

Estimation of effects of tributyltin (TBT) bioaccumulation using the imposex character in marine gastropods (*Thais tuberosa* and *Monodonta labio*)

Pendugaan pengaruh bioakumulasi tributyltin (TBT) dengan menggunakan karakter imposeks pada gastropoda laut (*Thais tuberosa* dan *Monodonta labio*)

Sri Yuningsih Noor^{1*}, Inneke F. M. Rumengan², and Markus T. Lasut²

¹ Program Studi Ilmu Perairan, Program Pascasarjana, Universitas Sam Ratulangi. Jln. Kampus Unsrat Kleak, Manado 95115, Sulawesi Utara, Indonesia.

² Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi. Jl. Kampus Unsrat Bahu, Manado 95115, Sulawesi Utara, Indonesia.

* E-mail: yuyun.noor@gmail.com.

Abstract: The effects of tributyltin (TBT) have been estimated using imposex characters in two species of marine gastropods, *Thais tuberosa* and *Monodonta labio*, at 3 different locations along the Minahasa Peninsula, northern part of Sulawesi Island: Manado Bay Waters, Bitung Coastal Waters, and Tateli Coastal Waters as a control area. The estimation was done by comparing the percentage of female imposex (I) at different body size (small: shell length ≤ 25 mm; large: shell length >25 mm), and measuring the concentration of TBT in sediments and soft part of the gastropod samples. The highest I value was found in small sized *T. tuberosa* from Manado Bay Waters (63%) and large sized *T. tuberosa* from Bitung Coastal Waters (60%). Small and large sized *M. labio* had their highest I value, 30% and 44% respectively, in the samples from Manado Bay Water and Bitung Coastal Waters. The occurrence of imposex in both species correlated with the high concentration of TBT in sediments and soft part of the marine gastropod samples©

Keywords: tributyltin (TBT); imposex; gastropods; mollusk; Indonesia.

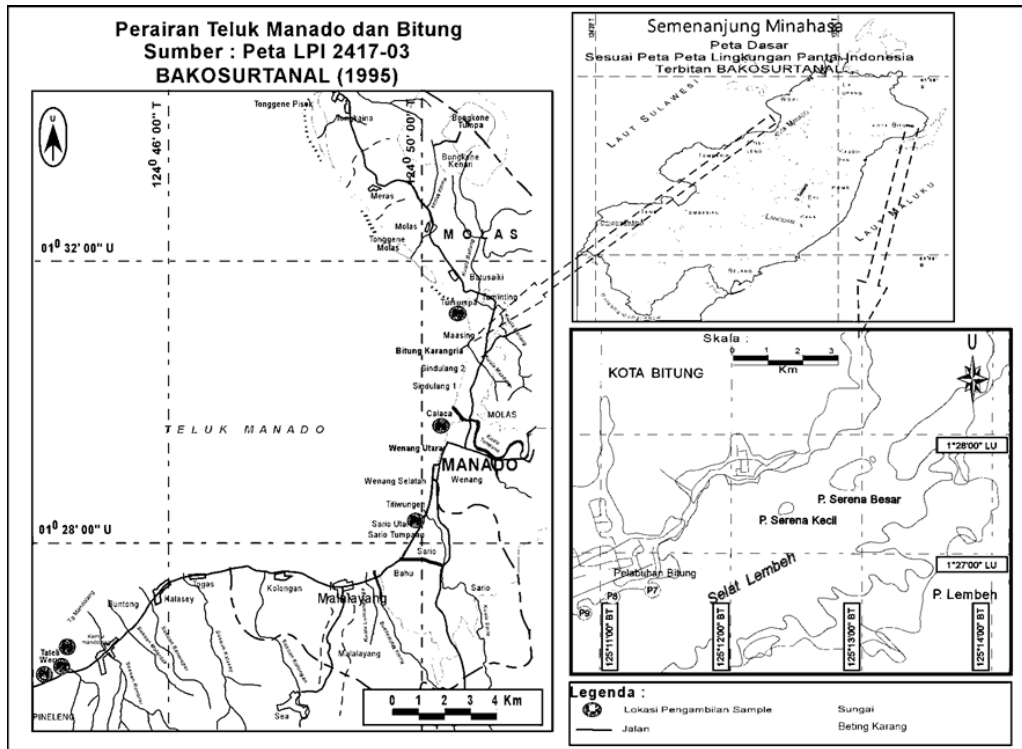
Abstrak: Kajian tentang pendugaan pengaruh bioakumulasi logam berat tributyltin (TBT) menggunakan karakter imposeks pada gastropoda laut (*Thais tuberosa* dan *Monodonta labio*) telah dilakukan. Sampel diambil dari 3 lokasi di perairan sepanjang Semenanjung Minahasa, Pulau Sulawesi bagian Utara, yaitu Perairan Teluk Manado (PTM), Perairan Bitung (PBT), dan Perairan Pantai Tateli (PPT) sebagai lokasi kontrol. Pendugaan dilakukan dengan cara membandingkan persentase individu imposeks (I) sampel ukuran kecil (K; panjang cangkang ≤ 25 mm) dan ukuran besar (B; panjang cangkang >25 mm), dan pengukuran konsentrasi TBT pada sedimen dan bagian lunak sampel gastropoda laut. Nilai I tertinggi adalah pada *T. tuberosa* ukuran K asal PTM, sebesar 63%, dan ukuran B asal PBT, sebesar 60%. Untuk *M. labio* baik ukuran K maupun B, nilai I tertinggi adalah pada sampel asal PTM dan PBT, masing-masing sebesar 30% dan 44%. Kejadian imposeks pada kedua jenis sampel ini didukung dengan konsentrasi TBT pada sedimen dan jaringan gastropoda laut yang tinggi©

Kata-kata kunci: tributyltin (TBT); imposeks; gastropoda; moluska; Indonesia.

PENDAHULUAN

Salah satu bahan pencemar yang masih menjadi perhatian dewasa ini adalah tributyltin (TBT). Tributyltin merupakan senyawa organotin yang digunakan sebagai bahan anti-fouling pada fasilitas di laut untuk mencegah penempelan biota-biota laut pada dinding kapal atau jaring keramba apung. Hal ini disebabkan karena TBT memiliki kemampuan biosida (Hirose *et al.*, 2004 dalam Panggabean *et*

al., 2009). Berbagai penelitian telah membuktikan bahwa senyawa TBT tidak hanya toksik terhadap biota penempel, tetapi juga membahayakan bagi berbagai organisme non-target lainnya. Efek bioakumulasi TBT yang paling berbahaya adalah kegagalan pada sistem reproduksi organisme di mana dapat berdampak pada penurunan populasi yang diikuti oleh kepunahan jenis dan berujung pada gangguan ekosistem secara keseluruhan.



Gambar 1. Peta Lokasi Pengambilan Sampel di Semenanjung Minahasa: 1) Perairan Teluk Manado (PTM), 2) Perairan Bitung (PBT), 3) Perairan Pantai Tateli (PPT).

Pada gastropoda, TBT telah menyebabkan kejadian imposeks yang mengakibatkan siput betina mandul, gagal bereproduksi, dan akhirnya punah (Fent, 1996). Kejadian imposeks ini telah dilaporkan di seluruh dunia; pada tahun 1990, gastropoda yang mengalami imposeks dilaporkan sebanyak 45 jenis (Ellis and Pattisina, 1990), kemudian meningkat menjadi 72 jenis pada tahun 1996 (Evans *et al.*, 1996 dalam Bech, 1998), dan meningkat lagi menjadi 120 jenis pada tahun 2008 (Castro *et al.*, 2008).

Informasi tentang bioakumulasi TBT pada jaringan gastropoda laut di perairan Semenanjung Minahasa, Pulau Sulawesi bagian Utara, khususnya Perairan Teluk Manado dan Perairan Bitung, yang dihubungkan dengan kejadian imposeks telah dikemukakan oleh Pandey dan Evans (1996), dan kejadian interseks oleh Lasut (2001); namun informasi tentang efeknya secara kuantitatif berdasarkan jenis dan ukuran belum dikaji secara saksama. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dilakukan di mana bertujuan untuk mengukur konsentrasi TBT pada sedimen dan bagian lunak gastropoda laut, menganalisis, dan membandingkan tingkat imposeks berdasarkan ukuran, jenis, dan lokasi berbeda.

MATERIAL DAN METODE

Lokasi Penelitian

Pengambilan sampel gastropoda laut dilakukan di 3 lokasi berbeda di Semenanjung Minahasa, Pulau Sulawesi bagian Utara (Gambar 1), yaitu: 1) Perairan Teluk Manado (PTM), 2) Perairan Bitung (PBT), dan 3) Perairan Pantai Teteli (PPT) sebagai lokasi Kontrol. Tiga titik pengambilan di masing-masing lokasi ditentukan berdasarkan kehadiran organisme gastropoda laut yang akan dijadikan sampel. Letak geografis titik pengambilan ditandai menggunakan perangkat Global Positioning System (GPS) (Tabel 1).

Prosedur Pengambilan Sampel

Sampel sedimen dan gastropoda laut (jenis *Thais tuberosa* dan *Monodonta labio*) diambil di titik-titik pengambilan sampel di ketiga lokasi penelitian. Sampel sedimen bagian permukaan (kedalaman, 0-5 cm) diambil di kedalaman perairan ±1m menggunakan sendok plastik. Sampel gastropoda laut diambil menggunakan tangan. Untuk pengukuran konsentrasi TBT, 3 sampel sedimen dikomposit menjadi 1 sampel untuk mewakili masing-masing lokasi; demikian pula halnya untuk sampel gastropoda laut. Kedua sampel

Tabel 1. Posisi Geografis Lokasi Pengambilan Sampel

Lokasi	Titik Sampling	Letak Geografis
Perairan Teluk Manado (PTM)	1	01° 29' 47,9" LU 124° 50' 30,9" BT
	2	01° 28' 04,6" LU 124° 49' 47,8" BT
	3	01° 31' 20,8" LU 124° 50' 30,3" BT
Perairan Bitung (PBT)	1	01° 26' 17,90" LU 125° 11' 44,26" BT
	2	01° 26' 20,43" LU 125° 11' 19,86" BT
	3	01° 26' 22,52" LU 125° 10' 47,36" BT
Perairan Pantai Teteli (PPT)	1	01° 25' 48,6" LU 124° 43' 45,3" BT
	2	01° 25' 35,7" LU 124° 43' 33,9" BT
	3	01° 25' 49,6" LU 124° 43' 42,5" BT

di tempatkan di dalam wadah plastik dan dikemas dalam wadah tertutup terbuat dari *styroform* bersama dengan *coolant gel* untuk pengangkutan ke laboratorium.

Untuk pengujian karakter imposeks, sampel gastropoda laut (25 individu untuk masing-masing jenis) dikumpulkan dari masing-masing titik pengambilan dan dimasukkan ke dalam ember yang telah berisi air laut untuk memungkinkan sampel tetap dalam keadaan hidup ketika dibawa ke laboratorium.

Pengukuran Konsentrasi TBT

Pengukuran konsentrasi TBT pada sampel sedimen dan gastropoda laut dilakukan di Laboratorium Toksikologi Lingkungan, Kobe College, Jepang, menggunakan perangkat *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) dengan panduan Harino (2011). Prosedur pengukuran secara singkat adalah sebagai berikut: sampel sedimen dan bagian lunak gastropoda laut disiapkan dengan cara menambahkan *surrogate standart* dan dihomogenasi dengan 1 N HCL-metanol/etil asetat (1:1); kemudian disentrifus dan ditambahkan dengan natrium klorida (NaCl). Tahap selanjutnya, sampel diekstraksi menggunakan etil asetat/heksana (3:2) dan diderivatisasi dengan natrium tetraetil borat. Larutan 1N KOH/etanol ditambahkan pada sampel yang telah diderivatisasi; kemudian diaduk menggunakan *shaker* selama 1 jam pada temperatur ruang untuk menguraikan lemak.

Hasilnya kemudian diekstraksi menggunakan heksana sampai mendapatkan konsentrat 2 ml. Untuk membersihkan konsentrat sebelum proses pengukuran, digunakan *Florizil column chromatography*.

Pengujian Karakter Imposeks

Pengujian karakter imposeks pada kedua jenis sampel gastropoda laut *T. tuberosa* dan *M. labio* dilakukan di Laboratorium Toksikologi dan Farmasitika Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi, menurut Panduan Bech *et al.* (2001) dan Fernandez *et al.* (2002). Sampel gastropoda laut dipisahkan menurut ukuran, yaitu berukuran kecil (K): panjang cangkang ≤ 25 mm, dan besar (B): panjang cangkang > 25 mm. Pengukuran panjang cangkang dan *aperture* sampel dilakukan menggunakan kaliper (tingkat ketelitian 0,05 mm). Sebelum pengamatan, sampel dibius dengan cara direndam ke dalam larutan (campur antara air laut dan larutan $MgCl_2$ 7% dengan perbandingan 1:1) selama ± 15 menit. Pengamatan dilakukan untuk memeriksa organ reproduksi jantan (penis) pada setiap individu, setelah cangkang dipecahkan. Karakter imposeks terjadi manakala individu betina menampakkan organ penis yang non-fungsional (Smith, 1971; Anonimus, 2000). Pengamatan dilakukan di bawah lampu dan lup. Panjang penis diukur menggunakan kaliper digital (tingkat ketelitian 0,01 mm).

Analisis Data

Perhitungan tingkat karakter imposeks dilakukan menggunakan persentase individu betina yang mengalami imposeks (I) menurut panduan Anonimus (2000). Perbandingan nilai I berdasarkan ukuran, jenis, dan lokasi berbeda, diuji menggunakan Analisis Sidik Ragam-Satu Arah (Fowler *et al.*, 1998).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Konsentrasi TBT pada Sedimen dan Jaringan Gastropoda Laut

Konsentrasi TBT pada sampel sedimen di PTM dan PBT terukur masing-masing sebesar 6,50 ng/g dan 3,96 ng/g. Pada sampel gastropoda laut, pada kedua lokasi tersebut di atas, masing-masing sebesar 7,83 $\mu g/l$ dan 7,64 $\mu g/l$, sedangkan di PPT (Kontrol) sebesar 7,61 $\mu g/l$. Nampak, konsentrasi TBT di PTM lebih tinggi dibandingkan dengan di PBT dan PPT (Kontrol).

Pencemaran TBT selalu terjadi di daerah pantai, khususnya di daerah pelabuhan atau tempat penambatan kapal dan jalur lalu lintas kapal (Wagiman, 2004). Konsentrasi TBT pada sampel sedimen di PTM dan PBT berada pada tingkatan yang sama dengan yang terukur di Perairan Teluk Banten, sebesar 12 ng/g (Rajak, 2004), tetapi relatif lebih rendah dari beberapa pelabuhan besar di Jakarta, Surabaya dan Medan, berkisar 2,3-190 ng/g (Sudaryanto *et al.*, 2002), dan di Perairan Teluk Jakarta, sebesar 26-649 ng/g (Edward dan Ahmad, 2006). Sedangkan konsentrasi pada sampel gastropoda laut relatif berada pada tingkatan yang sama dengan yang terukur pada jaringan kerang *Perna viridis* berkisar 2,2 – 37 µg/l di beberapa pelabuhan besar tersebut di atas (Sudaryanto *et al.*, 2002).

Tingkat Imposeks Gastropoda

Berdasarkan ukuran, rerata nilai I sampel *T. tuberosa* ukuran K asal PTM adalah sebesar 54% dengan nilai tertinggi sebesar 63%, sedangkan ukuran B sebesar 53%. Rerata nilai I *T. tuberosa* ukuran K asal PBT sebesar 45%, sedangkan ukuran B sebesar 52% dengan nilai tertinggi sebesar 60%. Rerata nilai I *M. labio* ukuran K asal PTM sebesar 24%, sedangkan ukuran B sebesar 36%. Rerata nilai I *M. labio* ukuran K asal PBT sebesar 26% dengan nilai tertinggi sebesar 30%, sedangkan ukuran B sebesar 40% dengan nilai tertinggi sebesar 44%. Nilai I terendah *T. tuberosa* dan *M. labio* ukuran K dan B ditemukan pada sampel dari PPT (Kontrol). Nampak, sampel *T. tuberosa* asal PTM ukuran K lebih sensitif terhadap senyawa TBT jika dibandingkan dengan ukuran B. Hal sebaliknya terjadi pada sampel jenis yang sama asal PBT dan jenis *M. labio* asal PTM dan PTB; tetapi hal tersebut tidak signifikan secara statistika ($p>0.05$).

Berdasarkan jenis, nilai I_T sampel jenis *T. tuberosa* berkisar 45%-59%; sedangkan jenis *M. labio* berkisar 28%-36%. Hal ini menunjukkan bahwa gastropoda laut jenis *T. tuberosa* lebih sensitif terhadap pencemaran senyawa TBT jika dibandingkan dengan *M. labio*; tetapi hal ini tidak signifikan secara statistika ($p>0.05$) Dengan demikian, gastropoda laut jenis *T. tuberosa* dapat dijadikan sebagai indikator pencemaran senyawa TBT.

Berdasarkan lokasi, rerata nilai I_R sampel jenis *T. tuberosa* asal PTM sebesar 53%, PBT sebesar 52%, dan PPT (Kontrol) sebesar 0%. Nilai I_R sampel jenis *M. labio* asal PTM sebesar 32%, PBT sebesar 30%, dan PPT (Kontrol) sebesar 0%. Nilai I_R PTM dan PBT lebih besar jika

dibandingkan dengan PPT (Kontrol), tetapi tidak signifikan secara statistika ($p>0.05$).

Clark (1989) dalam Edward dan Ahmad (2006) melaporkan bahwa TBT dengan konsentrasi 1,0 µg/l sangat beracun dan menyebabkan kematian bagi berbagai organisme planktonik, termasuk larva moluska yang 10-100 kali lebih sensitif dari pada moluska dewasa. Jenis *T. luteostoma* asal Ambon telah mengalami imposeks sebesar 30-100% (Ellis dan Pattisina, 1990). Pandey dan Evans (1996) melaporkan bahwa Nilai I gastropoda jenis *Morula granulata* dewasa asal Pelabuhan Manado adalah sebesar 85% dan jenis *Thais* spp. dewasa asal Pelabuhan Bitung adalah sebesar 75%.

Tributyltin yang terakumulasi pada jaringan saraf gastropoda akan mengganggu metabolisme kerja hormon. Dalam hal ini berhubungan dengan adanya perubahan pada metabolisme hormon steroid apabila gastropoda tersebut telah tercemar oleh senyawa TBT. Pengukuran kadar hormon steroid pada gastropoda laut yang menunjukkan imposeks yang telah tercemar TBT memiliki kadar testosteron yang tinggi jika dibanding dengan gastropoda betina yang tidak menunjukkan imposeks (Prouse dan Ellis, 1997; Gooding, *et al.*, 2003). Hal ini disebabkan oleh terjadinya proses konversi hormon androgen ke estrogen. Keadaan ini menyebabkan terjadinya ketidakseimbangan hormon seks yang merangsang terjadinya imposeks pada siput betina (Morcillo dan Porte, 1998 dalam Wagiman, 2004). Gooding *et al.* (2003) menyatakan, semakin tinggi konsentrasi TBT maka semakin tinggi pula kadar testosteron pada mud snail *Ilyanassa obsoleta*, hal ini menyebabkan semakin besar pula persentase imposeks.

Tingginya tingkat imposeks pada gastropoda laut yang ditemukan dalam penelitian ini, baik jenis *T. tuberosa* maupun *M. labio* yang berasal dari PTM dan PBT, dapat menjelaskan tentang tingginya aktifitas perkapalan di daerah pelabuhan jika dibandingkan dengan daerah perairan pantai PPT (Kontrol). Hal ini mengindikasikan telah terjadinya akumulasi senyawa TBT pada lingkungan perairan di lokasi penelitian. Menurut Yusuf *et al.* (2011), semua individu *T. tuberosa* betina di sepanjang Pantai Barat Semenanjung Malaysia (di daerah pelabuhan dan daerah jauh dari pelabuhan) telah menunjukkan gejala imposeks sebesar 100%.

Fenomena imposeks akibat TBT umumnya terjadi pada daerah perairan di mana laju kegiatan transportasi laut maupun industri yang tinggi, seperti di pelabuhan dan dok kapal (Castro *et al.*, 2007), sedangkan pada daerah pantai yang dilindungi dengan tingkat arus transportasi yang

rendah memiliki frekuensi imposeks yang rendah (Kirli, 2005 dalam Islami, 2011).

KESIMPULAN

1. Konsentrasi TBT pada sedimen di PTM adalah sebesar 6,50 ng/g dan PBT sebesar 3,96 ng/g; pada jaringan gastropoda laut (jenis *T. tuberosa* dan *M. labio*) asal PTM sebesar 7,83 µg/l, PBT sebesar 7,64 µg/l, dan PPT (Kontrol) sebesar 7,61 µg/l.
2. Berdasarkan ukuran, sampel gastropoda laut ukuran K lebih sensitif terhadap senyawa TBT jika dibandingkan dengan ukuran B; berdasarkan jenis, sampel jenis *T. tuberosa* memberikan respon yang lebih besar terhadap senyawa TBT jika dibandingkan dengan jenis *M. labio*; berdasarkan lokasi, sampel gastropoda laut asal PTM dan PBT memiliki tingkat imposeks lebih tinggi dibanding sampel asal PPT (Kontrol).

Ucapan terima kasih: tulisan ini adalah bagian dari Tesis Program Magister Sains dari Penulis Pertama. Berkat bantuan Program BPPS, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan, Penulis Pertama dapat menyelesaikan studi di Program Pascasarjana, Universitas Sam Ratulangi (UNSRAT). Terimakasih disampaikan kepada Dr. Harino dari Laboratorium Toksikologi Lingkungan, Kobe College, Jepang, melalui Riny Modaso, S.Kel., telah membantu dalam pengukuran konsentrasi TBT; kepada Kepala Laboratorium Toksikologi dan Farmasitika Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, UNSRAT, dalam menyediakan fasilitas penelitian.

REFERENSI

- ANONIMOUS (2000) *Whelk : Reproduction and development imposex*. Available from: <http://www.asnailsodyssey.com/LEARNABOUT/WHELK/whelImpo.php> [Accessed 20/11/-2011].
- BECH, M. (1998) Imposex and population characteristics of *Thais distinguenda* as an indicator of organotin contamination along the south east coast of Phuket Island, Thailand. *Phuket Marine Biological center Special Publication*, 18(1), pp. 129-138.
- BECH, M., STRAND, J. and JACOBSEN, J.A. (2001) Development of imposex and accumulation of butyltin in the tropical muricid *Thais distinguenda* transplanted to a TBT-contaminated site. *Environmental Pollution*, 119, pp. 253-260.
- CASTRO, I.B., LIMA, A.F.A., BRAGA, A.R.C. and BARREIRA, C.A. (2007) Imposex in Two Muricid Species (Mollusca; Gastropoda) from the Northeastern Brazilian Coast. *Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology*, 2(1), pp. 81-91.
- CASTRO, I.B., MEIRELLES, C.A.O., MATTHEWS-CASCON, H., ROCHABARREIRA, C.D.A., PENCHASZADEH, P. and BIGATTI, G. (2008) Imposex in endemic volutid from northeast Brazil (Mollusca; Gastropoda). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 51 (5), pp. 1065-1069.
- EDWARD and AHMAD, F. (2006) *Pemantauan kadar polutan tributyltin (TBT) dalam air laut dan sedimen di perairan Teluk Jakarta*. Jakarta. Balai Dinamika Laut P2O-LIPI.
- ELLIS, D.V. and PATTISINA, A. (1990) Widespread neogastropod imposex: a biological indicator of global TBT contamination? *Marine Pollution Bulletin*, 21 (5), pp. 248-253.
- FENT, K. (1996) Ecotoxicology of organotin compounds. *Critical Review of Toxicology*, 26, pp. 1-117.
- FOWLER, J., COHEN, L. and JARVIS, V. (1998) *Practical Statistics for Field Biology*. 2nd ed. New York: John Wiley and Sons.
- FERNANDEZ, M.A., LIMAVENDER, A.M., CASTRO, I.B., ALMEIDA, A.C.M. and WAGENER, A.D.L.R. (2002) Occurrence of imposex In *Thais haemastoma*: possible evidence of environmental contamination derived from organotin compounds in Rio De Janeiro and Fortaleza, Brazil. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 18(2), pp.463-476.
- GODING, M.P., WILSON, V.S., FOLMAR, L.C., MARCOVICH, D.T. and GERALD, A. (2003) The biocide tributyltin reduces the accumulation of testosterone as fatty acid esters in the mud snail (*Ilyanassa obsoleta*). *Environmental Health Perspectives* 111.
- HARINO, H. (2011) *Simultaneous determination of organotin compounds*. Japan: Kobe College.
- ISLAMI, M.M. (2011) Imposex pada moluska. *Oseana*, 33 (4), pp. 41-48.
- LASUT, M.T. (2001) Accumulation of tributyltin (TBT) and intersex as TBT-contamination indicator of the marine snail *Littoraria* sp. (Gastropoda: Mollusca). *Phuket Marine*

- Biological Central Special Publication*, 25(1), pp. 257-258.
- PANDEY, E. and EVANS, S.M. (1996) The incidence of gastropods from Indonesian coastal water. *Asian Marine Biology*, 13, pp. 53-61.
- PANGGABEAN, A.S., AMRAN, M.B., BUCHARI and ACHMAD, S. (2009) Speciation of organotin compounds with ion pair-reversed phase chromatography technique. *Eurasian Journal of Analytical Chemistry*, 4 (2), pp. 215-225.
- PROUSE, N.J. and ELLIS, D.V. (1997) A baseline survey of dogwhelk (*Nucella lapillus*) imposex in eastern Canada (1995) and interpretation in terms of tributyltin (TBT) contamination. *Environmental Technology*, 18, pp. 1255-1264.
- RAJAK, H. (2004) Kandungan senyawa butyltin (BT) dalam air laut dan sedimen di perairan Teluk Banten. *Makara*, 8(2), pp. 65-69.
- SMITH, B.S. (1971) Sexuality in the American mudsnail, *Nassarius obsoletus* Say. *Proceedings of Malacological Society of London*, 37.
- SUDARYANTO, A., TAKAHASHI, S., MONIRITH, I., ISMAIL, A., MUCHTAR, M., ZHENG, J., RICHARDSON, B.J., SUBRAMANIAN, A., PRUDENTE, M., HUE, H.D. and TANABE, S. (2002) Asia-Pacific Mussel Watch: Monitoring of butyltin contamination in coastal waters of Asian developing countries. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21 (10), pp. 2119-2130.
- WAGIMAN, S. (2004) *Imposeks dalam siput haliah, Thais sp sebagai penunjuk biologi pencemaran tributyltin di perairan Semenanjung Malaysia*. Unpublished thesis (MSc). Malaysia: Fakultas Kejuruteraan Awam. Universiti Teknologi Malaysia.
- YUSUF, M., ZULKIFLI, S.Z. and ISMAIL, A. (2011) Imposex study on *Thais tuberosa* from port and non-port areas along the west coast of Peninsular Malaysia. *Journal of Tropical Marine Ecosystem*, 2, pp. 1-9.

Diterima: 22 Juli 2012
Disetujui: 6 Agustus 2012