

# Keragaman Jenis Anggota Bivalvia Di Kawasan Hutan Mangrove Cengkong Kabupaten Trenggalek, Jawa Timur Berdasarkan Karakter Morfologis dan Molekular (Diversity of Bivalves in Cengkong Mangrove Trenggalek, East Java Based on Morphological and Molecular Character)

Mukhlis<sup>1</sup>, Niken Satuti Nur Handayani<sup>2</sup>, Trijoko<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Ekologi dan Sistematika Hewan, Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Mulawarman, Indonesia

<sup>2</sup>Laboratorium Genetika, Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, Indonesia

<sup>3</sup>Laboratorium Sistematika Hewan, Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, Indonesia

Corresponding authors: mukhlis@fmipa.unmul.ac.id

Submit : 18 November 2022 Revisi : 2 Januari 2023 Diterima : 10 Februari 2024

## ABSTRACT

*Bivalves in mangrove ecosystem plays an important role in the process of litter decomposition and mineralization of organic matter, especially that are herbivores and detritivore. Bivalves in one ecosystem can be known by looking the morphologic character, while the molecular character can be use to know the genetic variation of species in population. The purpose of this research was to determine species diversity of bivalve, and to understand the morphological and molecular characters of them. Phenetic Similarity analyzed using 109 morphological characters, ISSR 6 ISSR 8 primer. The results were analyzed using MVSP 3.1 (Multi-Variate Statistical Package) program to obtain a dendrogram that show similarity of bivalves. Four species of bivalves identified, consisting of Polymesoda Erosa, Meretrix meretrix, Pholas sp., and Glauconome virens. Based on morphological and molecular analysis showed two main clusters with the similarity of 54.8% for morphology and 57.6% for molecular. Based on analysis of morphological and molecular characters, it can be concluded that the diversity of the bivalves in mangrove forests Cengkong is influenced by morphological structure, meristik, morphometric shell, and the type of habitat.*

**Keywords :** Bivalvia, Mangrove, Morphology, Molecular, PCR-ISSR

## ABSTRAK

Bivalvia pada ekosistem mangrove berperan penting dalam proses dekomposisi serasah dan mineralisasi materi organik terutama yang bersifat herbivor dan detritivor. Jenis anggota bivalvia dalam suatu ekosistem dapat diketahui dengan pengamatan karakter morfologis, sedangkan karakter molekular dapat digunakan untuk mengetahui variasi genetik yang terjadi antar spesies dalam suatu populasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui karakter morfologis, keragaman genetik dan kekerabatan bivalvia di kawasan hutan mangrove Cengkong kabupaten Trenggalek. Similaritas fenetik dianalisis dengan menggunakan 109 karakter morfologis, primer ISSR 6 dan ISSR 8. Hasil dianalisis menggunakan program MVSP 3.1 (Multi Variate Paket Statistik) untuk mendapatkan dendrogram yang menunjukkan similaritas anggota bivalvia. Empat spesies anggota bivalvia diidentifikasi, yang terdiri dari *Polymesoda erosa*, *Meretrix meretrix*, *Pholas sp.*, dan *Glauconome virens*. Kedua analisis morfologi dan molekular menunjukkan dua kelompok utama dengan kemiripan 54,8% untuk morfologi dan 57,6% untuk molekular. Berdasarkan analisis karakter morfologis dan molekular, dapat disimpulkan bahwa keragaman anggota bivalvia di kawasan hutan mangrove Cengkong dipengaruhi oleh struktur morfologi, meristik, morfometri cangkang, dan tipe habitat.

**Kata kunci :** Bivalvia, Mangrove, Morfologis, Molekular, PCR-ISSR

## PENDAHULUAN

Hutan mangrove merupakan salah satu bentuk ekosistem hayati pesisir laut. Mangrove merupakan komunitas tumbuhan yang hidup di laut dangkal daerah tropis maupun sub-tropis, serta memiliki manfaat yang penting bagi kepentingan sosial ekonomi masyarakat di sekitarnya juga sebagai devisa negara. Keberadaan mangrove sepanjang pantai tidak hanya penting untuk memperluas pantai dan membentuk pulau, tetapi juga melindungi pantai dari pengikisan secara dahsyat yang ditimbulkan oleh hempasan ombak (Odum, 1993). Anggota kelas Bivalvia (Filum Mollusca) merupakan hewan yang umum dikenal masyarakat dengan sebutan kerang merupakan hewan yang banyak hidup di daerah mangrove. Spesies anggota kelompok ini meliputi kupang, kerang, remis, kijing, lokan, simping, dan tiram. Tekanan dan perubahan lingkungan dapat mempengaruhi jumlah jenis dan perbedaan struktur bivalvia (Susiana, 2011; Satino, et al., 2003).

Ekosistem wilayah perairan laut yang paling dominan di Trenggalek adalah hutan mangrove dan pantai. Hutan mangrove Trenggalek merupakan kawasan dengan topografi pesisir berupa perairan semi tertutup dengan aliran air masuk maupun keluar berada pada satu lokasi (Salahuddin & Mulyana, 2010) dengan luas  $\pm$  80 ha yang terdiri dari *Avicennia*, *Rhizophora mucronata*, *Ceriops decandra*, *Sonneratia alba*, dan *Burquiera gymnorhiza*. Penelitian ini menggunakan penanda molekular ISSR. Penanda molekular merupakan suatu teknik yang dapat digunakan untuk analisis variasi genetik antar spesies maupun intra spesies. ISSR (*Inter-simple Sequence Repeat*) merupakan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) based marker menggunakan primer mikrosatelit tunggal dalam reaksi PCR dengan target *multiple-locus* genomik. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui karakter morfologis, keragaman genetik dan kekerabatan bivalvia di kawasan hutan mangrove Cengkong kabupaten Trenggalek. Similaritas fenetik dianalisis dengan menggunakan 109 karakter morfologis, primer ISSR 6 dan ISSR 8.

## METODE

Proses pengambilan sampel dilakukan dengan metode jelajah dan *hand sorting* dengan membagi luas wilayah menjadi 3 zona sampling yaitu zona I (100-2100 m dari garis pantai), zona II (2100-4100 m dari garis pantai) dan zona III (4100-6100 m dari garis pantai). Pengamatan morfologis anggota bivalvia dilakukan di Laboratorium Sistematika Hewan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada. Cara pengamatan melalui pengamatan langsung yang meliputi morfologi, morfometri, dan meristik dengan menggunakan timbangan digital semi analitik (ACIS AD-300H), kaliper digital (Einhill), penggaris, kertas milimeter, lup dan buku panduan identifikasi *The Living Marine Resources of the Western Central Pacific Vol. 1* (Carpenter & Niem, 1998).

Amplifikasi DNA dilakukan dengan metode *Polymerase Chainreaction* (PCR). Primer yang digunakan adalah primer ISSR untuk metode PCR-ISSR. PCR dilakukan dengan 3 tahapan yaitu Denaturasi, *Annealing*, dan Elongasi. Pemilihan dua primer ISSR yaitu ISSR 6 dan ISSR 8 berdasarkan pada hasil optimasi dari 8 primer yang menunjukkan polimorfisme dan pita hasil amplifikasi yang jelas. Optimasi suhu *annealing* (penempelan primer) dilakukan untuk memperoleh suhu yang tepat dan hasil amplifikasi pita DNA yang jelas. Suhu *annealing* yang digunakan dalam optimasi berdasarkan perkiraan *melting temperature* (TM) masing-masing primer. Berdasarkan hasil optimasi yang telah dilakukan, primer ISSR 6 memiliki suhu *annealing* 48°C dan ISSR 8 memiliki suhu *annealing* 53°C.

Karakter-karakter morfologis dan pita-pita DNA hasil elektroforesis diubah menjadi matriks biner (0/1). Jika sifat karakter morfologik yang diamati ada atau dimiliki oleh suatu individu, sifat tersebut ditulis dengan angka 1. Sifat yang tidak muncul atau tidak dimiliki oleh suatu individu ditulis dengan angka 0. Karakter morfometrik yang bersifat kuantitatif diubah ke dalam bentuk kualitatif. Nilai yang berada di dalam kisaran deviasi ditulis dengan angka 1, sedangkan yang berada di luar deviasi ditulis dengan angka 0. Pita DNA yang tampak pada foto gel hasil elektroforesis diberi skor 1 sedangkan bila tidak ada diberi skor 0. Matriks data dibuat dengan program Ms. Excel 2007. Analisis *clustering* menggunakan metode UPGMA (*Unweighted Pair Group with Arithmetic Average*) dengan program MVSP 3.1 (*Multi Variate Statistical Package*).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

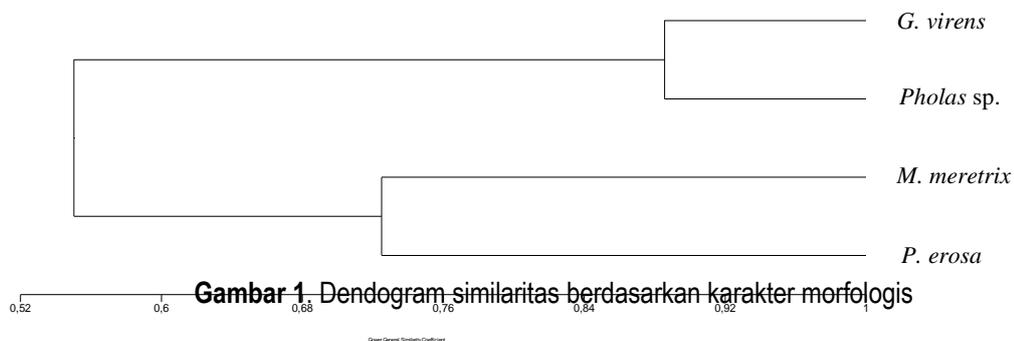
Hasil penelitian yang telah dilakukan di kawasan hutan mangrove Cengkong selama penelitian diperoleh empat jenis anggota bivalvia yaitu Famili Corbiculidae, Veneridae, Pholadidae, dan Glauconomidae. Hal ini disebabkan karena hutan mangrove cengkong yang masih tergolong baru. Empat famili anggota yang diperoleh,

masing-masing diambil 15 individu dari tiap famili untuk analisis morfologis dan empat individu untuk analisis molekuler. Sebaran jenis anggota bivalvia di tiap zona sampling dapat dilihat di Tabel 1.

**Tabel 1.** Daftar jenis anggota bivalvia yang ditemukan di area hutan mangrove Cengkong

Jenis Bivalvia	<i>P. Erosa</i>	<i>M. meretrix</i>	<i>Pholas sp</i>	<i>G. virens</i>
Titik Sampling				
Zona I (100-2100 m dari garis pantai)	40	32	38	42
Zona II (2100-4100 m dari garis pantai)	127	16	-	-
Zona III (4100-6100 m dari garis pantai)	-	-	-	-

Analisis similaritas morfologis disajikan dalam bentuk dendrogram (Gambar 1). Berdasarkan hasil pengamatan 109 karakter morfologis yang meliputi karakter morfologi, meristik, dan morfometri dari empat jenis anggota bivalvia di kawasan hutan mangrove cengkong.



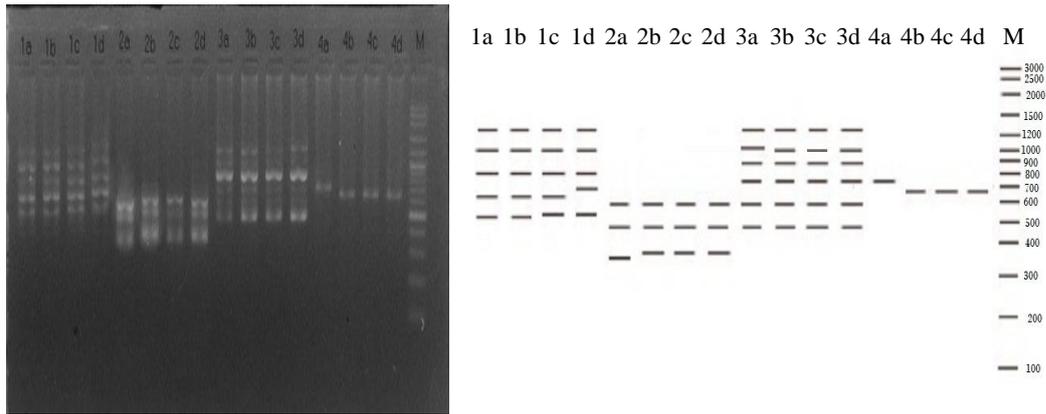
Pengamatan variasi genetik anggota bivalvia yang didapatkan dari kawasan hutan mangrove Cengkong menggunakan penanda ISSR dilakukan berdasarkan ada atau tidak pita DNA hasil amplifikasi pada gel elektroforesis. Persentase polimorfisme DNA yang dihasilkan oleh primer ISSR 6 dan primer ISSR 8 dapat dilihat pada Tabel 2 dan Tabel 3.

**Tabel 2.** Jenis dan Jumlah lokus yang dihasilkan oleh primer ISSR 6 dan ISSR 8

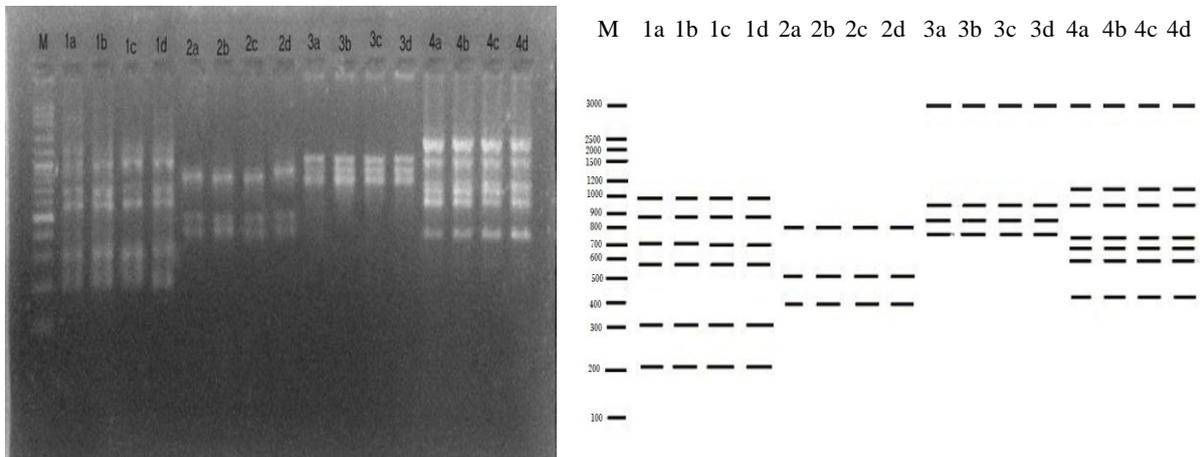
Primer	Sekuen 5'- 3'	Total Lokus	Lokus Polimorfik	Lokus Monomorfik	Persentase Polimorfik
ISSR 6	AGAGAGAGAGAGAGAGT	15	15	0	100%
ISSR 8	AGAGAGAGAGAGAGAGAC	18	18	0	100%
	Jumlah	33	33	0	
	Rata-rata	16,5	16,5	0	100%

**Tabel 3.** Jenis lokus dan presentase polimorfik pada anggota bivalvia

Jenis	Total lokus	Jumlah lokus polimorfik	Jumlah lokus monomorfik	Presentase polimorfik (%)
<i>P. erosa</i>	44	8	36	18,18
<i>M. meretrix</i>	24	4	20	16,66
<i>Pholas sp.</i>	40	4	36	10
<i>G. virens</i>	32	-	32	-

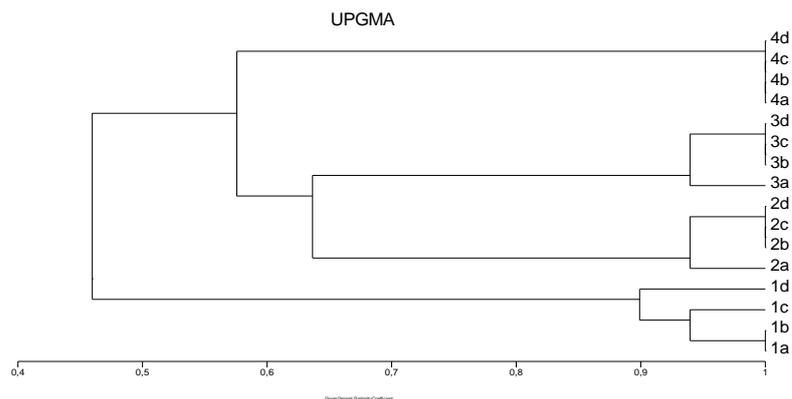


**Gambar 2.** Hasil elektroforesis sampel DNA bivalvia yang diamplifikasi dengan ISSR 6 keterangan *P. erosa* (1a, 1b, 1c, 1d) *M. meretrix* (2a, 2b, 2c, 2d) *Pholas* sp. (3a, 3b, 3c, 3d) *G. virens* (4a, 4b, 4c, 4d), Marker (M)



**Gambar 3.** Hasil elektroforesis sampel DNA bivalvia yang diamplifikasi dengan ISSR 8 keterangan: Marker (M) *P. erosa* (1a, 1b, 1c, 1d) *M. meretrix* (2a, 2b, 2c, 2d) *Pholas* sp. (3a, 3b, 3c, 3d) *G. virens* (4a, 4b, 4c, 4d).

Gambar 2 dan 3 menunjukkan hasil elektroforesis amplifikasi sampel DNA anggota bivalvia dari kawasan hutan mangrove Cengkrong, menggunakan primer ISSR 6 dan ISSR 8. Gambar 4 menunjukkan dendogram hasil analisis similaritas berdasarkan karakter molekular anggota bivalvia dari kawasan hutan mangrove Cengkrong.



**Gambar 4.** Dendrogram similaritas karakter molekular hasil amplifikasi dengan ISSR 6 dan ISSR 8. Keterangan: *P. erosa* (1a, 1b, 1c, 1d); *M. meretrix* (2a, 2b, 2c, 2d); *Pholas* sp. (3a, 3b, 3c, 3d); *G. virens* (4a, 4b, 4c, 4d)

Berdasarkan jumlah anggota bivalvia yang ditemukan di area hutan mangrove Cengkong dapat dikatakan bahwa anggota bivalvia di area tersebut didominasi oleh *P. erosa* dengan jumlah sampel yang ditemukan sebanyak 167 individu, *M. meretrix* 48 individu, *G. virens* 42 individu, dan *Pholas* sp. sebanyak 38 individu. Dominasi *P. erosa* disebabkan karena kerang jenis ini banyak dikonsumsi masyarakat sekitar sehingga mereka membudidayakan secara *insitu* di sekitar area hutan mangrove khususnya di zona II. Pada zona III tidak ditemukan anggota bivalvia karena zona ini merupakan zona pasang tertinggi yang mendapat genangan air laut dalam jumlah sedikit dan relatif singkat. Kandungan lumpur pada zona ini yang sangat sedikit bahkan cenderung masih seperti daratan sehingga tidak cocok sebagai habitat bivalvia sebagaimana dijelaskan Suwignyo (2005) dalam Sitorus (2008) bahwa bivalvia umumnya terdapat di dasar perairan yang berlumpur atau berpasir, beberapa hidup pada substrat yang lebih keras seperti lempung, kayu, atau batu.

#### **Karakter morfologis anggota bivalvia di kawasan hutan mangrove Cengkong.**

*Cluster A* yang terdiri dari *Polymesoda erosa* dan *Meretrix meretrix* dengan koefisien 0,732 (similaritas 73,2%) merupakan anggota bivalvia yang memiliki bentuk serupa yaitu melebar. Selain memiliki kemiripan dari bentuk cangkang, kedua spesies ini juga memiliki kemiripan dari bentuk kaki yang melebar, dan sifon yang tidak menjulur. Perbedaan dari kedua jenis ini yaitu pada lekuk palial, permukaan cangkang, warna cangkang, dan habitat. *P. erosa* memiliki permukaan cangkang yang kasar dengan lapisan periostrakum berwarna kehijauan, tidak memiliki lekuk palial, dan membenamkan setengah bagian tubuhnya kedalam lumpur sedangkan *M. Meretrix* memiliki permukaan cangkang yang halus, lapisan periostrakum berwarna kuning kecoklatan, memiliki lekuk palial, dan ditemukan di aliran sungai membenamkan tubuhnya di dasar. *Cluster B* terdiri dari *Pholas* sp. dan *G. virens* yang mengelompok dengan koefisien 0,881 (similaritas 88,1%). Kedua spesies ini memiliki kemiripan yaitu cangkang memanjang, juluran sifon panjang dan membuat liang pada substrat, dan lekuk palial dalam. Perbedaan kedua jenis ini yaitu warna internal cangkang. *Pholas* sp. memiliki warna internal cangkang keunguan sedangkan *G. virens* memiliki warna internal cangkang putih, bentuk cangkang *Pholas* sp. lebih pipih dibandingkan dengan *G. virens*. Selain itu warna eksternal cangkang *Pholas* sp. lebih gelap dibandingkan dengan *G. virens* yang berwarna hijau terang.

Dua *cluster* yang terbentuk dan mengelompokkan masing-masing dua jenis anggota bivalvia setiap *cluster* menunjukkan bahwa ada kemiripan antara masing- jenis berdasarkan habitat. Indeks similaritas berdasarkan dendrogram menunjukkan similaritas yang rendah yaitu hanya 54,8%. Indeks similaritas yang tinggi menunjukkan bahwa variasi morfologis antar spesies tersebut rendah, sedangkan indeks similaritas yang rendah menunjukkan bahwa variasi morfologis antar spesies tersebut tinggi. Variasi morfologis antar spesies yang tinggi memungkinkan spesies tersebut memiliki daya *survive* yang tinggi terhadap variasi perubahan lingkungan habitatnya.

#### **Karakter molekular anggota bivalvia di kawasan hutan mangrove Cengkong.**

Berdasarkan tabel 2 tersebut dapat diketahui bahwa hasil amplifikasi DNA pada anggota bivalvia di kawasan hutan mangrove Cengkong dari semua zona menggunakan primer ISSR 6 dan ISSR 8 menghasilkan 100% lokus polimorfik dari total 33 lokus yang teramplifikasi. Jumlah total pita DNA yang teramplifikasi oleh primer ISSR 6 dan primer ISSR 8 pada 16 sampel anggota bivalvia berjumlah 140 pita dengan ukuran pita bervariasi dari 220-3000 bp. Hal ini menunjukkan variasi genetik yang tinggi antar spesies anggota bivalvia di kawasan tersebut. Variasi genetik yang tinggi antar spesies menunjukkan bahwa hubungan kekerabatan relatif jauh. Hal ini dapat dilihat dari cluster yang terbentuk yang menunjukkan indeks similaritas antar spesies berada dibawah 70%.

Amplifikasi DNA dari 16 sampel anggota bivalvia menggunakan primer ISSR 6 menghasilkan 60 pita DNA pada 15 lokus dengan ukuran 354-1275 bp (Gambar 2). Semua lokus yang dihasilkan primer ini adalah lokus polimorfik dengan persentase polimorfik 100%. Hasil amplifikasi dengan primer ISSR 8 menghasilkan 80 pita DNA dengan ukuran pita 200-3000 bp pada 18 lokus (Gambar 15). Semua lokus yang terdeteksi merupakan lokus polimorfik dengan persentase 100%. Hal ini menunjukkan tingginya variasi genetik antar spesies pada individu bivalvia di kawasan hutan mangrove cengkong yang digunakan sebagai sampel berdasarkan penanda ISSR 8. Variasi jumlah pita yang dihasilkan dari kedua primer ini dipengaruhi pada proses pengenalan primer terhadap sekuens homolognya terhadap DNA *template*.

Polimorfisme pita DNA anggota bivalvia di kawasan hutan mangrove Cengkong menggunakan primer ISSR 6 dan ISSR 8 disajikan pada tabel 4. Berdasarkan hasil perhitungan diperoleh perbedaan persentase polimorfik pada masing-masing spesies. Persentase polimorfik tertinggi yaitu pada spesies *Polymesoda erosa* dengan nilai 18,18% kemudian diikuti oleh *Meretrix meretrix* dengan nilai polimorfik 16,66% dan yang terakhir *Pholas sp.* dengan nilai polimorfik 10%, sedangkan spesies *G. virens* tidak memiliki lokus polimorfik. Hal ini menunjukkan bahwa variasi genetik antar individu pada masing-masing spesies sangat rendah. Variasi genetik yang rendah disebabkan karena kawasan hutan mangrove Cengkong yang merupakan tipe semi tertutup dan masih baru.

Berdasarkan dendrogram similaritas dari karakter molekular dengan menggunakan ISSR 6 dan ISSR 8, dapat diketahui bahwa sampel yang diamati mengelompok membentuk 2 cluster besar yaitu cluster A dan cluster B dengan koefisien 0,424 (similaritas 42,4%). Nilai similaritas tersebut berdasarkan karakter molekular yang berbeda. Pola pengelompokan cluster terbentuk cenderung berdasarkan spesies masing-masing. Cluster A yang terdiri dari spesies *P. erosa* membentuk *outgroup*, sedangkan cluster B membentuk dua cluster yaitu cluster C dan cluster D dengan koefisien 0,576 (similaritas 57,6%). cluster C yang terdiri dari spesies *M. meretrix* dan *G. virens* mengelompok dengan koefisien 0,636 (similaritas 63,6%), sedangkan cluster D yang terdiri dari *Pholas sp.* dengan koefisien 1 (similaritas 100%) antar masing-masing individu. Indeks similaritas yang tinggi menunjukkan variasi karakter molekular yang rendah, sedangkan indeks similaritas yang rendah menunjukkan variasi karakter molekular yang tinggi.

Cluster A, E, dan F masing masing membentuk cluster intra spesies dengan koefisien > 0,90 (similaritas > 90%). *Clustering* intra spesies dapat terjadi karena dalam suatu spesies terjadi variasi genetik yang dapat diakibatkan oleh kombinasi gen dari induk yang diwariskan pada keturunannya sehingga individu dalam satu spesies bervariasi. Pengelompokan spesies *M. meretrix* dengan spesies *Pholas sp.* dalam satu cluster kemungkinan disebabkan karena habitat yang cukup dekat. *M. meretrix* ditemukan pada aliran air, dan *Pholas sp.* ditemukan pada tebing aliran air sehingga pada saat surut terdah kedua daerah tersebut tetap tergenang air sehingga memungkinkan terjadinya pertukaran DNA. Variasi genetik mempengaruhi kemampuan suatu organisme untuk bertahan hidup. Semakin tinggi variasi genetik suatu organisme maka semakin tinggi pula kemampuan organisme tersebut untuk beradaptasi dengan lingkungan.

Hasil perhitungan menggunakan indeks keragaman menunjukkan bahwa tingkat keragaman anggota bivalvia di kawasan hutan mangrove Cengkong tergolong sedang yaitu 1,15. Hal ini sesuai dengan Ludwig & Reynold (1988) yang mengatakan bahwa keragaman dikatakan tinggi apabila  $H' \geq 3$ , sedang apabila  $1 > H' < 3$ , dan rendah apabila  $H' < 1$ . Keragaman jenis anggota bivalvia di kawasan hutan mangrove Cengkong berada di tingkat sedang.

## KESIMPULAN

Di kawasan hutan mangrove Cengkong ditemukan empat jenis anggota kelas bivalvia, yaitu *Polymesoda erosa* (Lightfoot, 1786); *Meretrix meretrix* (Linnaeus, 1758), *Pholas sp.* (Linnaeus, 1758), dan *Glauconome virens* (Linnaeus, 1767). Empat jenis tersebut termasuk dalam Famili Corbiculidae, Veneridae, Pholadidae, dan

Glauconomidae. Berdasarkan analisis karakter morfologi, similaritas anggota bivalvia di kawasan hutan mangrove Cengkong dari yang tertinggi antara *Pholas sp.* dengan *G. virens* (88,1%), *P. erosa* dengan *M. meretrix* (73,2%), *G. virens* dengan *M. meretrix* (59,7%), *Pholas sp.* dengan *M. meretrix* (56,9%), *Pholas sp.* dengan *P. erosa* (51,7%), *G. virens* dengan *P. erosa* (51%). Berdasarkan karakter molekular, similaritas anggota bivalvia di kawasan hutan mangrove cengkong tergolong rendah dengan indeks similaritas 61,1% (<70%) sehingga dapat dikatakan bahwa keragaman karakter molekular tinggi. Keragaman individu anggota bivalvia di kawasan hutan mangrove Cengkong tergolong sedang berdasarkan hasil perhitungan indeks keragaman yaitu 1,15.

## DAFTAR PUSTAKA

- Odum, E. P. 1993. *Dasar-Dasar Ekologi*. Edisi iii. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Satino, Diana, M., Rismanto, A., & Pamuji, S. 2003. Struktur Komunitas Bivalvia di Daerah Intertidal Pantai Krakal Yogyakarta. *Yogyakarta: Research Grant*.
- Susiana. 2011. *Diversitas dan Kerapatan Mangrove, Gastropoda, dan Bivalvia di Kawasan Estuari Perancak, Bali*. Skripsi tidak diterbitkan. Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Salahuddin, M., & Mulyana, W. 2010. *Dinamika Pesisir Jawa Timur*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Geologi Kelautan.
- Suwignyo, S. 2005. *Avertebrata Air Jilid 1*. Jakarta: Penerbit Penebar Swadaya.
- Sitorus, Br. Dermawan. 2008. *Keanekaragaman Dan Distribusi Bivalvia Serta Kaitannya Dengan Faktor Fisik-Kimia Di Perairan Pantai Labu Kabupaten Serdang*. Tesis tidak diterbitkan. Sekolah Pascasarjana Universitas Sumatera Utara Medan.
- Ludwig, John A, Reynolds J. F. 1988. *Statistical Ecology: A Primer on Methods and Computing*. A Wiley-Interscience Publication