58	2194.02
Telur-Dewasa	3382.35	3810.38	4318.00	4385.64	4868.10

L1= larva instar I; L2= larva instar II; L3= larva instar III; L3L= larva instar III lanjut

RUJUKAN

- Ahmad Firdaus Mohd Salleh, Anita Talib, Mohamed Abdullah Marwi, Noor Hayati Mohd Isa, Syamsa Rizal Abdullah, Raja Muhd Zuha & Baharudin Omar. 2009. Pengaruh suhu ke atas perkembangan larva lalat *Chrysomya megacephala* (Fabricius) dan *Chrysomya rufifacies* (Macquart) (Diptera: Calliphoridae): Aplikasi dalam sains forensik. *Jurnal Sains Kesihatan Malaysia* 7(2): 89-96.
- Ahmad, F.M.S., Mohamad, A.M., John, J., Nor Afandy, A.H., Raja, M.Z. & Baharudin, O. 2008. A review of forensic entomology cases at Ipoh Hospital and Hospital Universiti Kebangsaan Malaysia for the year 2003. *Indonesian Journal of Legal and Forensic Sciences* 1(1): 1-4.
- Ahmad, F.M.S., Mohamad, A.M., John, J., Nor Afandy, A.H., Raja, M.Z. & Baharudin, O. 2007. A review of forensic entomology cases at Kuala Lumpur Hospital and Hospital Universiti Kebangsaan Malaysia for the year 2002. *Journal of Tropical Medicine and Parasitology* 30(2): 51-54.
- Ames, C. & Turner, B. 2003. Low temperature episodes in development of blowflies: Implications for post-mortem interval estimation. *Journal of Medical and Veterinary Entomology* 17(2): 178-186.
- Amendt, J., Richards, C.S., Campobasso, C.P., Zehner, R. & Hall, J.R.M. 2011. Forensic entomology: Applications and limitations. *Forensic Science, Medicine and Pathology* 7(4): 39-392.
- Amendt, J., Campobasso, C.P., Gaudry, E., Reiter, C., Leblanc, H.N. & Hall, J.R.M. 2007. Best practice in forensic entomology-standards and guidelines. *International Journal of Legal Medicine* 121: 90-104.
- Barros-Souza, A.S., Ferreira-Keppler, R.L. & Agra, D.B. 2012. Development period of forensic importance Calliphoridae (Diptera: Brachycera) in urban area under natural condition in Manaus, Amazonas, Brazil. *EntomoBrasilis* 5(2): 99-105.
- Byrd, J.H. & Buttler, J.F. 1996. Effect of temperature on *Coahliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae) development. *Journal of Medical Entomology* 33: 901-905.
- Charabidzea, D., Bourela, B., Leblanc, H., Hedouina, V. & Gosseta, D. 2008. Effect of body length and temperature on the crawling speed of *Protophormia terraenovae* larvae (Robineau-Desvoidy) (Diptera Calliphoridae). *Journal of Insect Physiology* 54(3): 529-533.
- Davies, L. & Ratcliffe, G.G. 1994. Development rates of some pre-adult stages in blowflies with reference to low temperatures. *Medical and Veterinary Entomology* 8: 245-254.
- Day, D.M. & Wallman, J.F. 2006. Width as an alternative measurement to length for post-mortem interval estimation using *Calliphora augur* (Diptera: Calliphoridae) larvae. *Forensic Science International* 159: 158-168.
- Donovan, S.E., Hall, M.J.R., Turner, B.D. & Moncrieff, C. 2006. Larval growth rate of the blowfly, *Calliphora vicina* over a range of temperature. *Medical and Veterinary Entomology* 20: 106-114.
- Grassberger, M. & Reiter, C. 2001. Effect of temperature on *Lucillia sericata* (Diptera: Calliphoridae) development with special reference to the isomegalen and isomorphen-diagram. *Forensic Science International* 120: 32-36.
- Gill, N. 2005. Life and death in Australian 'heartland': pastoralism, ecology and rethinking the outback. *Rural Studies* 21(1): 39-53.
- Greenberg, B. 1985. Forensic Entomology: Case studies. *Bulletin of the Entomological Society of America* 31(4): 25-28.
- Hall, D.G. 1948. The blowflies of North America. *The Thomas Say Foundation, Lafayette*. p. 477.
- Ireland, S. & Turner, B. 2006. The effect of larval crowding and food type on the size and development of the blowfly, *Calliphora vomitoria*. *Forensic Science International* 159: 175-181.
- Jason, H.B. & Jerry, F.B. 1997. Effect of temperature on *Chrysomya rufifacies* (Diptera: Calliphoridae) development. *Journal of Medical Entomology* 34(3): 353-358.
- Keh, B. 1985. Scope and application of forensic entomology. *Annual Review of Entomology* 30: 137-154.
- Kurahashi, H., Benjaphong, N. & Omar, B. 1997. Blowflies (Insect: Diptera: Calliphoridae) of Malaysia and Singapore. *The Raffles Buletin of Zoology* 5: 1-88.
- Marinho, C.R., Barbosa, L.S., Azeredo, A.C., Queroz, M.M., Valgode, M.A. & Aguiar-Cocho, V.M. 2006. Diversity of Calliphoridae (Diptera) in Brazil's tingua biological reserve. *Brazilian Journal of Biology* 66(1A): 95-100.
- Miller, D.F. 1929. Determining the effects of change in temperature upon the locomotor movements of fly larvae. *Journal of Experimental Zoology* 52: 293-313.
- Niederegger, S., Pastuscheka, J. & Malla, G. 2010. Preliminary studies of the influence of fluctuating temperatures on the development of various forensically relevant flies. *Forensic Science International* 199(1-3): 72-78.
- Nor Affandy, H., Omar, B., Marwi, M.A., Firdaus, A., Halim, A., Feng, S.S. & Moktar, N. 2003. A review of forensic specimens sent to Forensic Entomology Laboratory Universiti Kebangsaan Malaysia for the Year 2001. *Tropical Biomedicine* 20(1): 27-31.

- Omar, B., Marwi, M.A., Halim, M.A., Mohd, S.R. & Oothuman, P. 1994a. Maggots of *Synthesiomya nudiseta* (Wulp) (Diptera: Muscidae) as decomposers of corpses found indoors in Malaysia. *Tropical Biomedicine* 11(2): 145-148.
- Omar, B., Mohamed, M.A., Oothuman & Othman, H.F. 1994b. Observation on the behaviour of immature and adult of some Malaysian sarcosaprophagous flies. *Tropical Biomedicine* 11(2): 149-154.
- Payne, J.A. 1965. A summer carrion study *Sus scrofa* Linnaeus. *Ecology* 46: 592-602.
- Smith, K.G.V. 1986. *A Manual of Forensic Entomology*. New York: Cornell University Press. p. 205.
- Sukontason, K., Piangjai, S., Siri wattanarungsee, S. & Sukontason, K. L. 2008. Morphology and developmental rate of blowflies *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya rufifacies* in Thailand: Application in forensic entomology. *Parasitology Research* 102: 1207-1216.
- Sukontason, K., Narongchai, P., Kanchai, C., Vichairat, K., Sribanditmongkol, P., Bhoopat, T., Kurahashi, H., Chockjamsai, M., Piangjai, S., Bunchu, N., Vongvivach, S., Samai, W., Chaiwong, T., Methanitikorn, R., Ngern-Klun, R., Sripakdee, D., Boonsriwong, W., Siri wattanarungsee, S., Srimuangwong, C., Hanterdsith, B., Chaiwan, K., Srisuwan, C., Upakut, S., Moopayak, K., Vogtsberger, R.C., Olson, J.K. & Sukontason, K.L. 2007. Forensic entomology cases in Thailand: A review of cases from 2000 to 2006. *Parasitology Research* 101: 1417-1423.
- Sukontason, K., Sukontason, K.L., Chaiwong, T., Boonchu, N., Piangjai, S. & Kurahashi, H. 2003. Hairy maggot of *Chrysomya villeneuvei* Patton (Diptera: Calliphoridae), a fly species of forensic importance. *Journal of Medical Entomology* 40: 983-984.
- Well, J.D. & Kurahashi, H. 1994. *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) development: Rate, variation and the implications for forensic entomology. *Japanese Journal of Sanitary Zoology* 45: 303-309.
- Zoe, J.O.A. & Martin, J.R.H. 2003. Method used for the killing and preservation of blowfly larvae, and their effect on postmortem larvae length. *Forensic Science International* 138: 50-61.

Ahmad Firdaus Mohd Salleh, Mohamed Abdullah Marwi, Aihah Hani Azil & Syamsa Rizal Abdullah
Jabatan Parasitologi & Ento. Perubatan
Fakulti Perubatan
Universiti Kebangsaan Malaysia
Jalan Raja Muda Abdul Aziz
50300 Kuala Lumpur
Malaysia

Baharudin Omar
Jabatan Sains Bioperubatan
Fakulti Sains Kesihatan Bersekutu
Universiti Kebangsaan Malaysia
Jalan Raja Muda Abdul Aziz
50300 Kuala Lumpur
Malaysia

*Pengarang untuk surat-menyurat; email: afirwise@yahoo.com

Diserahkan: 9 Januari 2013
Diterima: 17 Februari 2014