

PENCIRIAN MEMBRAN DAN OTOT TIMBAL BAGI SPESIES RIANG-RIANG TERPILIH DARI BUKIT FRASER, PAHANG, MALAYSIA

[CHARACTERIZATION OF TYMBAL MEMBRANE AND MUSCLE FOR SELECTED CICADA SPECIES FROM BUKIT FRASER, PAHANG, MALAYSIA]

Nurul Wahida Othman^{1,2}, Siti Rafeeah Mohamad Zainuddin³ & Azman Sulaiman^{1,2}

¹ Pusat Sistematik Serangga,
Fakulti Sains dan Teknologi,
Universiti Kebangsaan Malaysia,
43600 Bangi, Selangor, Malaysia

² Jabatan Sains Biologi dan Bioteknologi,
Fakulti Sains dan Teknologi,
Universiti Kebangsaan Malaysia,
43600 Bangi, Selangor, Malaysia

³ Wood Pecker (M) Sdn. Bhd.,
6, Jalan TS 6/2, 47510 Subang Jaya, Selangor, Malaysia
Pengarang Berutusan: wahida@ukm.edu.my

Hantar: 1 Julai 2024; Terima: 9 Ogos 2024

ABSTRAK

Kajian mengenai morfologi dan morfometrik membran dan otot timbal serta histologi otot timbal ini telah dijalankan ke atas tiga spesies riang-riang yang dipilih iaitu *Pomponia decem*, *Pomponia* sp.1 dan *Terpnosia lactea*. Sampel segar diperolehi melalui pensampelan dari Bukit Fraser, Pahang manakala sampel kering dari koleksi Pusat Sistematik Serangga (CIS), Universiti Kebangsaan Malaysia. Membran timbal dan otot timbal ini diasingkan daripada badan dan melalui proses histologi menggunakan pewarna metilena biru dan haematoxylin dan eosin. Hasil mendapati morfologi kasar membran dan otot timbal bagi spesies riang-riang yang dipilih menunjukkan perbezaan terutama pada saiznya. Analisis morfometrik ke atas ketiga-tiga spesies riang-riang ini mendapati bahawa saiz tubuh badan riang-riang mempengaruhi morfometrik membran timbal riang-riang. Spesies *P. decem* mempunyai purata panjang (80.50 ± 1.92 mm) dan lebar kepala (17.20 ± 1.28 mm) membran timbal paling besar antara dua spesies lain. Kehadiran resilin pada membran timbal didapati berbeza pada setiap spesies dengan *P. decem* paling tebal manakala *T. lactea* paling nipis. Bagi aspek histologi pula, bentuk fiber otot kesemua spesies terdiri daripada bentuk mosaik atau poligonal dengan *T. lactea* menunjukkan bentuk poligonal yang agak berbucu pada bahagian sisi fiber otot berbanding dua spesies lain. Diharapkan perbezaan yang didapati daripada kajian morfometrik dan histologi ini dapat membuktikan mengapa setiap spesies riang-riang mampu menghasilkan bunyi yang spesifik berdasarkan kepada perbezaan ciri rangka dan resilin pada membran serta otot timbal. Penambahbaikan terhadap teknik histologi dalam kajian yang akan datang adalah perlu bagi mendapatkan struktur tisu otot timbal yang lebih terperinci.

Kata kunci: otot timbal, spesies spesifik, organ bunyi, riang-riang

ABSTRACT

The study on the morphology, morphometric and histology of the tymbal membrane and tymbal muscle was carried out for three selected species of cicada namely *Pomponia decem*, *Pomponia* sp.1 and *Terpnosia lactea*. Fresh samples were sampled from Fraser Hill, Pahang while dried samples were obtained from collection of Centre for Insect Systematics, Universiti Kebangsaan Malaysia. The tymbal membranes and tymbal muscles were isolated from the body and went through histological processes and stained using methylene blue dyes and haematoxylin and eosin. The results show that the gross morphology of the tymbal membranes and muscles of the selected cicada species showed differences based on their size. *Pomponia decem* has the largest mean length (8.30 ± 0.22 mm) and width (4.48 ± 0.17 mm) of tymbal membrane among the other two species. Morphometric analysis showed that for the three species of cicadas, the size factor influenced the morphometric measurements. The presence of resilin on the tymbal membrane was found to be different in each species with *P. decem* having the thickest while *T. lactea* has the thinnest resilin. As for the histological aspect, the muscle fiber shape for all species consists of a mosaic or polygonal shape with *T. lactea* showing a polygonal shape that is somewhat pointed on the side of the muscle fiber compared to the other two species. It is hoped that the differences obtained from these morphometric and histological studies can prove why each species of cicada is able to produce specific sounds based on the differences in ribs and resilin characteristics of the membranes and tymbal muscles. Improvements to histological techniques in future studies are necessary to obtain a more detailed structure of tymbal muscle tissue.

Keywords: tymbal muscle, species specific, sound organ, cicada

PENGENALAN

Riang-riang merupakan salah satu jenis serangga daripada order Homoptera, suborder Auchenorrhyncha dan daripada superfamili Cicadoidea yang mempunyai sayap lut sinar serta mempunyai mata yang menonjol di bahagian anterior lateral fronsnya. Riang-riang terkenal kerana mampu menghasilkan bunyi yang kuat. Tiada serangga lain yang mempunyai mekanisma yang sangat maju dalam penghasilan bunyi seperti riang-riang (Moulds 2009). Serangga ini mula aktif pada waktu senja yang mana boleh dikenal pasti dengan mendengar bunyi yang nyaring dan kuat (Hou et al. 2022).

Bunyi yang dihasilkan oleh riang-riang ini berasal daripada sepasang membran timbal yang bergetar setelah digerakkan oleh otot timbal di bahagian bawah abdomennya. Menurut kajian Simmons dan Young (1978) ke atas *Cystosoma saundersii*, membran timbal meleding dan menghasilkan bunyi disebabkan oleh pembengkokan tulang rusuk secara berturutan. Otot timbal berfungsi sebagai organ yang turut membantu dalam penghasilan bunyi riang-riang. Otot timbal ini terletak pada bahagian ventral tengah berdekatan dengan garisan tengah sklerit berbentuk V berkitin (Davranoglou et al. 2020).

Kajian pada riang-riang banyak memfokuskan terhadap mekanisma penghasilan bunyi dan frekuensi bunyi organ timbal (Nahirney et al. 2006; Sueur et al. 2006; Sueur et al. 2008). Kajian terhadap morfologi otot timbal dan membran timbal riang-riang telah mula dijalankan secara terperinci kepada spesies tertentu seperti *Cystosoma saundersii* dari Australia (Simmons & Young 1978), *Tettigarcta tomentosa* dan *T. crinita*, riang-riang primitif dari Australia oleh

Pringle (1954) serta *Fidicina rana* dari Brazil (Aidley 1969). Young (1990) turut melakukan penelitian awal ke atas spesies *Cyclochila australasiae* dan *Macrotristria angularis*, yang mendapati penghasilan bunyi oleh riang-riang jantan melibatkan struktur morfologi yang berkaitan antara satu sama lain iaitu abdomen yang berongga, timpanum, operkulum, otot timbal dan membran timbal serta otot tensor. Chapman (2005) dan Stokes dan Josephson (2004) turut memperincikan sel dan tisu pada otot timbal riang-riang melalui pemerhatian menggunakan mikroskop transmisi elektron (TEM). Fahrunnida et al. (2022) pula telah mengkaji keanjalan resilin pada spesies *Dundubia ruvifena*.

Rujukan berkenaan otot dan membran timbal ini sangat sedikit dan kebanyakannya telah lama maka perlunya kajian dilakukan bagi menambah rujukan sedia ada terutama bagi spesies tempatan. Kajian ini merupakan kajian pertama yang dilakukan di Malaysia bagi spesimen riang-riang dari Bukit Fraser berkenaan otot timbal dan membran timbal daripada spesies *Pomponia decem*, *Pomponia* sp. 1 dan *Terpnosia lactea* yang merangkumi aspek morfometrik dan histologi. *Pomponia* sp. 1 merupakan spesies yang dijumpai dan diperihalkan oleh Azman dan Zaidi (2001) dari Cameron Highlands dan turut dijumpai di Bukit Fraser (Sulaiman 2023). Pemilihan ini berdasarkan spesimen yang diperolehi semasa persampelan dan sampel kering yang ada di dalam simpanan CIS. Tambahan pula, tiga spesies ini dipilih kerana sebelumnya ia berasal daripada genus yang sama iaitu *Pomponia* (Stål). Telah berlakunya perubahan genus bagi *T. lactea* yang sebelum ini dikenali sebagai *Pomponia lactea* (Lee 2012). Lee (2012) telah memperihalkan semula genus *Terpnosia* berdasarkan spesimen tip betina *Terpnosia psecas* (Distant) dan memindahkan *Pomponia lactea* (Distant) menjadi *Terpnosia lactea*. Taburan riang-riang dari spesies *T. lactea* adalah di Vietnam, Thailand, Semenanjung Malaysia, Indonesia dan India (Pham & yang 2009). Genus *Pomponia* dapat dibezakan dengan genus lain adalah dengan melihat struktur operkulum. Menurut Distant (1902), pengelasan secara tradisional bagi famili dan subfamili riang-riang adalah berdasarkan struktur penutup timbal pada individu jantan. Penutup timbal yang berkembang dengan sempurna dikelaskan bagi subfamili Cicadinae seperti genus *Pomponia*, *Platylomia* dan *Purana*.

Spesies kajian *P. decem* telah direkodkan di Borneo, Semenanjung Malaysia dan Sumatera (Lee & Sanborn 2010). Azman dan Zaidi (2001) telah mencadangkan *Pomponia* sp1 sebagai spesies baru. Dalam kajian berikutnya oleh Tahir dan Sulaiman (2015), didapati bahawa *Pomponia* sp1 telah dikenalpasti sebagai spesies baru. Kajian sebelum ini terhadap spesies ini telah dijalankan oleh Moulton (1923) dan Metcalf (1963) mengatakan bahawa spesies ini merupakan *Pomponia picta* tetapi setelah dijumpai di Malaysia, spesies ini di rekodkan sebagai *Pomponia* sp.1.

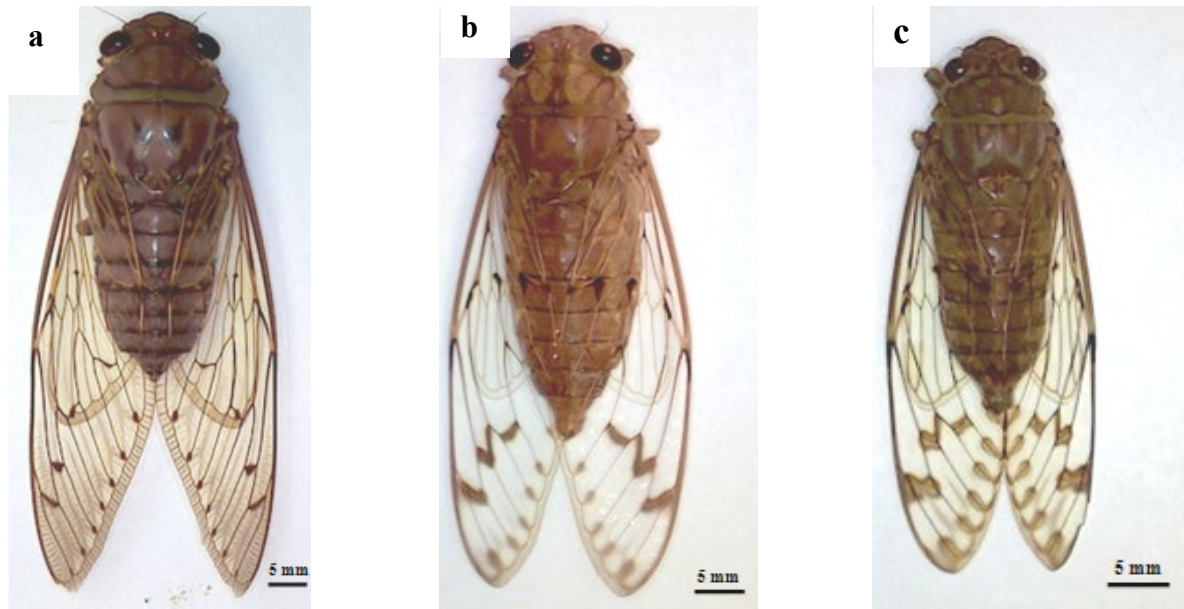
Oleh itu, kajian ini dijalankan bagi mencirikan organ timbal iaitu membran dan otot timbal bagi ketiga-tiga spesies ini bagi mengkaji perbezaan membran dan otot timbal. Kajian lanjut berkenaan otot timbal dan membran timbal kesemua spesies ini diharapkan dapat menambahkan pengetahuan tambahan ciri bagi setiap spesies dan maklumat ini boleh digunakan untuk kajian lanjut pada masa hadapan sebagai rujukan untuk membezakan spesies dengan lebih tepat lagi.

BAHAN DAN KAEDAH

Sampel Kajian

Sebanyak tiga spesies riang-riang telah dipilih sebagai bahan kajian ini iaitu *Pomponia decem* (Walker), *Pomponia* sp.1, dan *Terpnosia lactea* (Distant) yang diperolehi dari Bukit Fraser,

Pahang (Rajah 1). Sampel yang digunakan untuk kajian ini hanyalah sampel daripada individu jantan sahaja.

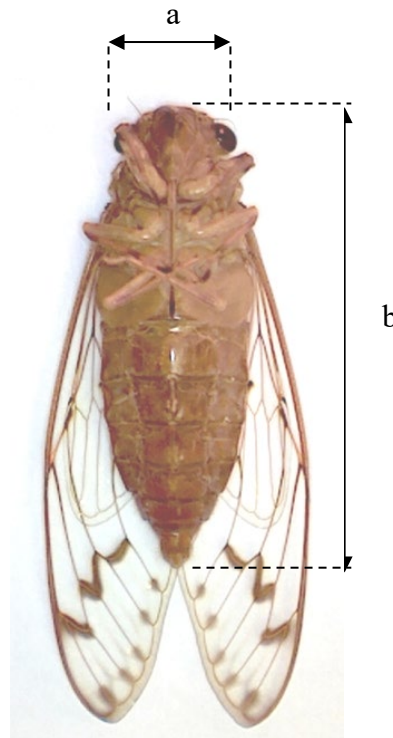


Rajah 1. Riang-riang jantan yang dikaji; a, *P. decem*; b, *Pomponia sp1*; c, *Terpnosia lacteal*

Kesemua bahan kajian diperolehi melalui tiga kali pensampelan di Bukit Fraser, Pahang pada Januari hingga Mac 2015. Pensampelan riang-riang dilakukan merujuk kepada Tahir dan Sulaiman (2015) dengan menggunakan perangkap cahaya yang telah dipasang pada waktu dari jam 1900 hingga 2400. Riang-riang yang datang ke perangkap cahaya diambil dan diletakkan di dalam bekas yang mempunyai lubang udara atau jaring untuk dibawa ke makmal.

Pengukuran Sampel Riang-riang

Sampel yang telah mati lebih awal disimpan di dalam peti sejuk (4°C) untuk mengelakkan kerosakan atau dimakan semut. Sampel yang telah mati dibawa dari Bukit Fraser ke makmal CIS di dalam bekas kedap berisi pek ais bagi mengekalkan suhu sejuk. Kemudian sampel di simpan di dalam peti sejuk CIS untuk proses seterusnya. Sampel perlu dipastikan dalam keadaan baik untuk memudahkan kerja-kerja pengukuran morfometrik dan histologi secara *in-situ* dan *ex-situ*. Sebanyak empat individu jantan telah digunakan bagi pengukuran morfometrik dan memerihalkan berkenaan dengan membran timbal dan otot timbal bagi setiap spesies. Setiap sampel riang-riang diukur menggunakan angkup vernier digital bagi panjang badan dan lebar kepala seperti yang ditunjukkan dalam Rajah 2.



Rajah 2. Pengukuran morfometrik riang-riang; a, panjang badan riang-riang; b, lebar kepala riang-riang

Pemerhatian Morfologi Membran Timbal

Setiap sampel riang-riang dibedah untuk pemerhatian *in-situ* dan *ex-situ* merujuk kepada Fonseca dan Bennet-Clark (1998) dimulai dengan pengasingan bahagian kaki dan sayap secara menggantungnya di bahagian pangkal untuk mendapatkan bahagian badan yang terdedah. Seterusnya bahagian toraks dan segmen kedua abdomen telah dipotong secara melintang untuk mengeluarkan kedua-dua belah membran timbal. Membran timbal ini telah dikeluarkan dan diasingkan daripada badan riang-riang dengan menggunakan forsep. Pemerhatian membran timbal secara *in-situ* telah dilakukan dengan menggunakan Mikroskop mudah alih *Colestron* manakala pemerhatian *ex-situ* telah diambil dengan menggunakan *Image Analyzer*.

Bagi melihat taburan resilin yang terdapat pada membran timbal riang-riang, membran timbal ketiga-tiga spesies yang digunakan direndam ke dalam campuran larutan Metilena Biru sebanyak 1 ml dan larutan Penimbal Saliniti Fosfat (PBS) sebanyak 3 ml kemudian dibiarkan semalaman pada suhu bilik. Membran timbal yang telah direndam semalam tersebut kemudian dikeringkan pada suhu bilik dalam masa 10 minit sebelum imejnya diambil dengan menggunakan *Image Analyzer*. Ilustrasi membran timbal bagi ketiga-tiga spesies juga telah dilukis dengan menggunakan pen teknikal yang bersaiz 0.1 dan 0.3 bagi melihat ketebalan resilin yang terdapat pada membran timbal.

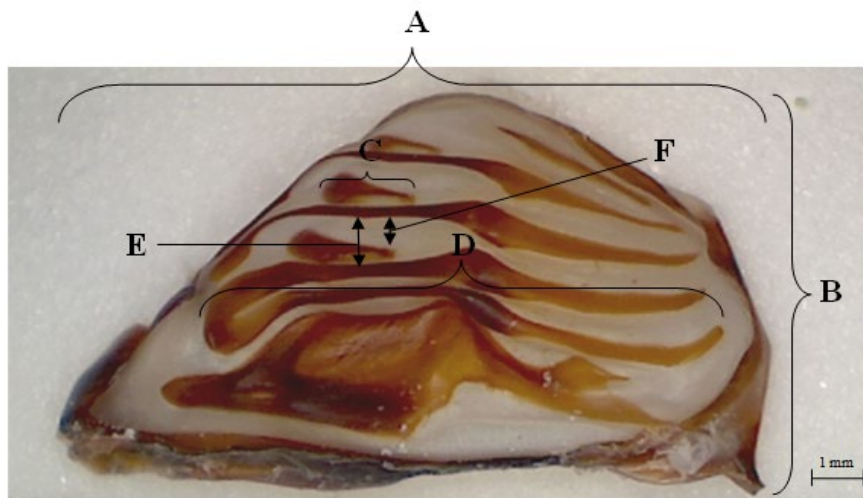
Pemerhatian Morfologi Otot Timbal

Segmen kedua abdomen telah dipotong dengan menggunakan gunting pembedahan untuk mendedahkan otot timbal dan membran timpanum. Badan serangga dipinkan untuk membuat pemerhatian secara *in-situ* dengan jelas. Bagi membuat pemerhatian secara *ex-situ* membran timpanum dengan otot timbal telah diasingkan dengan menggunakan forsep dan gunting

pembedahan. Mikrofotografi otot timbal bagi pemerhatian *in-situ* dan *ex-situ* telah diambil dengan menggunakan Mikroskop mudah alih *Colestron*.

Pengukuran Morfometrik Membran Timbal Dan Otot Timbal

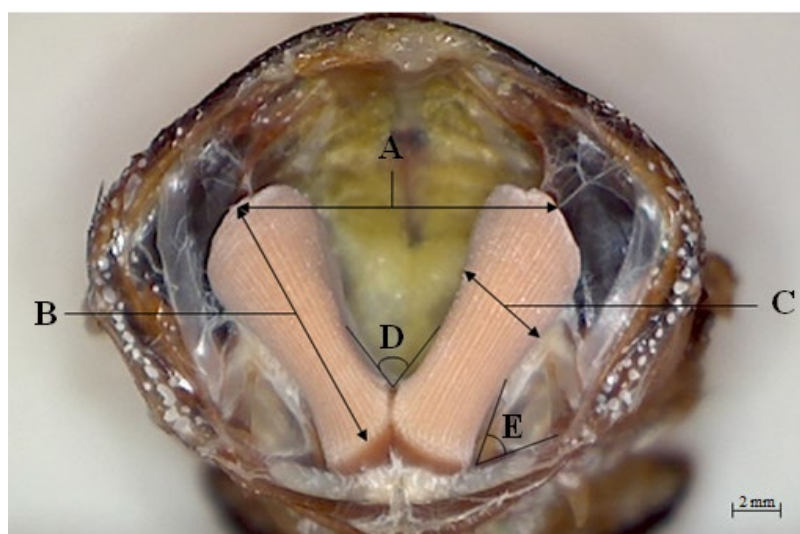
Berat setiap sampel telah diambil dengan menggunakan penimbang analitik. Empat replikasi telah digunakan bagi setiap spesies (n=4). Morfometrik membran timbal telah diukur seperti dalam Rajah 3 bagi mengenalpasti perbezaan bagi setiap spesies. Bagi otot timbal pula, kajian ke atas morfometrik riang-riang telah diperincikan seperti Rajah 4. Pengiraan analisis statistik ke atas ciri morfometrik yang dikaji menggunakan perisian *Minitab 17*.



Rajah 3. Pengukuran membran timbal

Nota:

A= Panjang membran timbal; B= Lebar membran timbal; C= Panjang rangka pendek; D= Panjang rangka panjang; E= Jarak antara rangka panjang; F= Jarak antara rangka panjang dan rangka pendek



Rajah 4. Pengukuran morfometrik otot timbal

Nota:

A= Jarak antara dua otot timbal; B= Panjang otot timbal; C= Lebar otot timbal; D= Darjah antara dua otot timbal; E= darjah antara otot timbal dengan kulit luar riang-riang

Analisis Statistik

Ujian korelasi dilakukan untuk mengkaji perkaitan antara ciri-ciri morfometrik membran timbal. Ujian ANOVA satu hala dilakukan untuk mengetahui jika terdapat perbezaan antara spesies disusuli dengan ujian *post-hoc* Tukey bagi mengetahui spesies yang menunjukkan perbezaan signifikan menggunakan perisian PAST versi 3. Ujian ini ditunjukkan melalui abjad superskrip yang berbeza pada nilai min bagi setiap spesies berdasarkan parameter morfometrik.

Histologi Otot Timbal

Penyediaan slaid histologi cara pembedaan dalam lilin parafin ini bertujuan untuk melihat perbezaan struktur mikroskopi otot timbal bagi ketiga-tiga spesies riang-riang yang dikaji. Teknik penyediaan ini melibatkan enam peringkat iaitu penetapan, penyahairan (dehidrasi), penjernihan, penyusupan, pembedaan dan penghirisan seperti protokol yang dilakukan oleh Wan et al. (2018) dengan penggunaan pewarnaan Hematoxylin dan Eosin (H&E). Selepas selesai proses pewarnaan, slaid dibiarkan kering seketika sebelum dilekapkan dengan penutup slaid menggunakan medium pelekapan *DPX* dan dibiarkan kering pada suhu bilik. Pemerhatian ke atas slaid menggunakan mikroskop cahaya *Zeiss Axio Scope* yang bersambung dengan komputer melalui perisian *iSolutionLite*.

HASIL DAN PERBINCANGAN

Morfometrik Sampel Kajian

Nilai purata ukuran morfometrik bagi panjang badan dan lebar kepala bagi ketiga-tiga spesies riang-riang yang dipilih, *Pomponia decem*, *Pomponia sp1* dan *Terpnosia lactea* dikenalpasti bagi melihat perbezaan antaranya. *Pomponia decem* merupakan riang-riang yang bersaiz besar iaitu mempunyai purata panjang badan 49.80 ± 0.10 mm dan lebar kepala 17.20 ± 1.28 mm, manakala *Pomponia sp.1* mempunyai nilai purata panjang badan dan lebar kepala masing-masing 51.63 ± 6.02 mm dan 9.50 ± 1.68 mm iaitu bersaiz sederhana manakala *T. lactea* bersaiz kecil kira-kira 45.95 ± 0.95 mm ukuran panjang badan dan lebar kepala adalah kira-kira 7.78 ± 0.56 mm. Menurut Boulard (2005), *P. decem* dikelaskan ke dalam genus *Megapomponia*, tetapi Lee dan Sanborn (2010) telah menyangkal cadangan tersebut kerana *P. decem* mempunyai saiz badan yang agak kecil (kira-kira 45 mm) berbanding genus *Megapomponia* yang berukuran badan lebih daripada 53 mm.

Morfometrik Membran Timbal

Berdasarkan pemerhatian, membran timbal bagi ke semua spesies ini terdapat pada bahagian kiri dan kanan dorso-lateral abdomen riang-riang. Membran timbal mempunyai plat timbal, resilin, liang apodema, beberapa rangka panjang yang berselang seli dengan rangka pendek. Struktur ini dikelilingi oleh rangka yang keras dan berkutikel. Membran timbal ini merupakan struktur yang rapuh. Oleh sebab itu, terdapat penutup timbal yang berfungsi untuk melindungi membran timbal ini.

Kesemua spesies riang-riang yang dipilih mempunyai empat rangka panjang yang berselang seli dengan tiga rangka pendek (Rajah 5). Rangka panjang mempunyai bentuk cembung pada bahagian hujung dorsal dan mempunyai kutikel yang agak gelap. Manakala, pada hujung bahagian ventral, rangka panjang semakin melebar dan leper serta kutikelnya sedikit gelap. Pada bahagian tengah rangka panjang berbentuk sempit dan mempunyai warna yang sangat gelap. Rangka pendek pula berbentuk seperti buah pear yang nipis tetapi mempunyai kutikel yang berwarna sangat gelap.

Setiap membran timbal mempunyai pit apodema pada bahagian bawah membran timbal yang berperanan sebagai tapak untuk pelekatan otot timbal. Apabila otot timbal mengecut dan mengendur, membran timbal turut tertarik ke dalam dan keluar dan menghasilkan bunyi “klik”. Rangka yang terdapat pada membran timbal berfungsi untuk menguatkan struktur membran timbal apabila lengkungan berlaku (Young & Bennet-Clark 1995).

Berdasarkan pengukuran yang telah dilakukan ke atas ketiga-tiga spesies riang-riang yang dipilih, terdapat perbezaan yang ketara antara setiap spesies (Jadual 1). Bagi spesies *P. decem* purata panjang membran timbal adalah 8.30 ± 0.22 mm. Purata lebar membran timbal bagi spesies ini adalah 4.48 ± 0.17 mm yang mana paling lebar antara dua spesies yang lain. Rangka panjang bagi spesies *P. decem* adalah 5.25 ± 0.17 mm secara puratanya manakala bagi panjang rangka pendek adalah 1.43 ± 0.10 mm. Purata jarak antara rangka panjang adalah 0.60 ± 0.00 mm manakala purata jarak antara rangka panjang dan pendek adalah 0.35 ± 0.10 mm.

Bagi spesies *Pomponia* sp.1, purata bagi kesemua kriteria yang dikaji adalah sederhana berbanding spesies *P. decem* dan *T. lactea*. Purata panjang membran timbal bagi spesies ini adalah 6.73 ± 0.96 mm manakala lebar membran timbal mempunyai nilai purata 4.18 ± 0.17 mm. Panjang rangka panjang dan pendek masing-masing mempunyai nilai purata 4.78 ± 0.10 mm dan 0.65 ± 0.10 mm. Ukuran jarak antara dua rangka panjang diambil bagi menentukan kedudukan rangka panjang bagi spesies ini iaitu 0.58 ± 0.05 mm. Bagi purata jarak antara rangka panjang dan pendek pula adalah 0.23 ± 0.05 mm.

Ternopsia lactea merupakan riang-riang yang bersaiz kecil dalam kajian ini. Oleh sebab itu, kriteria bagi morfometrik membran timbalnya mempunyai nilai yang rendah berbanding *P. decem* dan *Pomponia* sp.1 Purata panjang membran timbal bagi spesies ini adalah 5.95 ± 0.06 mm manakala lebar membran timbal pula adalah 3.48 ± 0.10 mm. Bagi purata panjang rangka panjang dan pendek bagi *T. lactea* adalah 4.28 ± 0.13 mm dan 0.65 ± 0.06 mm. Purata bagi jarak antara dua rangka panjang adalah 0.58 ± 0.05 mm manakala jarak antara rangka panjang dan pendek mempunyai nilai purata 0.33 ± 0.05 mm.

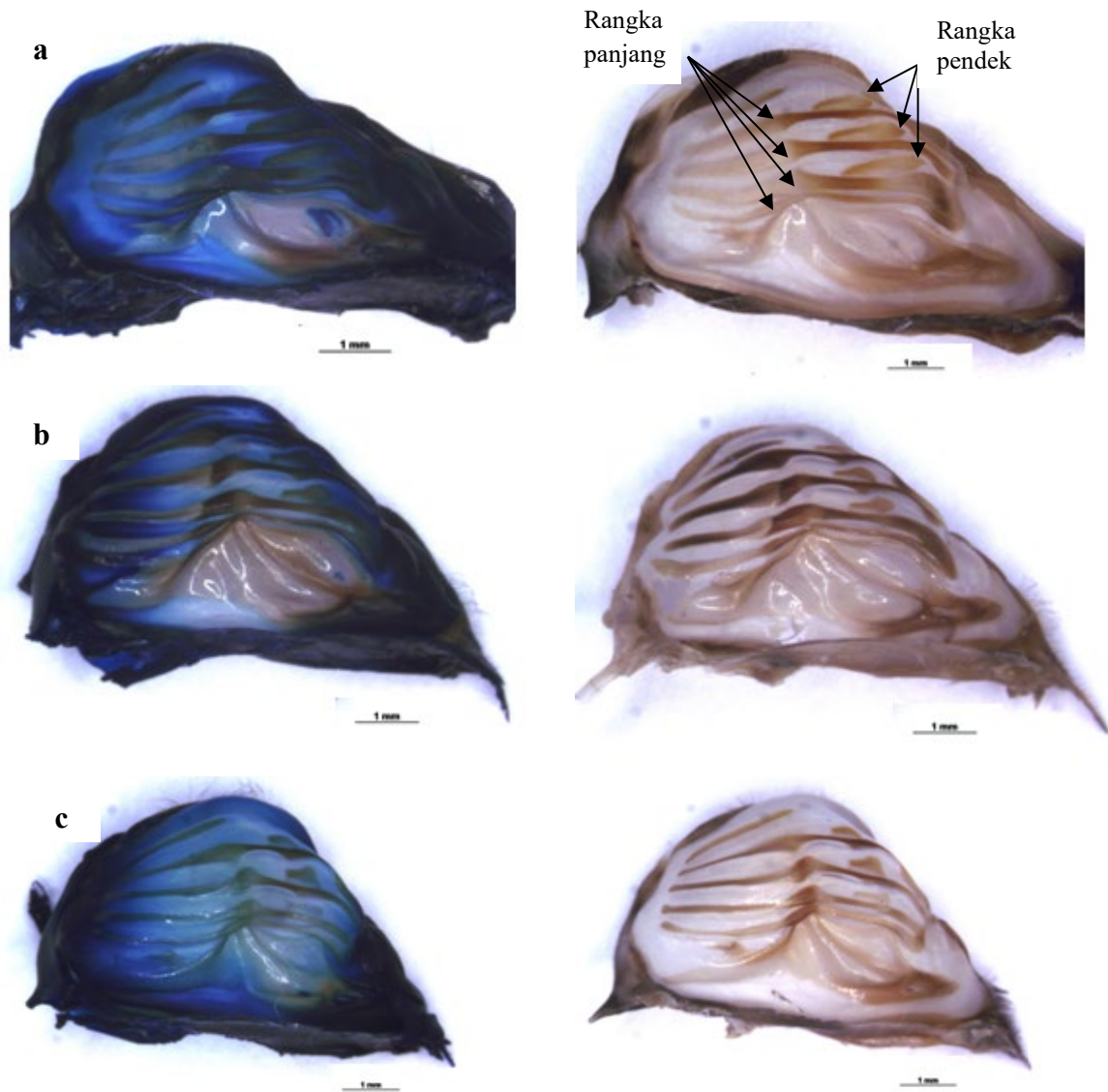
Menurut Klowden (2013) membran timbal mempunyai beberapa rangka yang berbeza kepanjangan dan apabila melengkung ke dalam akan menghasilkan bunyi “klik” yang agak kuat. Membran timbal mempunyai beberapa rangka panjang dan pendek yang berselang seli antara satu sama lain iaitu pada bahagian anterior. Bagi kajian ini, tiada perbezaan antara bilangan rangka panjang dan pendek memandangkan ia asalnya dari genus yang sama namun perbezaan hanya dari segi kepanjangan kerana saiz badan berbeza. Namun menurut kajian Simmons dan Young (1978), wujud perbezaan bilangan rangka panjang dan pendek pada *Platyleura capitata*, *Cystosoma saundersii* dan *Cyclochila australasiae*. Kajian tersebut mendapati *P. capitata* mempunyai tiga rangka panjang dan dua rangka pendek berbanding *C. saundersii* yang mempunyai tujuh rangka panjang dan tujuh rangka pendek manakala *C. australasiae* mempunyai empat rangka panjang dan empat rangka pendek. Pada bahagian tengah rangka panjang berbentuk nipis dan agak rata. Rangka pendek pula berbentuk seperti buah pir. Manakala, pada bahagian posteriornya terdapat plat timbal yang berbentuk tidak teratur. Pada bahagian yang keras ini, terdapat pad resilin yang tebal berfungsi sebagai spring untuk mengembalikan timbal ke posisi asal bagi mengekalkan tekanan pada rangka panjang.

Pewarnaan biru pekat metilena biru dan PBS telah diperhatikan pada membran timbal *P. decem*. Protein resilin bersifat asidik yang menjadi tarikan pada pewarna metilena biru (Bennet-Clark 2007). Oleh itu semakin pekat warna biru pada struktur resilin menunjukkan kehadiran komponen protein resilin yang tinggi dan resilin yang terdapat pada membran

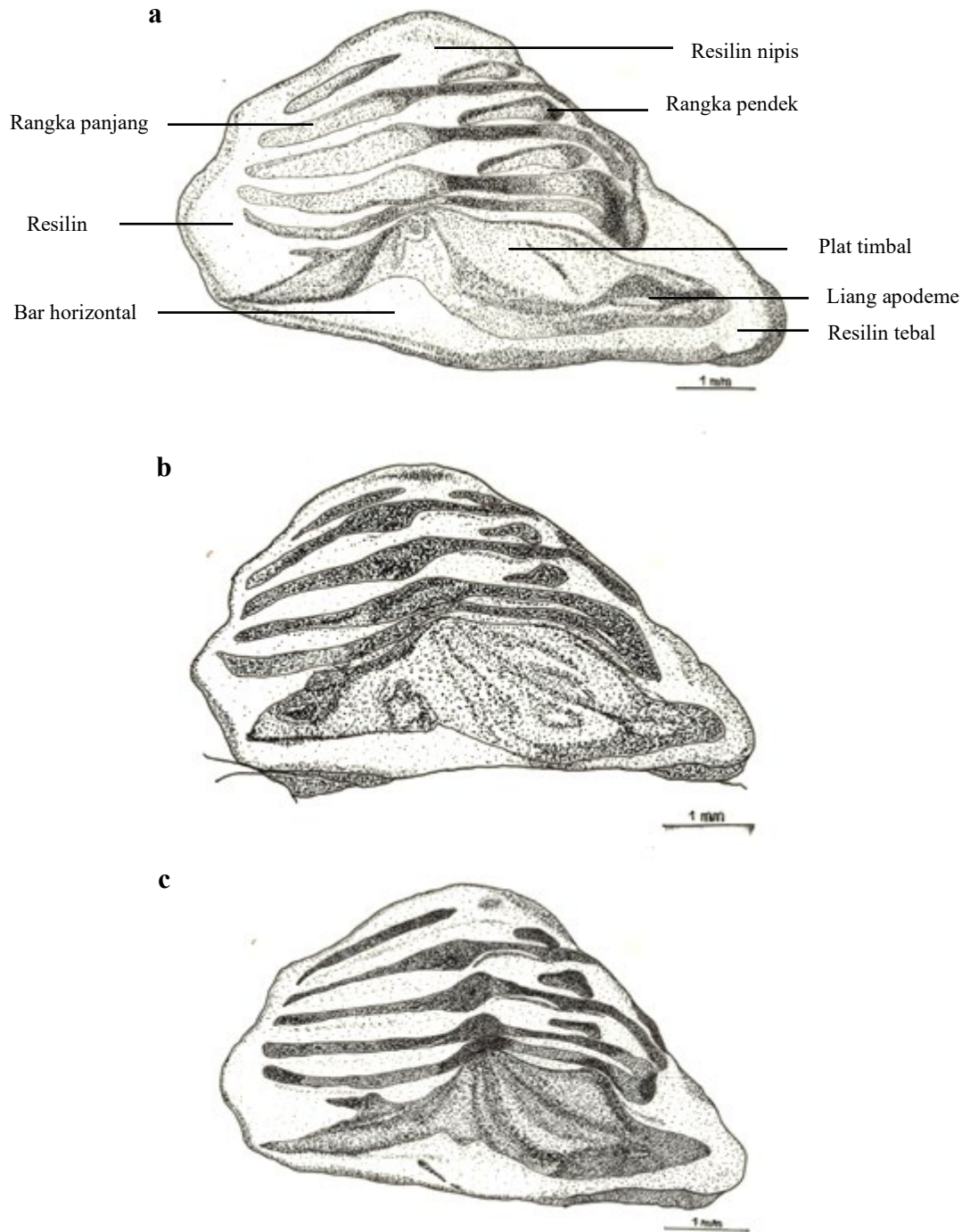
timbalnya adalah tebal. Resilin yang tebal boleh membantu untuk mengelakkan membran timbal daripada terkoyak semasa proses pelengkukkan ketika menghasilkan bunyi (Jordan et al. 2010; Young & Bennert-Clark 1995). Bagi *Pomponia* sp.1, resilin tebal terdapat pada bahagian dorsal dan ventral membran timbal, tetapi nipis di bahagian plat timbal dan antara setiap rangka panjang. Manakala, *T. lactea* pula warna biru yang terhasil adalah lebih nipis di bahagian rangka panjang dan ini menunjukkan taburan resilin pada spesies ini sedikit. Ilustrasi membran timbal telah dilukis dengan menggunakan kaedah titik (Rajah 6). Kutikel tebal telah diwakili oleh bahagian yang telah ditanda dengan titik yang tebal manakala bahagian yang cerah menunjukkan bahagian yang mempunyai resilin. Menurut Fonseca dan Bennet-Clark (1998), menyatakan membran timbal dilukis dengan menggunakan titik. Titik yang lebih banyak ditanda pada bahagian yang mempunyai kutikel yang lebih tebal manakala titik tidak ditanda pada kawasan yang mempunyai resilin, tahap ketebalan titik ditanda menunjukkan relatif ketebalan kutikel dan tahap kekerasan serta kegelapan warna pada membran timbal tersebut (Fonseca & Bennet-Clark 1998).

Jadual 1. Nilai purata morfometrik membran timbal riang-riang

(Ciri mm)	Spesies		
	<i>P. decem</i>	<i>Pomponia</i> sp.	<i>T. lactea</i>
Panjang membran timbal	8.30±0.22	6.73±0.96	5.95±0.06
Lebar membran timbal	4.48±0.17	4.18±0.17	3.48±0.10
Panjang rangka panjang	5.25±0.17	4.78±0.10	4.28±0.13
Jarak 2 rangka panjang	0.60±0.00	0.58±0.05	0.58±0.05
Panjang rangka pendek	1.43±0.10	0.65±0.10	0.65±0.06
Jarak antara rangka panjang dan pendek	0.35±0.10	0.23±0.05	0.33±0.05
Jumlah rangka panjang	4	4	4
Jumlah rangka pendek	3	3	3



Rajah 5. Fotograf membran timal tanpa pewarnaan dan dengan pewarnaan Metilena Biru; a, *P. decem*; b, *Pomponia* sp.1; c, *T. lactea*



Rajah 6. Ilustrasi membran timbal; a, *P. decem*; b, *Pomponia* sp.1; c, *T. lactea*

Jadual 2 memaparkan nilai min ke atas 11 ciri morfometrik organ timbal riang-riang setelah ujian ANOVA satu hala dilakukan menggunakan data asal dan selepas pempiawaan saiz dilakukan. Berdasarkan LAMPIRAN A, ciri morfometrik menunjukkan perbezaan bermakna iaitu nilai P kurang daripada 0.05 ($P < 0.05$) adalah bagi kesemua ciri kecuali jarak antara rangka panjang, jarak rangka panjang dan pendek, sudut otot timbal dengan kulit luar dan sudut bentuk V otot timbal. Ini bermakna ciri yang mempunyai nilai $P < 0.05$ menunjukkan perbezaan yang signifikan antara nilai min ketiga-tiga spesies riang-riang. Selepas

pempiawaian spesies dilakukan, hanya lebar otot timbal sahaja yang menunjukkan tiada perbezaan signifikan antara ketiga-tiga spesies kerana nilai P adalah 0.088 iaitu lebih daripada 0.005. Tetapi ANOVA tidak memberitahu spesies mana mempunyai nilai min yang berbeza.

Oleh itu, bagi mengetahui spesies yang menunjukkan perbezaan signifikan, ujian *post-hoc* Tukey digunakan. Berdasarkan Jadual 2 perbezaan morfometrik yang didapati antara *P. decem* dengan *Pomponia* sp.1 adalah sebanyak tiga daripada 11 ciri. Perbezaan ciri morfometrik antara *P. decem* dengan *T. lactea* adalah sebanyak tujuh daripada 11 dan membuktikan bahawa hampir 64% *P. decem* dan *T. lactea* adalah daripada genus yang berbeza. Di samping itu, perbezaan ciri morfometrik antara *P. decem* dan *T. lactea* boleh menguatkan lagi bukti tindakan Lee (2012) yang telah memindahkan *P. lactea* (Distant) menjadi *T. lactea*.

Perbezaan nilai morfometrik organ timbal bagi spesies *Pomponia* sp.1 dan *T. lactea* adalah lima daripada 11 ciri morfometrik organ timbal yang dikaji. Sebanyak 45% perbezaan antara organ timbal kedua spesies ini. Walaubagaimanapun, terdapat juga pertindihan nilai min antara beberapa ciri morfometrik organ timbal yang turut menyumbang kepada perbezaan antara spesies tersebut.

Jadual 2 Nilai min daripada ANOVA dan *post-hoc* Tukey test bagi 10 ciri organ timbal tiga spesies riang-riang yang dipilih sebelum dan selepas pempawaian saiz

Ciri	Spesies					
	<i>Pomponia decem</i>		<i>Pomponia sp1</i>		<i>Terpnosia lactea</i>	
	Sebelum	Selepas	Sebelum	Selepas	Sebelum	Selepas
PNJG MT	8.300 ^A	1.669 ^{AB}	6.725 ^B	1.578 ^B	5.950 ^C	1.814 ^A
LBR MT	4.475 ^A	0.899 ^B	4.175 ^B	0.980 ^{AB}	3.475 ^C	1.059 ^A
PNJG RPJ	5.250 ^A	1.056 ^B	4.775 ^B	1.121 ^B	4.275 ^C	1.304 ^A
JRK RPJ	0.600 ^A	0.121 ^B	0.575 ^A	0.135 ^B	0.575 ^A	0.174 ^A
PNJG RPD	1.425 ^A	0.286 ^A	0.650 ^B	0.153 ^B	0.650 ^B	0.197 ^B
JRK PJ PD	0.350 ^A	0.070 ^{AB}	0.325 ^A	0.053 ^B	0.225 ^A	0.098 ^A
PNJG OT	10.000 ^A	2.010 ^A	6.150 ^B	1.445 ^B	5.675 ^B	1.730 ^{AB}
LBR OT	4.625 ^A	0.931 ^A	2.775 ^B	0.651 ^A	1.645 ^B	0.503 ^A
JRK OT	11.980 ^A	2.406 ^A	7.125 ^B	1.671 ^B	5.875 ^B	1.792 ^B
SDT OTK	26.750 ^A	5.042 ^B	26.500 ^A	6.279 ^{AB}	25.00 ^A	8.072 ^A
SDT V	64.750 ^A	12.960 ^B	64.500 ^A	15.170 ^{AB}	57.500 ^A	17.469 ^A

Nota: PNJG MT, Panjang membran timbal; LBR MT, Lebar membran timbal; PNJG RPJ, Panjang rangka panjang; JRK RPJ, Jarak antara dua rangka panjang; PNJG RPD, Panjang rangka pendek; JRK PJ PD, Jarak antara rangka panjang dan pendek; PNJG OT, Panjang otot timbal; LBR OT, Lebar otot timbal; JRK OT, Jarak antara dua otot timbal; SDT OTK, Sudut antara otot timbal dengan kulit luar; SDT V, Sudut bentuk V otot timbal
A, B, C, D: Abjad superskrip yang berbeza pada setiap baris menunjukkan terdapat perbezaan bermakna ($P < 0.05$)

Morfometrik Otot Timbal

Berdasarkan pemerhatian *in-situ* dan *ex-situ* ke atas otot timbal spesies *P. decem*, *Pomponia* sp. dan *T. lactea* saiz otot timbal berbeza mengikut spesies. Otot timbal terdapat pada segmen pertama abdomen riang-riang. Apabila bahagian abdomen dipotong, sepasang timbal berbentuk V kelihatan. Ke semua spesies mempunyai otot timbal berbentuk V. Menurut Nahirney et al. (2006) otot timbal juga dikenali sebagai V berkitin ini mampu melakukan pengecutan yang sangat laju. Rajah 7 menunjukkan morfologi otot timbal ketiga-tiga spesies

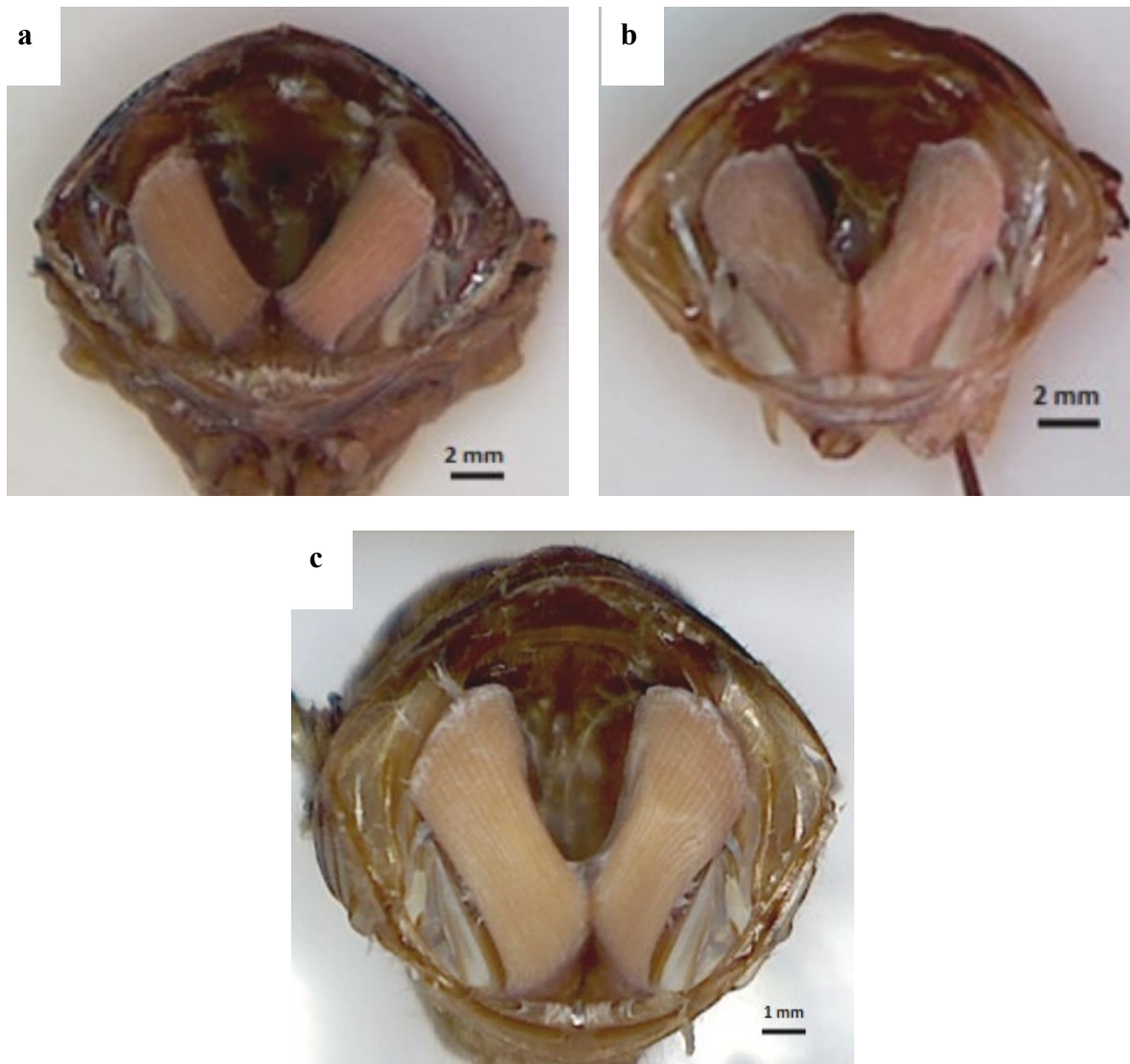
riang-riang yang dikaji. Otot timbal bagi sampel riang-riang yang masih segar berwarna kuning kemerahan manakala sampel yang telah kering berwarna coklat gelap. Menurut Pringle (1954) dalam kajiannya ke atas otot timbal riang-riang genus *Platyleura*, beliau menyatakan otot timbal yang kukuh ini sama dari segi morfologinya dengan riang-riang lain. Nyanyian riang-riang terhasil apabila berlaku pengecutan dan pengenduran organ timbal yang bersambung dengan otot timbal ini.

Jadual 3 menunjukkan morfometrik otot timbal riang-riang ketiga-tiga spesies yang dipilih. Panjang dan lebar otot timbal bagi spesies *P. decem* adalah kira-kira 9.93 ± 1.63 mm dan 4.48 ± 0.67 mm. Jarak antara dua otot timbal yang berbentuk V juga diambil dan purata bagi nilai ini adalah 11.69 ± 1.25 mm. Sudut antara otot timbal dari kulit luar riang-riang spesies ini mempunyai nilai yang paling kecil iaitu 26.25° . Sudut bentuk V otot timbal 70.75° (Rajah 6). Otot timbal spesies *Pomponia* sp. mempunyai panjang dan lebar kira-kira 6.15 ± 0.58 mm dan 2.78 ± 1.11 mm. Jarak antara dua otot timbal yang berbentuk V adalah 7.13 ± 0.56 mm. Sudut antara otot timbal dengan kulit luar bagi spesies ini adalah 26.75° manakala sudut bentuk V otot timbal adalah 64.75° . Bagi morfometrik spesies *T. lactea*, panjang dan lebar otot timbalnya adalah yang paling pendek berbanding dengan yang lain dengan nilai masing-masing 5.68 ± 0.19 mm dan 2.05 ± 0.19 mm. Jarak antara otot timbal kiri dan kanan riang-riang ini adalah 5.87 ± 0.10 mm. Sudut antara otot timbal dari kulit luar bagi spesies ini adalah 26.50° manakala sudut bentuk V otot timbal adalah 57.50° .

Menurut kajian ke atas spesies *Tamasa tristigma* oleh Young (1990), otot timbal kiri dan kanan menguncup secara berselang seli ketika menghasilkan bunyi. Beliau turut melaporkan, peratusan penguncupan otot timbal kiri dan kanan berbeza mengikut jenis bunyi yang dihasilkan. Nahirney et al. (2006) menyatakan otot timbal bagi spesies *Magicicada cassini* yang muncul secara berkala selama 17 tahun mempunyai otot timbal yang berkepanjangan lebih kurang 3.5 mm dan lebar 2 mm mampu menghasilkan bunyi sekuat 50 Hz. Kajian ini mendapat genus *Pomponia* mempunyai saiz otot yang lebih besar daripada *M. cassini*. Berkemungkinan spesies daripada genus *Pomponia* mampu menghasilkan bunyi yang berfrekuensi lebih tinggi berdasarkan otot timbalnya yang besar kerana kajian terhadap spesies *Pomponia merula* dari Borneo mendapati, spesies ini bersaiz besar dan menghasilkan bunyi yang kuat di waktu senja (Gogala & Riede 1995). Sanborn dan Phillips (1995) juga turut menyatakan bahawa saiz otot timbal yang besar pada riang-riang mampu menghasilkan bunyi yang lebih kuat seterusnya meningkatkan penyebaran bunyi dengan lebih jauh.

Jadual 3. Nilai purata morfometrik otot timbal riang-riang bagi kesemua spesies

Kriteria (mm)	Spesies		
	<i>Pomponia decem</i>	<i>Pomponia sp1</i>	<i>Terpnosia lactea</i>
Panjang otot timbal	9.93 ± 1.63	6.15 ± 0.58	5.68 ± 0.19
Lebar otot timbal	4.48 ± 0.67	2.78 ± 1.11	2.05 ± 0.19
Jarak antara dua otot timbal	11.69 ± 1.25	7.13 ± 0.56	5.87 ± 0.10
Sudut antara otot timbal dari kulit luar	26.25°	26.75°	26.50°
Sudut V otot timbal	70.75°	64.75°	57.50°



Rajah 7. Morfologi otot timbal bagi tiga spesies yang terpilih, a, *P. decem*; b, *Pomponia* sp. 1 dan c, *T. lactea*

Korelasi Organ Timbal

Pengiraan korelasi dibuat antara ciri organ timbal (membran timbal dan otot timbal) sebelum pempiawaan spesies dilakukan bagi tiga spesies riang-riang yang dipilih (LAMPIRAN B). Secara keseluruhannya, kesemua ciri menunjukkan nilai berkorelasi yang tinggi kerana nilai menghampiri +1 antara satu sama lain kecuali jarak antara rangka panjang, jarak rangka panjang dan pendek, sudut otot timbal dengan kulit luar dan sudut bentuk V. Berdasarkan Jadual 4, didapati bahawa nilai pekali korelasi menunjukkan penurunan selepas teknik pempiawaan saiz iaitu kaedah nisbah dijalankan. Ini membuktikan bahawa faktor saiz mempengaruhi pengukuran ciri. Nilai pekali korelasi yang ditunjukkan dalam Jadual 4 adalah lebih rendah berbanding sebelum pempiawaan saiz dibuat. Korelasi antara panjang membran timbal dengan ciri yang lain agak kuat kerana nilai korelasi menghampiri nilai +1, tetapi terdapat beberapa ciri yang menunjukkan tiada korelasi antara ciri tersebut iaitu panjang rangka pendek, panjang otot timbal, lebar otot timbal, jarak antara dua otot timbal dan sudut bentuk V otot timbal.

Selain itu, bagi nilai korelasi antara lebar membran timbal dengan ciri yang lain, kebanyakannya tidak menunjukkan perkaitan yang kuat antara kesemua ciri kerana hanya tiga ciri sahaja yang menunjukkan nilai menghampiri +1. Panjang rangka panjang tidak berkorelasi dengan panjang rangka pendek, panjang an lebar otot timbal serta jarak antara dua otot timbal. Jarak antara rangka panjang tidak berkorelasi dengan panjang rangka pendek, panjang otot timbal dan jarak antara dua otot timbal.

Otot timbal riang-riang juga mempunyai perkaitan dengan membran timbal riang-riang ketika menghasilkan bunyi. Oleh sebab itu terdapat nilai korelasi negatif yang kuat antara panjang otot timbal dengan jarak otot timbal, lebar otot timbal dengan jarak dua otot timbal, sudut otot timbal dari kulit dan sudut bentuk V, begitu juga jarak otot timbal dengan sudut antara otot timbal dari kulit. Young dan Bennet-Clark (1995) menyatakan saiz membran timbal yang besar mempengaruhi penghasilan sumber bunyi yang berkesan. Membran timbal haruslah mempunyai keluasan besar berbanding panjang gelombang bunyi untuk mendapatkan padanan yang baik antara sumber bunyi dan medium bendalir di dalam badan riang-riang.

Jadual 4. Nilai korelasi antara 10 ciri bagi membran timbal spesies riang-riang yang dipilih selepas pempiawaan saiz

	PNJG MT	LBR MT	PNJG RPJ	JRK RPJ	PNJG RPD	JRK PJ PD	PNJG OT	LBR OT	JRK OT	SDT OTK
LBR MT	0.687									
PNJG RPJ	0.827	0.895								
JRK RPJ	0.564	0.651	0.771							
PNJG RPD	0.180	-	-0.330	-						
JRK PJ PD	0.631	0.463	0.563	0.555	-0.160					
PNJG OT	0.420	-	-0.032	-	0.810	0.489				
LBR OT	-0.107	-	-0.408	-	0.366	-	0.479			
JRK OT	0.072	-	-0.329	-	0.767	0.236	0.893	0.515		
SDT OTK	0.619	0.662	0.775	0.775	-0.382	0.315	-	-	-	
SDT V	0.225	0.299	0.537	0.737	-0.422	0.137	-	-	-	0.467
							0.450	0.696	0.453	

Nota: PNJG MT, Panjang membran timbal; LBR MT, Lebar membran timbal; PNJG RPJ, Panjang rangka panjang; JRK RPJ, Jarak antara dua rangka panjang; PNJG RPD, Panjang rangka pendek; JRK PJ PD, Jarak antara rangka panjang dan pendek; PNJG OT, Panjang otot timbal; LBR OT, Lebar otot timbal; JRK OT, Jarak antara dua otot timbal; SDT OTK, Sudut antara otot timbal dengan kulit luar; SDT V, Sudut bentuk V otot timbal

Histologi Otot Timbal

Bagi setiap otot timbal riang-riang yang dikaji, sitoplasma otot timbal berwarna merah jambu manakala nukleus otot timbal berwarna biru pekat. Berdasarkan slaid otot timbal yang dikaji, *P. decem* mempunyai struktur fiber otot yang berbentuk poligonal atau mosaik (Rajah 8a).

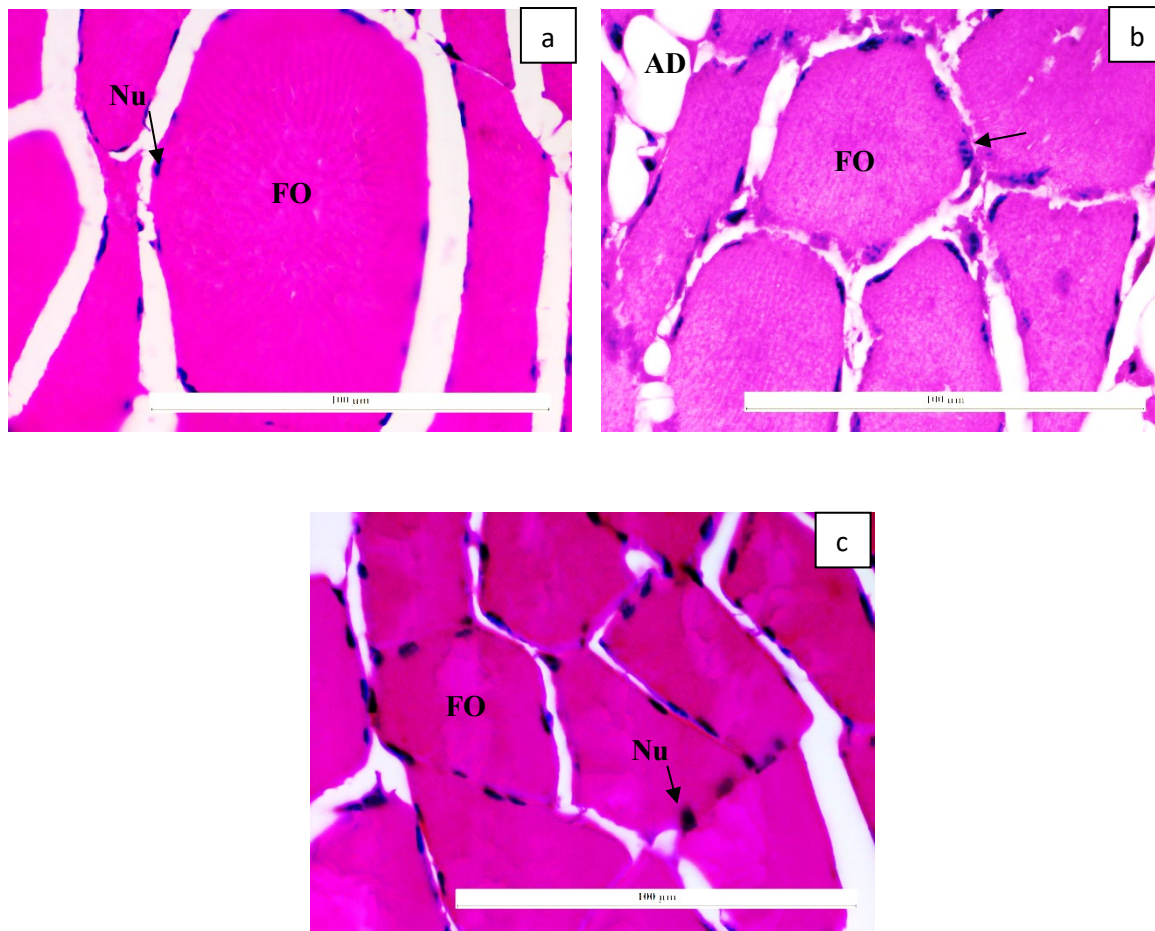
Fiber otot berwarna merah jambu dan disekitarnya terdapat banyak taburan nukleus. Kedudukan fiber ototnya agak padat dan setiap fiber otot dipisahkan oleh endomisium. Pada otot timbal riang-riang ini juga terdapat sel-sel adiposit yang berbentuk seperti bulatan-buatan kecil berwarna putih berfungsi untuk menyimpan lemak dan member simpanan tenaga serta membekalkan penebat dan perlindungan kepada otot.

Otot timbal *Pomponia* sp. juga mempunyai sitoplasma yang berwarna merah jambu dan berbentuk poligonal (Rajah 8b). Disekeliling sitoplasma ini terdapat nukleus berwarna biru pekat. Bagi otot timbal spesies ini fasikel otot dapat dilihat dengan jelas. Menurut kajian Seidman (2013) mengenai otot rangka, beliau menyatakan fiber otot disusun dalam fasikel yang berbentuk seperti mosaik dan dipisahkan melalui lapisan epimisium yang nipis. Sel-sel adiposit yang banyak dapat dilihat dengan jelas pada sekitar fasikel otot timbal spesies ini.

Pada spesies *T. lactea*, struktur fiber otot timbal juga berbentuk poligonal tetapi mempunyai segi yang agak tajam pada bahagian sisinya (Rajah 8c). Disebabkan oleh pewarnaan H&E, sitoplasma otot juga berwarna merah jambu manakala nukleus yang terdapat pada bahagian tepi sitoplasma berwarna biru pekat. Fasikel otot timbalnya tidak dapat dilihat dengan jelas dan tiada sel adiposit ditemui pada tisu otot ini. Fiber otot spesies ini dilihat mempunyai diameter yang sekata seperti kajian yang dilakukan oleh Seidman (2013).

Otot timbal mempunyai peranan penting dalam penghasilan bunyi bagi riang-riang (Nahirney et al. 2006). Menurut Edwards et al. (1958) otot timbal mempunyai persamaan dengan otot terbang asikroni berdasarkan strukturnya yang berfibril namun Pringle (1954) sebelumnya pula menyatakan, secara fisiologinya otot timbal mempunyai persamaan dengan otot terbang asinkroni dari segi frekuensi pengecutan otot. Namun begitu, kajian beliau yang lebih terperinci berkenaan dengan otot timbal dan otot terbang askinkroni telah membuktikan bahawa terdapat perbezaan yang ketara antara dua jenis otot ini dari aspek fungsi dan prosesnya.

Menurut Josephson (1985), otot timbal sinkroni mempunyai diameter miofibril yang besar, tubul-T dan retikulum sarkoplasmik yang berkembang maju berbanding otot asinkroni yang mempunyai miofibril berdiameter kecil serta tubul-T dan retikulum sarkoplasmik yang kurang maju. Spesies *M. cassini* mempunyai otot timbal sinkroni yang mampu bergetar dengan sangat laju kerana mengandungi bilangan mitokondria yang tinggi dan retikulum endoplasma yang banyak selain panjang sarkomer yang 30% kurang dari otot rangka serangga di bahagian kaki dan sayap. Akan tetapi dalam kajian terhadap otot timbal *P. decem*, *Pomponia* sp. 1 dan *T. lactea* tidak dapat dipastikan sama ada daripada jenis bersinkroni atau asinkroni. Hal ini demikian kerana, hanya struktur nukleus dan sitoplasma sahaja yang boleh dilihat dengan jelas berdasarkan pewarnaan H&E.



Rajah 8. Struktur histologi otot timbal riang-riang dengan pewarnaan H&E (100x). Fiber otot (FO); Nukleus (Nu); sel adiposit (AD), a, *P. decem*; b, *Pomponia* sp.1; c, *T. lactea*

KESIMPULAN

Berdasarkan kajian yang telah dilakukan ke atas *P. decem*, *Pomponia* sp.1 dan *T. lactea*, terdapat perbezaan saiz dan morfologi pada membran timbal dan otot timbal riang-riang. Kajian ini menunjukkan perbezaan morfometrik organ dan otot timbal turut dipengaruhi oleh saiz badan riang-riang. Taburan resilin pada setiap spesies pula menunjukkan ketebalan yang berbeza pada bahagian membran timbal. Kajian histologi menunjukkan setiap spesies riang-riang yang dipilih mempunyai persamaan umum bagi bentuk fiber otot iaitu bentuk mosaik atau poligonal. Walaupun taburan nukleus pada setiap spesies hampir sama akan tetapi *T. lactea* menunjukkan bentuk poligonal yang agak berbucu pada bahagian sisi fiber otot manakala *Pomponia* sp.1 mempunyai perbezaan fasikel otot yang jelas berbanding yang lain. Pewarnaan H & E yang digunakan dalam kajian ini hanya memfokuskan kepada taburan nukleus dan sitoplasma sahaja. Ini menghadkan pemerhatian kepada struktur organel lain yang terdapat pada otot timbal.

Secara keseluruhannya, penghasilan bunyi nyanyian berbeza bagi setiap spesies riang-riang mungkin disebabkan oleh faktor morfologi dan histologinya berdasarkan perbezaan yang ditunjukkan dalam kajian ini. Bagi *P. decem*, saiznya yang agak besar mampu menghasilkan

daya yang kuat bagi pengecutan dan pengenduran otot, di samping itu membran timbalnya mempunyai resilin tebal untuk mengelakkan membran timbal terkoyak semasa membengkok ke dalam. Bagi *Pomponia* sp.1 dan *T. lactea* yang bersaiz sederhana dan kecil, penghasilan bunyi adalah sebaliknya. Berdasarkan perbezaan ini, pencirian penghasilan bunyi akan lebih jelas mengikut spesies berdasarkan ciri yang berbeza yang mempengaruhi frekuensi bunyi yang dihasilkan. Akan tetapi, beberapa faktor lain seperti jenis otot sinkroni dan asinkroni perlu juga dikaji kerana ia mampu mempengaruhi kadar getaran bunyi yang dihasilkan. Oleh sebab itu, kajian lanjut berkenaan jenis otot timbal perlu dilakukan pada masa akan datang bagi membuktikan lagi perbezaan antara ke semua spesies ini.

PENGHARGAAN

Sekalung penghargaan diucapkan kepada Pusat Sistematik Serangga, UKM di atas pemberian sampel kering bagi penyelidikan ini selain menyediakan kemudahan ruang dan alatan makmal. Ucapan terima kasih juga diucapkan kepada Pusat Penyelidikan Bukit Fraser, UKM atas kemudahan lokasi persampelan.

PENGISYTIHARAN PENGARANG

Pernyataan Biaya Dana

Tiada

Percanggahan Kepentingan

Penulis-penulis mengisytiharkan bahawa tidak mempunyai konflik kepentingan.

Penyataan Etika

Tiada isu etika diperlukan untuk penyelidikan ini.

Pernyataan Kehadiran Data Tambahan

Tiada

Sumbangan Pengarang

Siti Rafeeah Mohamad Zainuddin (SRMZ) dan Azman Sulaiman (AS) menjalankan pensampelan dan penelitian ke atas sampel. Nurul Wahida Othman (NWO) menyusun idea penulisan, format dan menulis manuskrip. SRMZ menulis manuskrip. NWO dan AS membuat interpretasi, menilai dan membuat semakan ke atas manuskrip. Semua pengarang telah membaca dan bersetuju untuk manuskrip akhir.

RUJUKAN

- Aidley, D. 1969. Sound production in a Brazilian cicada. *Journal of Experimental Biology* 51: 325-337.
- Azman, S. & Zaidi, M.I. 2001. Cicada (Homoptera: Cicadoidea) fauna of Cameron Highlands. Dlm. Abd Rahman, A.R., Koh, H.L., Mohd Paiz, K., Muhammad, A. & Latiff, A. (pnyt.). *Hutan Pergunungan Cameron Highlands: Pengurusan Hutan, Persekitaran Fizikal & Kepekabagaian Biologi. Siri Kepekabagaian Biologi Hutan 14*, hlm. 220-226. Kuala Lumpur: Jabatan Perhutanan Semenanjung Malaysia.
- Bennet-Clark, H. 2007. The first description of resilin. *Journal of Experimental Biology* 210 (22): 3879-3881.
- Boulard, M. 2005. 25 Acoustic signals, diversity and behaviour of cicadas (Cicadidae, Hemiptera). Dlm Drosopulos, S. & Claridge, M. F. (pnyt.). *Insect Sounds and Communication: Physiology, Behaviour, Ecology and Evolution*, hlm. 331. United Kingdom: CRC Press.
- Chapman, G.B. 2005. A light and transmission electron microscope study of some cells and tissues associated with the tymbal muscle of a periodical cicada (Homoptera, Cicadidae). *Invertebrate Biology* 124(4): 321-331.
- Davranoglou, L.R., Mortimer, B., Taylor, G.K. & Malenovský, I. 2020. On the morphology and evolution of cicadomorph tymbal organs. *Arthropod Structure & Development* 55: 100918.
- Distant, W.L. 1902. Rhynchota Heteroptera-homoptera. Dlm Bingham, C.T. (pnyt.). *The Fauna of British India Including Ceylon and Burma*, hlm. 503. India: Taylor & Francis.
- Edwards, G.A., Ruska, H. & De Harven, E. 1958. Neuromuscular junctions in flight and tymbal muscles of the cicada. *Journal of Biophysics and Biochemistry Cytology* 4: 251-269.
- Fonseca, P.J. & Bennet-Clark, H.C. 1998. Asymmetry of tymbal action and structure in a cicada: a possible role in the production of complex songs. *Journal of Experimental Biology* 201(5): 717-730.
- Fahrnunnida, S.P.R., Robert, C., Retnoaji, B. & Alam, P. 2022. Morphological and viscoelastic properties of the Cicada Tymbal. *Macromology* 2(3): 315-323.
- Gogala, M. & Riede, K. 1995. Time sharing of song activity by cicadas in Temenggong Forest Reserve in Hulu Perak and in Sabah, Malaysia. *Malayan Nature Journal* 48: 297-305
- Lee, Y.J. & Sanborn, A.F. 2010. Three new species of the genus *Megapomponia* (Hemiptera: Cicadidae) from Indochina, with a key to the species of *Megapomponia*. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 13(1): 31-39.
- Lee, Y.J. 2012. Resurrection of the genus *Yezoterpnosia* Matsumura (Hemiptera: Cicadidae: Cicadini) based on a new definition of the genus *Terpnosia* Distant. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 15(2): 255-258.

- Hou, Z., Wei, S. & Wei, C. 2022. The best of both worlds: Cicada males change costly signals to achieve mates while females choose a mate based on both calling and courtship songs. *Current Zoology* 68(6): 716-725.
- Jordan, K., Calderone, D., Rubin, A. & Wickenden, A.E., 2010. A review of biological communication mechanisms applicable to small autonomous systems. *Army Research Lab Report* 5340: 1-95.
- Josephson, R.K. 1985. Mechanical power output from striated muscle during cyclic contraction. *Journal of Experimental Biology* 114(1): 493-512.
- Klowden, M.J. 2013. Sound production by vibration. Dlm. Klowden, M.J (pnyt). *Physiological System in Insects*, hlm. 610-611. New York: Academic Press.
- Metcalf, Z.P. 1963. *General catalogue of the Homoptera, fascicle VIII, Cicadoidea, Part 1. Cicadidae. Section II. Gaeninae and Cicadinae*. Raleigh: North Carolina State College.
- Moulton, J.C. 1923. Cicadas of Malaysia. *Journal of the Federated Malay States Museums* 11: 69–182.
- Moulds, M.S. 2009. Cicadas. Dlm. Resh, V.H. & Cardé, R.T. (pnyt). *Encyclopedia of Insects*. Edisi Ke-2, hlm. 163-164. New York: Academic Press.
- Nahirney, P.C., Forbes, J.G. Morris, H.D., Chock, S.C. & Wang, K. 2006. What the buzz was all about: superfast song muscles rattle the tymbals of male periodical cicadas. *The FASEB Journal* 20: 2017-2026.
- Pham, H. & Yang, J.T. 2009. A contribution to the Cicadidae fauna of Vietnam (Hemiptera: Auchenorrhyncha), with One New Species and Twenty New Records. *Zootaxa* 2249: 1-19.
- Pringle, J. 1954. A Physiological Analysis of Cicada Song. *Journal of Experimental Biology* 31(4): 525-560.
- Sanborn, A.F. & Phillips, P.K. 1995. Scaling of sound pressure level and body size in cicadas (Homoptera: Cicadidae; Tibicinidae). *Annals of the Entomological Society of America* 88(4): 479-484.
- Seidman, R.J. 2013. Skeletal muscle – structure and histology. *Medscape* 3: 18-27
- Simmons, P. & Young, D. 1978. The tymbal mechanism and song patterns of the bladder cicada, *Cystosoma saundersii*. *The Journal of Experimental Biology* 76(1): 27-45.
- Stokes, D.R. & Josephson, R.K. 2004. Power and control muscles of cicada song: Structural and contractile heterogeneity. *Journal of Comparative Physiology A*. 190: 279-290.
- Sulaiman, A. 2023. Perihal dua spesies baru daripada kumpulan spesies *Pomponia picta* dari Sundaland. *Serangga* 28(3): 250-265.

- Sueur, J., Windmill, J.F. & Robert, D. 2006. Tuning the drum: The mechanical basis for frequency discrimination in a Mediterranean cicada. *Journal of Experimental Biology* 209(20): 4115-4128.
- Sueur, J., Windmill, J.F. & Robert, D. 2008. Sexual dimorphism in auditory mechanics: Tympanal vibrations of *Cicada orni*. *Journal of Experimental Biology* 211(15): 2379-2387.
- Tahir, A.M. & Sulaiman, A. 2015. Appearance of cicada fauna (Homoptera: Cicadoidea) by altitudes in Johor National Park, Mount Ledang, Johor. *AIP Conference Proceedings* 1: 1678.
- Young, D. & Bennet-Clark, H. 1995. The role of the tymbal in cicada sound production. *The Journal of Experimental Biology* 198(4): 1001-1020.
- Young, D. 1990. Do cicadas radiate sound through their ear-drums? *Journal of Experimental Biology* 151(1): 41-56.
- Wan, N.A., Nurul, W., Yaakop, S. & Norefrina, S. 2018. Morphology and histology of reproductive organ and first screening of *Wolbachia* in the ovary of Red Palm Weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera: Dryophthoridae). *Serangga* 23(2): 183-193.

LAMPIRAN A

Analisis Varians (ANOVA)

Ciri	Nilai <i>P</i>	
	Sebelum Pempiawaan	Selepas Pempiawaan
PNJG MT	0.000	0.007
LBR MT	0.000	0.020
PNJG RPJ	0.000	0.002
JRK RPJ	0.622	0.000
PNJG RPD	0.000	0.000
JRK PJ PD	0.075	0.007
PNJG OT	0.000	0.005
LBR OT	0.004	0.088
JRK OT	0.000	0.009
SDT OTK	0.840	0.008
SDT V	0.464	0.041

Nota: PNJG MT, Panjang membran timbal; LBR MT, Lebar membran timbal; PNJG RPJ, Panjang rangka panjang; JRK RPJ, Jarak antara dua rangka panjang; PNJG RPD, Panjang rangka pendek; JRK PJ PD, Jarak antara rangka panjang dan pendek; PNJG OT, Panjang otot timbal; LBR OT, Lebar otot timbal; JRK OT, Jarak antara dua otot timbal; SDT OTK, Sudut antara otot timbal dengan kulit luar; SDT V, Sudut bentuk V otot timbal

LAMPIRAN B

Nilai korelasi antara 10 ciri bagi membran timbal spesies riang-riang yang dipilih sebelum pempiawaan saiz

	PNJG MT	LBR MT	PNJG RPJ	JRK RPJ	PNJG RPD	JRK PJ PD	PNJG OT	LBR OT	JRK OT	SDT OTK
LBR	0.874									
MT										
PNJG	0.951	0.923								
RPJ										
JRK	0.269	0.144	0.126							
RPJ										
PNJG	0.912	0.680	0.809	0.370						
RPD										
JRK	0.228	0.070	0.123	0.000	0.438					
PJ PD										
PNJG	0.926	0.772	0.866	0.202	0.929	0.559				
OT										
LBR	0.864	0.785	0.843	-0.057	0.702	0.293	0.816			
OT										
JRK	0.901	0.789	0.857	0.261	0.885	0.530	0.975	0.775		
OT										
SDT	-	-0.203	-0.130	-0.047	-	-0.540	-0.318	-0.125	-0.461	
OTK	0.111				0.169					
SDT	0.253	0.165	0.284	0.540	0.221	0.115	0.115	0.039	0.249	0.179
V										

Nota: PNJG MT, Panjang membran timbal; LBR MT, Lebar membran timbal; PNJG RPJ, Pnjang rangka panjang; JRK RPJ, Jarak antara dua rangka panjang; PNJG RPD, Panjang rangka pendek; JRK PJ PD, Jarak antara rangka panjang dan pendek; PNJG OT, Panjang otot timbal; LBR OT, Lebar otot timbal; JRK OT, Jarak antara dua otot timbal; SDT OTK, Sudut antara otot timbal dengan kulit luar; SDT V, Sudut bentuk V otot timbal