

Analisis Struktur Daun Sawi Hijau (*Brassica rapa* var. *Parachinensis*) yang Dipapar dengan Logam Berat Pb (Timbal)

Analysis of Leaf Anatomy of Brassica rapa var. Parachinensis Exposed by Lead

Dita Ariyanti*, Johanes Djoko Budiono, Fida Rachmadiarti

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Surabaya

*e-mail: dita_dithud@yahoo.co.id

ABSTRAK

Sawi hijau (*Brassica rapa* var. *parachinensis*) merupakan jenis sayuran yang banyak diminati masyarakat. Dalam proses budidayanya, kualitas perairan yang baik merupakan salah satu faktor utama dalam pemenuhan unsur hara. Kadar Pb di Kali Surabaya di daerah Karang Pilang melebihi ambang batas yaitu sebesar 0,891 ppm, hal ini membuktikan bahwa kali Surabaya tercemar logam berat Pb. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui perubahan struktur daun sawi hijau yang ditumbuhkan di lingkungan yang tercemar Pb. Desain penelitian adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan satu faktor perlakuan, yaitu perbedaan konsentrasi larutan logam berat timbal (1 ppm, 3 ppm, dan 5 ppm). Daun sawi hijau pada nodus ke tiga dari pangkal dipotong ujung, tengah, dan pangkal untuk digunakan sebagai preparat dan dihitung ketebalan mesofil serta indeks stomata. Daun sawi hijau pada nodus keempat dari pangkal dihitung kadar klorofilnya. Hasil penelitian menunjukkan perubahan tebal mesofil yang paling tinggi terjadi pada jaringan mesofil yang diberi perlakuan Pb 5 ppm, yaitu sebesar 65,83 μm . Pada sawi yang terpapar Pb 5 ppm, indeks stomata juga mengalami penurunan menjadi 0,2317. Kadar klorofil pada daun yang terpapar Pb 5 ppm juga menurun menjadi 0,083 ml/g. Semakin tinggi konsentrasi logam berat Pb pada *Brassica rapa* var. *parachinensis*, maka semakin menurun tebal mesofil, indeks stomata, dan kadar klorofilnya.

Kata Kunci: jaringan mesofil; struktur anatomi daun; timbal; sawi hijau; klorofil

ABSTRACT

Brassica rapa var. *parachinensis* is one of favourite vegetable that often consumed by people. The quality of water is one of the main requirement to fulfill the nutrient intake in the process of cultivation. The sample of river water that was taken from Karang Pilang, Surabaya was tested using AAS method, showed that the concentration of lead reached on 0,891 ppm, according to the data, it is known that the water in Surabaya was polluted. This study was aimed to analyze the effect of lead on the leaf structure of *Brassica rapa* var. *parachinensis* which was growth on contaminated media. The study used a randomized block design (RBD) with one factor, that was difference concentration of heavy metal lead (1 ppm, 3 ppm and 5 ppm). The *Brassica rapa* var. *parachinensis* leaves at the apical, the middle, and the basal were cut and used as the slides. Then, the slides were used to calculate the thickness of mesophyll and stomata index. The chlorophyll content in the remaining leaves was also calculated. These results indicated that the highest changes in the mesophyll tissue is 65,83 μm at 5 ppm. Stomata index decrease to 0,2317 in *Brassica rapa* var. *parachinensis* which was exposed by 5 ppm lead. At this concentration, the chlorophyll content also decreased to 0,083 ml/g. It can be concluded that the concentration of lead on *Brassica rapa* var. *parachinensis*, can decrease the mesophyll tissue, stomata index, and chlorophyll content.

Key Words: mesophyll tissue; leaf anatomical structure; lead; *Brassica rapa* var. *parachinensis*; chlorophyll

PENDAHULUAN

Tingginya aktivitas manusia di sektor industri memiliki dampak negatif pada lingkungan. Proses pengolahan limbah yang tidak maksimal mengakibatkan terjadinya pencemaran (Wardhana, 2004). Hal ini dikarenakan pabrik yang belum memiliki unit pengolahan limbah, ataupun belum memenuhi syarat yang ditetapkan oleh pemerintah membuang hasil limbahnya langsung ke perairan. Proses pembuangan limbah yang tidak tepat inilah yang menyebabkan pencemaran pada sumber persediaan air

(Wardhana, 2004). Timbal (Pb) merupakan salah satu logam berat yang terkandung dalam limbah pabrik yang dibuang. Tercemarnya sumber persediaan air oleh logam berat Pb memiliki pengaruh terhadap kehidupan sehari-hari, salah satunya pada bidang pertanian. Pada bidang pertanian, ambang batas kandungan Pb dalam perairan yang dapat digunakan telah dicantumkan dalam PP No. 82 Tahun 2001. Peraturan tersebut menyatakan bahwa kandungan Pb dalam Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air Kelas III

(perairan untuk pertanian) memiliki ambang batas sebesar 0,03 ppm. Peraturan ini ditujukan untuk menghindari adanya akumulasi logam Pb pada tanaman yang ditanam. Pada beberapa tanaman, Pb memiliki dampak pada proses pertumbuhannya. Menurut Kohar dkk., (2005) kangkung yang ditanam pada media yang terkontaminasi Pb secara terus menerus mengakibatkan kangkung tersebut mengandung Pb yang cukup tinggi, yaitu sebesar 2,08 ppm. Faktor yang memengaruhi kadar timbal dalam tanaman, yaitu waktu kontak tanaman dengan timbal (Pb), kadar timbal (Pb) dalam perairan, morfologi dan fisiologi serta jenis tanaman (Hutagalung dan Razak, 1982).

Perubahan morfologi dapat terjadi pada tanaman yang ditanam pada daerah yang tercemar logam berat. Perubahan tersebut meliputi pertumbuhan dan perkembangan, morfologi, anatomi, dan fisiologi tanaman tersebut. Menurut de Silva *et al.*, (2012), tanaman maple merah yang tumbuh di daerah yang tercemar logam berat mengalami penurunan jumlah stomata dan kadar klorofil. Namun, setiap tanaman menunjukkan gejala yang berbeda-beda. Pada rumput signal (*Brachiaria decumbens*), rumput yang terkontaminasi menunjukkan kadar klorofil a, klorofil b, dan klorofil total mengalami penurunan. Lapisan epidermis pada daun menipis, sedangkan pada akar, lapisan sel di daerah eksodermis dan endodermis mengalami kerusakan serta penurunan tebal area (Gomes *et al.*, 2011).

Sawi hijau (*Brassica rapa* var. *parachinensis*) merupakan jenis sayuran yang banyak diminati masyarakat. Dikenal pula sebagai caisim, atau sawi bakso, sayuran ini mudah dibudidayakan dan dapat dimakan segar. Jenis sayuran ini mudah tumbuh di dataran rendah maupun dataran tinggi. Tanaman ini akan cepat berbunga bila ditanam pada suhu sejuk. Dalam proses pemanenan, tanaman ini akan dipanen setelah berumur satu bulan. Dalam proses penanaman sawi hijau dibutuhkan beberapa unsur hara dan mineral dari perairan sehingga asupan mineral bagi tanaman tidak kurang. Menurut Widaningrum dkk., (2007) kandungan timbal (Pb) pada caisim atau sawi hijau yang ditanam pada tanah yang tercemar logam berat bisa mencapai 28,78 ppm. Hal ini bertolak belakang dengan batasan BPOM terkait pencemaran pada makanan. Menurut BPOM, ambang batas Pb pada tanaman sayuran dan buah segar yang dikonsumsi sebesar 2 ppm. Semakin banyak kandungan logam berat yang dikonsumsi oleh manusia, menyebabkan penyakit pada tubuh

manusia itu sendiri. Oleh karena itu, dalam masalah ini perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh paparan logam berat Pb dengan indikator perubahan tebal jaringan penyusun daun, indeks stomata, serta kadar klorofil dari helai daun tanaman sawi.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan rancangan acak kelompok dengan satu faktor perlakuan, yaitu tanaman sawi (*Brassica rapa* var. *parachinensis*) berusia 1 minggu yang dipapar logam berat Pb sebesar 0 ppm, 1 ppm, 3 ppm, dan 5 ppm selama 15 hari. Penelitian dilakukan pada bulan Mei-Juli 2014 di *Green House* FMIPA UNESA, Surabaya. Pengamatan bentukan mesofil, indeks stomata, dan kadar klorofil dilakukan di Laboratorium Mikroteknologi UNESA dan Laboratorium Botani ITS, Surabaya.

Bahan yang digunakan, yaitu sampel tanaman sawi sehat dan berumur 7 hari dengan panjang tangkai 10-15 cm sebanyak 24 tanaman, padatan Pb Asetat, safranin, *fastgreen*, alkohol 50%, alkohol 60%, alkohol 80%, alkohol 96%, alkohol 100%, akuades, xilol, parafin, tisu, dan *chloral hidrat*. Alat yang digunakan adalah mikrotom, gelas objek, *cover glass*, gelas kimia, spektrofotometri UV-Vis, mortar-alu, corong, gelas ukur, dan tabung reaksi.

Penelitian diawali dengan persiapan pembuatan preparat, membuat larutan formalin alkohol asetat (FAA), xilol-parafin, pewarna safranin dan *fast green*. Tanaman sawi hijau tanpa perlakuan dan yang diberi perlakuan setelah berumur 1 bulan dipanen. Pada daun ketiga dari bawah diambil dan dibagi menjadi 3 bagian, yaitu ujung, tengah, dan pangkal. Potongan organ daun difiksasi menggunakan FAA selama 24 jam kemudian dimasukkan dalam alkohol berseri (70%, 80%, 95%, dan alkohol absolut dua kali) masing-masing selama 30 menit. Potongan daun selanjutnya dimasukkan dalam larutan alkohol : xilol dengan perbandingan 3:1; 1:1; dan 1:3 masing-masing selama 30 menit. Potongan daun yang sudah direndam larutan alkohol : xilol dengan perbandingan 1:3 kemudian dipindahkan dan direndam ke dalam larutan xilol sebanyak 30 menit dan diulang sebanyak dua kali. Setelah direndam larutan xilol, spesimen (potongan daun) dipindahkan ke dalam larutan xilol : parafin (1: 9) dalam oven dengan suhu 57°C selama 24 jam. Spesimen yang sudah masuk dalam larutan xilol : parafin selama 24 jam dipindahkan ke dalam parafin murni dalam oven dengan suhu 57°C,

sehingga spesimen terendam dalam cairan parafin murni. Proses ini diulangi sebanyak dua kali.

Setelah proses perendaman dalam cairan parafin murni, spesimen dan cairan parafin dicetak membentuk blok parafin dengan spesimen di tengah. Blok parafin kemudian dibentuk menyerupai trapesium tanpa melukai spesimen dan diiris menggunakan mikrotom dengan ketebalan 7-8 μm atau 10-13 μm . Pita potongan diletakkan dalam *waterbath* dengan suhu 45°C, kemudian pita ditaruh pada gelas objek yang sudah dilapisi albumin-gliserin. Preparat direndam dengan larutan xilol sebanyak 3 menit dan diulang sebanyak dua kali. Preparat dipindahkan dalam larutan alkohol : xilol dengan perbandingan 1:3; 1:1; dan 3:1 masing-masing selama 3 menit. Setelah preparat masuk dalam alkohol : xilol dengan perbandingan 3:1, preparat direndam dalam alkohol berseri (alkohol absolute dua kali, 95%, 80%, dan 60%) masing-masing selama 3 menit. Setelah itu preparat direndam dalam pewarna safranin alkoholik selama 5 menit kemudian direndam dalam masing-masing larutan alkohol berseri (60%, 80%, 95%) selama 3 menit. Pewarnaan kedua menggunakan pewarna *fastgreen*. Preparat direndam menggunakan pewarna *fastgreen* selama 30 detik. Setelah 30 detik, preparat direndam dalam alkohol absolute selama 3 menit sebanyak dua kali, kemudian direndam xilol-alkohol berseri selama 3 menit, dan yang terakhir preparat direndam dalam xilol absolute selama 3 menit. Pada proses penutupan, perekat Mayer diteteskan pada preparat dan tutup menggunakan *cover glass*. Untuk

pengamatan stomata, potongan daun direndam dalam *chloral hydrat* pekat selama 1 malam kemudian diamati menggunakan mikroskop (Budiono, 2012).

Tahap selanjutnya adalah pembuatan larutan klorofil. Daun sawi hijau basah ditimbang sebesar 1 gr dan dipotong kecil-kecil. Potongan tersebut digerus dan dilarutkan menggunakan 100 ml alkohol 95%. Hasil larutan disaring dan dihitung nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Data yang didapat dihitung menggunakan rumus dari Wintermans dan de Mots yang tercantum dalam Sumenda dkk. (2011), sebagai berikut:

Klorofil a : $13,7 \times \text{OD } 665 - 5,76 \text{ OD } 649$ (mg/L)

Klorofil b : $25,8 \times \text{OD } 649 - 7,7 \text{ OD } 665$ (mg/L)

Klorofil total : $20,0 \times \text{OD } 649 + 6,1 \text{ OD } 665$ (mg/L)

Data hasil pengamatan tebal mesofil dan indeks stomata dianalisis secara statistik menggunakan Anava satu arah pada taraf nyata 0,05 dan apabila antar perlakuan ada yang berbeda nyata dilanjutkan dengan uji Duncan.

HASIL

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan data tebal mesofil, indeks stomata, dan kadar klorofil tanaman sawi hijau dalam bentuk data kuantitatif. Adapun data yang diperoleh melalui pengamatan secara langsung menggunakan metode parafin dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata tebal mesofil dan indeks stomata daun sawi yang dipapar logam berat

Perlakuan	Hasil Pengamatan		
	Tebal mesofil \pm SD (μm)	Indeks stomata \pm SD	Kadar Klorofil \pm SD (mg/l)
P1	127,5 \pm 0,00 ^c	0,2866 \pm 0,01841 ^b	0,234 \pm 0,08578 ^a
P2	80,00 \pm 0,00 ^b	0,2721 \pm 0,03637 ^b	0,109 \pm 0,00062 ^a
P3	65,83 \pm 0,00 ^a	0,2317 \pm 0,02145 ^a	0,083 \pm 0,00139 ^a
Kontrol	180,0 \pm 0,00 ^d	0,3295 \pm 0,01714 ^c	7,170 \pm 0,65395 ^b

Keterangan:

1. Kontrol : Tanaman sawi hijau yang tidak terpapar logam berat. P1: Tanaman sawi hijau yang terpapar Pb 1 ppm; P2: Tanaman sawi hijau yang terpapar Pb 3 ppm; P3: Tanaman sawi hijau yang terpapar Pb 5 ppm.
2. Notasi (a, b, c, dan d) yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan bahwa perlakuan tersebut berbeda nyata berdasarkan uji Duncan dengan taraf kepercayaan 5%.

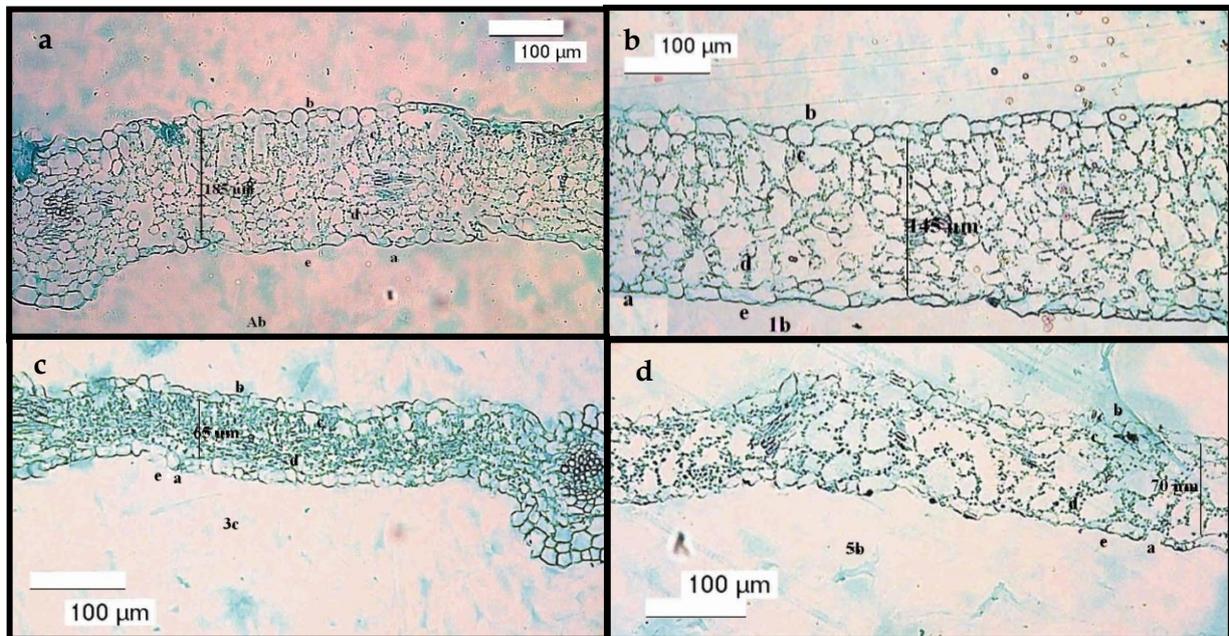
Berdasarkan hasil pengamatan parameter tebal mesofil pada Tabel 1., perlakuan yang berbeda nyata dengan perlakuan yang lain adalah perlakuan 5 ppm yang ditunjukkan pada P3. Pada P3, tebal mesofil yang dihasilkan sebesar 65,83 \pm 0,00. Pada perlakuan P1 (1 ppm) didapatkan hasil

127,5 \pm 0,00^c dan hasil yang didapat menyatakan bahwa P1 memiliki beda nyata yang paling kecil. Sesuai dengan hasil penelitian pada parameter indeks stomata, perlakuan P3 merupakan yang paling terlihat dampaknya dan P1 memiliki perbedaan yang sedikit dibandingkan dengan

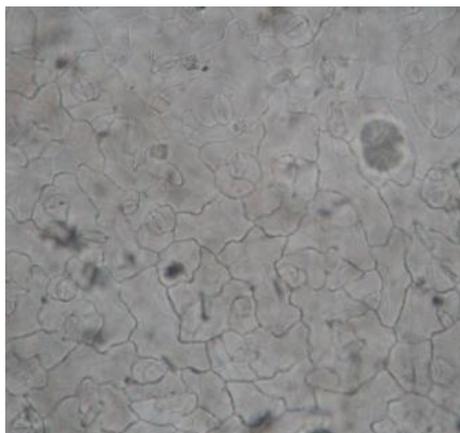
perlakuan kontrol. Pada kadar klorofil, nilai terendah bernilai 0,083 dimiliki oleh 5 ppm. Pada Tabel 1 juga dapat diketahui bahwa kadar klorofil berbeda nyata antara kadar klorofil sawi tanpa perlakuan (kontrol) dengan perlakuan 1 ppm, 3 ppm, dan 5 ppm.

Hasil penelitian dari ketiga parameter dapat menunjukkan bahwa pada perlakuan P3

mengalami pertumbuhan yang paling terhambat dan memperlihatkan dampak yang paling signifikan. Perlakuan P3 dengan nilai tebal mesofil $65,83 \pm ,00a \mu\text{m}$, indeks stomata $0,2317 \pm 0,02145a$ dan kadar klorofil $0,083 \pm 0,00139a \text{ mg/l}$. Data tersebut diamati melalui pengamatan makroskopis dan mikroskopis.



Gambar 1. Pengamatan mikroskopis jaringan mesofil perbesaran 100x (a): Jaringan mesofil Kontrol. (b): Jaringan mesofil 1 ppm. (c): Jaringan mesofil 3 ppm. (d): Jaringan mesofil 5 ppm. Keterangan: a. Stomata; b. Epidermis Atas; c. Parenkim palisade; d. Parenkim sponsa; e. Epidermis Bawah.



Gambar 2. Struktur stomata secara mikroskopis perbesaran 100x

PEMBAHASAN

Pada tumbuhan, logam Pb akan terlihat dampaknya jika melebihi konsentrasi ambang batas dari ketahanan tanaman. Logam berat Pb

dalam konsentrasi besar menyebabkan toksisitas pada tanaman (Palar, 2008). Pada tanaman, logam berat masuk dalam tanaman menggunakan jalur difusi terfasilitasi. Dalam proses ini mineral dan unsur hara yang masuk mendapat bantuan dari protein yang berada pada membran sel sehingga Pb dapat masuk dan melintasi lapisan *lipid bilayer* (Salisbury dan Ross, 1992). Logam Pb yang masuk kedalam daun akan terlibat dalam aktivitas metabolisme sel dan memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan tumbuhan. Penyerapan Ca, Mg, atau Fe digantikan oleh Pb dikarenakan memiliki muatan ion yang sama, x^{2+} . Keberadaan Pb dalam sitoplasma akan menghambat kinerja dua enzim yaitu Asam Delta Amino Levulenat Dehidratase (ALAD) dan Profobinogenase yang berfungsi dalam proses biogenesis klorofil (Flanagan et al., 1980).

Mekanisme lain dari penghambatan biosintesis klorofil, yaitu logam Pb masuk ke dalam jaringan tumbuhan dan akan terakumulasi

di dalam organ daun, sehingga akan mengurangi asupan unsur yang merupakan bahan pembentuk klorofil seperti magnesium (Mg), besi (Fe), dan nitrogen (N) akibat adanya persaingan kapasitas tukar kation. Akibatnya, tanaman mengalami klorosis dan volume serta jumlah kloroplas menurun (Kovacs, 1992).

Dalam proses fotosintesis, logam berat Pb menghambat aktivitas enzim yang terlibat dalam proses fotosintesis reaksi gelap. Kloroplas yang rusak mengakibatkan jumlah kadar klorofil menurun. Klorofil b merupakan dampak nyata bagi tanaman. Pada tanaman sawi yang dipapar logam berat 5 ppm, tidak terbentuk klorofil b dan dalam data statistik menggunakan SPSS 16.0 dengan metode Duncan, pada konsentrasi 1-3 ppm dan 5 ppm memiliki beda nyata. Hal ini mengakibatkan tanaman terhambat dalam melakukan proses fotosintesis. Jika unsur hara Mg sebagai koenzim tergantikan dengan logam Pb, maka fotosintesis tidak berjalan sempurna, sehingga fotosintat yang dihasilkan tidak mencukupi dan menghambat proses diferensiasi jaringan (Salisbury dan Ross, 1995).

Empat perlakuan pada tanaman memiliki dampak yang berbeda, dari data yang diperoleh diketahui perlakuan tanaman 5 ppm memiliki beda nyata terbesar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi 5 ppm memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap struktur daun dalam akumulasi logam Pb pada sawi hijau. Pada tanaman sawi yang terpapar logam Pb 3 ppm, jaringan mesofil mulai rapat dengan ukuran sel menurun dibandingkan dengan tanaman sawi 0 ppm. Batasan jaringan parenkim palisade dengan jaringan parenkim sponsa juga sulit untuk dibedakan. Pada tanaman yang terpapar Pb 5 ppm, ruang intraseluler ditemukan pada jaringan parenkim palisade (Mauseth, 1988).

Pada konsentrasi 5 ppm, tebal mesofil menunjukkan adanya kerusakan jaringan sehingga mengakibatkan turunnya tebal jaringan mesofil. Adanya akumulasi logam Pb memicu tanaman melakukan adaptasi baik menggugurkan daunnya yang tua atau mengkeriting. Mengkeriting dan berbintik coklat menyerupai daun yang hendak kering merupakan dampak dari adaptasi jaringan yang telah terkontaminasi logam berat. Logam Pb mampu mereduksi ukuran jaringan mesofil pada daun sehingga daun yang terkontaminasi Pb menjadi lebih tipis (Gomes *et al.*, 2011).

Pada preparat, jaringan dermal tanaman cenderung mudah rusak. Hal ini dimungkinkan bahwa jaringan pada tanaman sawi hijau yang

terpapar logam berat lebih rentan dibandingkan tanaman sawi yang tidak terpapar logam berat. Kutikula yang ada pada lapisan dermal juga mudah rusak. Pada jaringan parenkim palisade, ukuran sel mengecil dengan rongga pada jaringan sponsa semakin lebar. Menurut Stevens dan Martin (1978) dalam Mulyani (2006), pembentukan lubang dimulai secara enzimatik dan pemisahan kedua sel penutup dilakukan oleh kekuatan osmosis dan dari hidrolisis tepung. Hal inilah yang menyebabkan stomata pada sawi yang terpapar logam Pb 5 ppm tidak berkembang dengan baik. Logam Pb menyumbat kinerja enzim yang berlaku.

Logam Pb mampu mereduksi ukuran jaringan mesofil pada daun sehingga daun yang terkontaminasi Pb menjadi lebih tipis. Tebal mesofil mempengaruhi massa sel yang ada pada organ tanaman. Semakin sedikit massa sel, semakin sedikit pula berat kering daun sawi hijau. Dengan rusaknya jaringan mesofil, maka kloroplas yang ada di jaringan mesofil juga ikut tereduksi (Gomes *et al.*, 2011).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi logam berat Pb pada *Brassica rapa* var. *parachinensis*, semakin menurun tebal jaringan mesofil, indeks stomata, dan kadar klorofil daun. Hasil menunjukkan perlakuan pemaparan logam berat Pb 5 ppm memiliki dampak yang paling berbeda nyata dari tanaman perlakuan yang lain dengan tebal jaringan mesofil $65,83 \pm 0,00^a$ μm , indeks stomata $0,2317 \pm 0,02145^a$, dan kadar klorofil $0,083 \pm 0,00139^a$ mg/l.

DAFTAR PUSTAKA

- Budiono JD, 2012. *Anatomi Tumbuhan*. Surabaya. UNESA.
- de Silva NDG, Cholewa E, Ryser P, 2012. Effects of Combined Drought and Heavy Metal Stresses on Xylem Structure and Hydraulic Conductivity in Red Maple (*Acer rubrum* L.). *Journal of Experimental Botany*, doi: 10.1093/jxb/ers241. 1-10.
- Flanagan JT, Wade KJ, Curie S, Curtis DJ, 1980. The Deposition of Lead and Zinc From Traffic Pollution On two Road Side Shrubs Environment Pollutants. *Journal Environmental Science (Series B)*. 1: 71-78.
- Gomes MP, Marques TCLLdSeM, Nogueira MdOG, de Castro EM, Soares ÂM, 2011. Ecophysiological and anatomical changes due to uptake and accumulation of heavy metal in *Brachiaria*

- decumbens*. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)*, 68(5): 566-573.
- Hutagalung HP dan Razak H, 1982. Pengamatan Pendahuluan Kadar Pb dan Cd dalam Air dan Biota di Estuari Muara Angke. *Oseanologi di Indonesia*, 15: 1-10.
- Kovacs M, 1992. *Biological Indicators in Environmental protection*. England: Market Cross House.
- Kohar I, Hardjo PH, Lika II, 2005. Studi Kandungan Logam Pb dalam Tanaman Kangkung Umur 3 dan 6 Minggu yang Ditanam di Media yang Mengandung Pb. *Makara sains*, 9(2): 56-59
- Mauseth JD, 1988. *Plant Anatomy*. California: Benjamin/cummings (series in the life sciences).
- Mulyani SSE, 2006. *Anatomi Tumbuhan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Palar H, 2008. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Kementrian Lingkungan Hidup, 2001. PP No. 82 tentang *Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air*.
- Kementrian Kesehatan, 2009. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Tentang Penetapan Batas Maksimum Cemarannya Mikroba dan Kimia Dalam Makanan Nomor HK.00.06.1.52.4011.
- Salisbury FB and Ross C, 1992. *Plant Physiology*, 4th ed. California: Wadsworth Publishing Co.
- Salisbury FB dan Ross C, 1995. Terjemahan Diah R. Lukman dan Sumaryono dari *Plant Physiology* 4th edition (1992). Bandung: ITB.
- Sumenda L, Rampe HL, Mantiri FR, 2011. Analisis Kandungan Klorofil Daun Mangga (*Mangifera indica* L.) pada Tingkat Perkembangan Daun yang Berbeda. *Bioslogos*, 1(1): 20-24.
- Wardhana WA, 2004. *Dampak Pencemaran Lingkungan* (Edisi Revisi). Yogyakarta: Andi
- Widaningrum, Miskiyah, Suismono, 2007. Bahaya Kontaminasi Logam Berat Dalam Sayuran dan Alternatif Pencegahan Cemarannya. *Buletin Teknologi Pascapanen Pertanian*, 3: 16-27.