



Uji Sitotoksitas Sampel Air Sungai Cikamal Berdasarkan Bioindikator *Allium cepa* L.

Annisa*, Annisa Mardliyyah, Sri Rejeki Rahayuningsih

Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran

*E-mail: annisa2016@unpad.ac.id

Abstrak

Allium cepa L. dapat digunakan sebagai bioindikator pengujian sitotoksitas di lingkungan perairan. Pengujian sitotoksitas dilakukan di Sungai Cikamal, Cagar Alam Pangandaran. Penelitian bertujuan untuk menguji tingkat toksisitas sampel air sungai berdasarkan indeks mitosis kromosom akar *A. cepa* L. sebagai bioindikator. Sampel air Sungai Cikamal yang diuji berasal dari bagian hulu, tengah, dan hilir. Metode penelitian adalah observasi dan eksperimental. Penghitungan indeks mitosis dianalisis dengan analisis varians (ANOVA) yang dilanjutkan dengan uji Duncan. Data jenis aberasi kromosom dianalisis secara deskriptif. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pada setiap lokasi didapatkan semua fase siklus sel yaitu interfase, profase, metafase, anafase, dan telofase. Indeks mitosis bagian hulu, tengah, dan hilir berturut-turut adalah 59,37 %; 46,43 %, dan 25 %. Berdasarkan uji ANOVA diketahui terdapat perbedaan nyata tingkat sitotoksitas sampel air dari ketiga tempat. Berdasarkan uji Duncan, penurunan indeks mitosis terjadi secara signifikan pada sampel air hilir dibandingkan dengan hulu dan tengah. Hal ini menunjukkan bahwa pada sampel bagian hilir diduga terdapat zat-zat yang berperan menghambat pembelahan sel mitosis. Hasil pengamatan aberasi kromosom ditemukan lima tipe aberasi kromosom antara lain *bridge*, *c-mitosis*, *micronucleus*, *spindle abnormalities*, dan *stickiness*. Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa *A. cepa* L dapat digunakan sebagai bioindikator pencemaran air oleh suatu zat yang berperan menghambat pembelahan sel mitosis untuk monitoring perairan di wilayah Cagar Alam Pangandaran.

Kata Kunci: *A. cepa* L., indeks mitosis, sitotoksitas, Sungai Cikamal

Abstract

Allium cepa L. has been used as a bioindicator in cytotoxicity test for aquatic environment. Cytotoxicity test was conducted on the Cikamal River, Pangandaran Nature Reserve. This study aimed to test the toxicity level of the water samples based on mitotic index of *A. cepa* L. root tip chromosomes as a bioindicator. The water samples were obtained from the upstream, midstream, and downstream area. The method used was observation and experimental. Mitotic index was analyzed by analysis of variance (ANOVA) and continued with Duncan posthoc test. Data of chromosomal aberrations were analyzed descriptively. The results showed that in each location all phases of the mitotic division were shown (interphase, prophase, metaphase, anaphase, and telophase). Mitotic index (MI) value from upstream, midstream, and downstream respectively were 59.37%, 46.43% and 25%. Based on ANOVA, there was a significant difference in cytotoxicity level among the three samples tested. Duncan test demonstrated the MI in the downstream was significantly lower than upstream and midstream area. This suggested that there might be substances around the area that may prevent the mitotic division. Chromosomal aberration observation showed five types of chromosomal aberration: bridge, c-mitosis, micronucleus, spindle abnormalities, and stickiness. Based on the result it can be concluded that *A. cepa* L can be used as bioindicator to monitor water quality around Pangandaran Nature Reserve.

Keywords: *A. cepa* L., Cikamal River, cytotoxicity, mitotic index

1. Pendahuluan

Air sangat penting bagi kehidupan di alam ini dan tidak ada satupun kehidupan yang dapat berlangsung terus tanpa ada air (Winarno, 1986). Untuk memenuhi kebutuhan akan air, maka air tersebut harus memenuhi persyaratan kualitas yang telah ditentukan oleh pemerintah seperti syarat fisik: air tidak berwarna, tidak berbau, keruh dan tidak berasa, syarat mikrobiologi: bebas dari parasit patogen, syarat kimiawi: air tidak mengandung bahan kimia dalam kadar yang menimbulkan gangguan kesehatan dan syarat radioaktif: air bebas dari pencemaran radioaktif

(Depkes RI, 1990). Namun demikian, air yang digunakan tidak selalu sesuai dengan syarat kesehatan. Sering ditemui air yang mengandung bibit atau zat-zat tertentu yang dapat menimbulkan penyakit dan membahayakan kelangsungan hidup manusia (Winarno, 1986).

Pangandaran adalah sebuah kawasan semenanjung kecil di pantai Selatan Pulau Jawa (Noortiningsih dkk., 2008). Sungai Cikamal merupakan salah satu sungai penting di Cagar Alam Pananjung Pangandaran. Sungai ini melintasi padang penggembalaan yang biasanya digunakan untuk menggembala hewan. Meskipun

air sungai Cikamal digunakan untuk aktivitas harian penduduknya, kondisi dari perairan tersebut belum tentu sesuai syarat kualitas air. Hal ini karena adanya aktivitas yang dilakukan di sekitar sungai akan mempengaruhi kondisi dan kualitas air sungai tersebut, baik di hulu, tengah, maupun hilir sungai.

A. cepa assay merupakan uji yang efisien untuk skrining bahan kimia dan monitoring kawasan in situ untuk sitotoksitas dari kontaminan yang ada di lingkungan (Feretti *et al.*, 2007). Uji sitotoksitas air Sungai Cikamal dilakukan untuk mengetahui kualitas perairan berdasarkan nilai indeks mitosis pada pengamatan kromosom akar bawang (*A. cepa* L.). Penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi ilmiah terbaru mengenai kualitas perairan Sungai Cikamal berdasarkan indeks mitosis yang didapatkan.

2. Metode

Uji sitotoksitas air Sungai Cikamal ini menggunakan metode observasi untuk mengetahui jenis-jenis aberasi kromosom yang terdapat pada sayatan akar *A. cepa* L. yang ditumbuhkan dalam medium tiga sampel air (hulu, tengah dan hilir) dan metode eksperimental untuk mengetahui pengaruh pemberian tiga sampel air sungai Cikamal terhadap kromosom akar *A. cepa* L. Pengamatan kromosom akar *A. cepa* L. menggunakan metode *squash* berdasarkan teknik Fiskesjo yang diadaptasi oleh Knoll *et al.*, dan Fachinnetto *et al.*, dalam Tedesco dan Laughinghouse (2012) dengan modifikasi.

2.1 Metode Pengumpulan Data

2.1.1 Pengambilan Sampel Air

Mula-mula ditentukan tiga titik sampling air yaitu hulu, tengah, dan hilir Sungai Cikamal. Kemudian dari masing-masing titik sampling, air diambil menggunakan botol plastik. Setelah itu setiap sampel air dituangkan masing-masing ke dalam 3 gelas plastik sebanyak 30 ml.

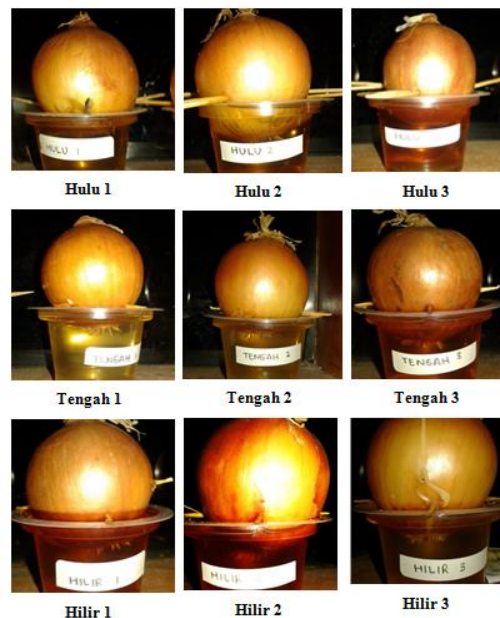
2.1.2 Perendaman Umbi *A. cepa* L.

Perendaman umbi *A. cepa* L, dilakukan dengan mengadaptasi teknik perendaman umbi *A. cepa* L. menurut oleh Khanna and Sherma (2013). mula-mula cakram dan akar-akar tua dibuang dengan bantuan silet yang tajam hingga terlihat primordial akar. Proses perendaman umbi akar *A. cepa* dapat dilihat pada Gambar 1.

2.1.3. Pembuatan Preparat

Berdasarkan adaptasi dari teknik pembuatan preparat oleh Khanna and Sherma (2013) dengan modifikasi, setelah perlakuan perendaman, umbi tersebut dicuci dengan air bersih. Ujung akar dipotong lalu ditempatkan pada larutan Farmer (atau Mc Clintock) yang merupakan campuran asam asetat glasial : alkohol = 1:3 selama 24 jam.

Setelah itu dihidrolisis menggunakan HCL 1N selama 10 menit. Kemudian akar tersebut dimasukkan pada larutan fiksatif Carnoy selama 20 menit, lalu direndam dengan asetocarmine selama minimum 60 menit. Setelah itu akar dipindahkan ke kaca objek dan ditutup dengan kaca penutup dan dilakukan teknik *squash*.



Gambar 1. Perendaman Umbi *A. cepa* L. dalam Air Sampel yang Berasal dari Ketiga Lokasi Berbeda

2.1.4 Pengamatan Mikroskopis Preparat

Pengamatan mikroskop preparat dilakukan dengan menganalisis 1000 sel setiap umbinya, dan jumlah total sel yang diamati adalah sebanyak 9000 sel (Tedesco and Laughinghouse, 2012). Pengamatan sediaan akar *A. cepa* L. menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x dan 1000x. Pengamatan sel pada perbesaran 1000x dibantu dengan minyak imersi.

2.2 Metode Analisis Data

Analisis data untuk penghitungan indeks mitosis dianalisis secara statistik yaitu dengan uji ANAVA dan uji Duncan. Indeks mitosis ditandai dengan jumlah total sel yang sedang mengalami pembelahan dalam suatu siklus sel (Ping *et al.*, 2012). Indeks mitosis dapat dihitung dengan rumus berikut (Chandraker *et al.*, 2014)

$$\text{Indeks Mitosis (IM)} = \frac{\text{Jumlah sel pada fase pembelahan} \times 100}{\text{Jumlah sel yang diamati}}$$

Setelah didapatkan nilai indeks mitosis dilanjutkan dengan analisis variansi (ANOVA) faktor tunggal dan uji Duncan.

Data aberasi kromosom dianalisis secara deskriptif, yaitu menjelaskan jenis aberasi

kromosom yang didapatkan pada pengamatan kromosom akar *A. cepa* L. pada masing-masing sampel air sebagai indikator adanya zat toksik yang mencemari lingkungan perairan.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Deskripsi Lokasi Pengambilan Sampel

Penelitian mengenai uji sitotoksitas air Sungai Cikamal melalui pengamatan indeks mitosis kromosom akar *A. cepa* L. telah dilaksanakan pada tanggal 8-14 Mei 2016 di Sungai Cikamal, Cagar Alam Pananjung Pangandaran, Desa Pangandaran, Kecamatan Pangandaran Kabupaten Pangandaran. Penelitian dimulai dengan pengambilan sampel air pada hulu, tengah, dan hilir sungai Cikamal. Peta lokasi pengambilan sampel dapat dilihat pada Gambar 2 sedangkan titik koordinat peta lokasi pengambilan sampel tercantum pada Tabel 1.



Gambar 2 Peta Lokasi Pengambilan Sampel Air Sungai Cikamal
 Sumber: Google Earth, 2016

Tabel 1. Titik Koordinat Peta Lokasi Pengambilan Sampel

No	Lokasi	Titik Koordinat
1	Hulu Cikamal	7°42'44.82"S 108°39'33.72"E
2	Tengah Cikamal	7°42'33.72"S 108°39'33.78"E
3	Hilir Cikamal	7°42'28.38"S 108°39'20.52"E

Hulu sungai yang dipilih terletak di kawasan Nanggorak dengan kondisi tajuk yang sangat rapat sehingga cahaya matahari yang masuk pun sedikit. Kondisi perairannya jernih hanya saja banyak serasah dan lumut di permukaan perairan dengan sedimen berlumpur.

Bagian tengah sungai terletak sekitar 300 meter dari padang penggembalaan Cikamal. Tajuknya tidak serapat di bagian hulu. Perairannya didominasi bebatuan berukuran sedang hingga kecil dengan tipe sedimen pasir berbatu dengan air berwarna jernih.

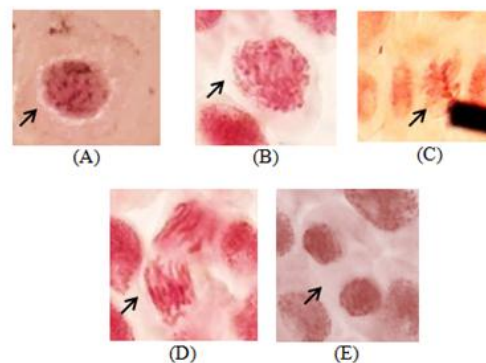
Bagian hilir sungai terletak di dekat Jembatan Eti dengan air yang berwarna lebih keruh dari air sampel lainnya. Kondisi tajuknya tidak serapat bagian hulu dan hilir. Jembatan Eti merupakan

jembatan yang digunakan untuk perlintasan dari kawasan dekat pantai ke dalam hutan.

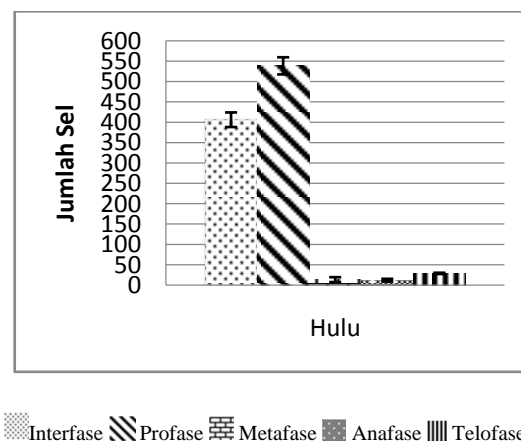
3.2 Hasil Pengamatan Sediaan Akar *A. cepa* L.

Pengamatan sediaan akar *A. cepa* L. di bawah mikroskop dilakukan dengan cara menghitung sel akar bawang tersebut baik sel yang sedang bermitosis maupun sel yang tidak sedang bermitosis. Setiap bawang diamati sebanyak 1000 sel dan dari sejumlah sel tersebut dihitung jumlah sel pada fase interfase, profase, metafase, anafase, dan telofase untuk kemudian dihitung indeks mitosisnya.

Berdasarkan hasil pengamatan dapat diketahui bahwa pada setiap perlakuan teramati sel yang sedang bermitosis (profase, metafase, anafase, dan telofase) maupun yang sedang dalam fase istirahat (interfase). Fase-fase yang teramati dapat dilihat pada Gambar 3. Selain itu, data perolehan fase-fase pembelahan dari setiap sampel tersaji dalam Grafik 1, 2, dan 3.



Gambar 3 Fase-Fase Pembelahan Sel Normal yang Teramati pada Preparat Akar *A. cepa* L. pada perbesaran 1000x dengan menggunakan Mikroskop Majemuk Cahaya Binokular (A) Interfase (B) Profase (C) Metafase (D) Anafase (E) Telofase

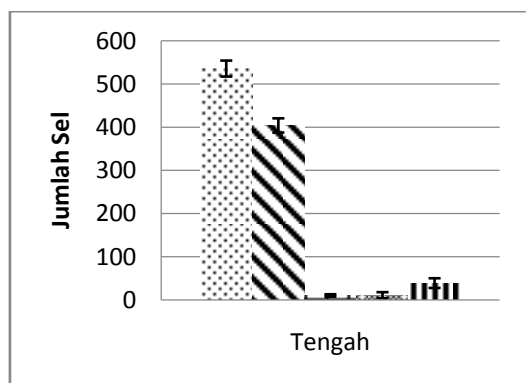


Grafik 1 Perbandingan Jumlah Sel yang Bermitosis dan Interfase pada Sampel Air Hulu Sungai Cikamal

Berdasarkan Grafik 1 dapat diketahui bahwa sel mayoritas sedang mengalami tahap profase dan

fase mitotik lainnya mempunyai jumlah cenderung sedikit. Namun hal ini termasuk normal karena jika suatu sel sedang mengalami profase akan lanjut ke fase berikutnya. Profase memerlukan waktu yang jauh lebih lama, sehingga banyak profase yang teramati menunjukkan hal yang normal (Elrod and Stansfield, 2007).

Pada saat pengambilan sampel air hulu, terpantau banyak serasah di permukaan air dan pada badan air selalu ada mikroorganisme, hanya saja tidak terlihat. Jika dibiarkan dalam waktu yang lama maka serasah daun tersebut akan terdekomposisi oleh mikroorganisme dekomposer menjadi zat-zat organik dan anorganik. Senyawa - senyawa serasah terdekomposisi dan termineralisasi sehingga menyediakan unsur - unsur yang penting bagi pertumbuhan mikroorganisme. Mikroorganisme yang pada umumnya didominasi oleh jamur, membutuhkan sumber karbon, nutrisi makro seperti nitrogen, fosfor, potasium dan elemen lain untuk pertumbuhannya, sedangkan nutrisi-nutrisi tersebut terdapat bersama-sama di dalam sel tumbuhan. Untuk mendapatkan sumber - sumber nutrisi, mikroorganisme harus mendegradasi sel tumbuhan terlebih dahulu. Setelah proses dekomposisi selesai, badan air akan mengandung berbagai macam mineral (Rindyastuti dan Darmayanti, 2010). Menurut Amaral *et al.*, rangsangan mitosis dapat dipengaruhi oleh adanya fosfor dan nitrogen yang menyebabkan eutrofikasi (Dusman *et al.*, 2014). Jadi, kemungkinan zat kimia yang ada di badan air hulu tersebut justru mendorong adanya proses mitosis karena disana hanya terdapat serasah saja, tidak ditemukan hal-hal lain yang dapat menyebabkan pencemaran.



Interfase Profase Metafase Anafase Telofase

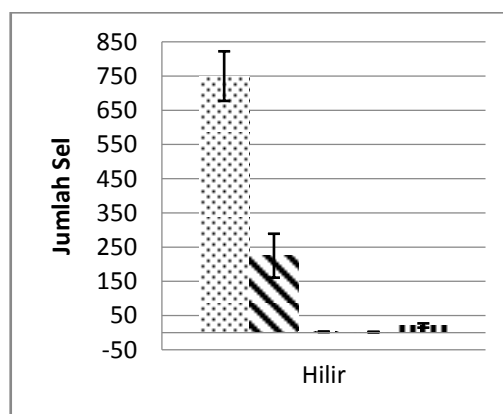
Grafik 2. Perbandingan Jumlah Sel yang Bermitosis dan Interfase pada Sampel Air Tengah Sungai Cikamal

Berdasarkan hasil pengamatan diketahui bahwa fase siklus sel yang terbanyak adalah interfase. Jumlah fase mitotiknya jauh berkurang jika dibandingkan dengan sampel air hulu.

Menurut Schneiderman, *et al.*, adanya tekanan pada aktivitas pembelahan kemungkinan

disebabkan oleh bloking pada G₁, dan menekan sel dari sintesis DNA (Amin, 2002) atau menurut Van't Hof bloking pada G₂ yang mencegah sel masuk ke fase mitosis. Namun tidak diketahui secara spesifik zat yang dapat mengblokir siklus sel tersebut menuju fase mitosis (Amin, 2002).

Secara kasat mata, sampel air bagian tengah terpantau jernih dan tidak terlalu banyak serasah seperti di bagian hulu. Hanya saja di sepanjang bagian tengah sungai banyak lubang habitat biawak (*Varanus salvator*) sehingga memungkinkan biawak banyak melakukan aktivitas di daerah tersebut dan mengeluarkan sisa metabolime tubuhnya ke sungai tersebut.



Interfase Profase Metafase Anafase Telofase

Grafik 3. Perbandingan Jumlah Sel yang Bermitosis dan Interfase pada Sampel Air Tengah Sungai Cikamal

Berdasarkan hasil pada Grafik 3. diketahui bahwa jumlah sel yang mengalami interfase mendominasi diantara 1000 sel yang diamati. Hal ini mengindikasikan keberadaan zat toksik yang mengganggu proses siklus sel untuk lanjut ke tahap mitosis. Pada saat pengamatan, air sungai hilir berwarna lebih keruh dari sampel lain dan bersubstrat pasir berwarna agak kekuningan. Selain itu, daerah hilir dekat Jembatan Eti sering dilalui oleh satwa seperti monyet ekor panjang (*Macaca fascicularis*) dan rusa (*Cervus timorensis*). Beberapa rusa tersebut diketahui melakukan defekasi di sekitar bagian hilir sungai. Hal ini dapat menjadi salah satu penyebab pencemar air sungai bagian hilir karena feces mengandung zat sisa dikeluarkan tubuh. Selain defekasi, rusa juga melakukan mikturisi (pengeluaran urin) yang juga menjadi salah satu penyebab pencemaran.

Setelah dilakukan pengamatan jumlah sel yang bermitosis dan yang interfase, dilakukan rekapitulasi hasil dan penghitungan indeks mitosis yang tersaji dalam Tabel 3.

Berdasarkan Tabel 3, dapat diketahui bahwa indeks mitosis tertinggi hingga terendah berturut-turut dari ketiga sampel adalah hulu, tengah, dan

hilir dengan nilai indeks mitosis masing-masing berturut-turut adalah 59.37 %, 46, 43 %, dan 25 %.

Tabel 3. Hasil Pengamatan Frekuensi Mitosis Akar *A. cepa* L

Lokasi	I	P	M	A	T	IM (%)
Hulu	406.33 ± 17.98	538.67 ± 21.07	13.67 ± 6.01	12.33 ± 3.33	29.00 ± 1.53	59.37 ± 1.80
Tengah	535.67 ± 18.49	404.00 ± 16.46	10.33 ± 2.85	11.00 ± 7.00	39.00 ± 11.24	46.43± 1.85
Hilir	750.00 ± 72.48	225.00 ± 64.21	2.33 ± 0.88	1.67 ± 1.20	21.00 ± 6.24	25.00 ± 7.25

Keterangan :

- I : Jumlah sel yang mengalami interfase
P : Jumlah sel yang mengalami profase
M : Jumlah sel yang mengalami metafase
A : Jumlah sel yang mengalami anafase
T : Jumlah sel yang mengalami telofase
IM : Indeks mitosis

Indeks mitosis yang dikarakterisasikan oleh jumlah sel yang membelah telah banyak digunakan sebagai parameter untuk menilai tingkat sitotoksitas dari beberapa agen. Penurunan nilai indeks mitosis dapat mengindikasikan dampak dari bahan kimia pada pertumbuhan suatu organisme (Leme and Marin-Morales, 2009). Penurunan nilai indeks mitosis dapat terlihat dari bagian hulu sampai ke hilir sehingga terindikasi adanya bahan kimia yang dapat menghambat proses mitosis semakin mendekati daerah hilir.

Hasil tersebut kemudian dianalisis dengan ANAVA faktor tunggal. Hasil analisis menunjukkan bahwa perbedaan nyata tingkat sitotoksitas sampel air dari ketiga tempat. Kemudian hasil tersebut dilanjutkan dengan Uji Duncan dan hasilnya sebagai berikut.

Tabel 4. Tabel Hasil Uji Duncan

Bagian Sungai	Kelompok
Hulu	A
Tengah	A
Hilir	B

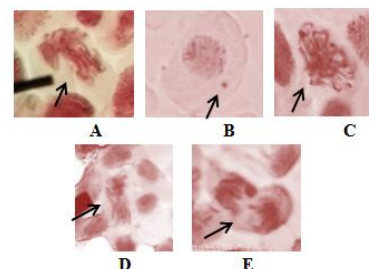
Tabel 5. Perbedaan yang Signifikan dari Perbandingan Antar Bagian Sungai

Bagian Sungai yang Dibandingkan	Berbeda Signifikan
Hulu-Hilir	Ya
Hulu-Tengah	Tidak
Tengah- Hilir	Ya

Setelah dilakukan uji Duncan diketahui bahwa penurunan indeks mitosis yang lebih signifikan terjadi pada daerah hilir dibandingkan daerah hulu dan tengah. Hal ini mengindikasikan bahwa zat-zat yang dapat menghambat proses mitosis terdapat di bagian hilir sungai.

Aberasi kromosom berguna sebagai deteksi genotoksitas dari agen toksik dan juga dapat

digunakan untuk uji klastogenik dan neugenik (Athanasio *et al.*, 2014). Berdasarkan hasil pengamatan telah didapatkan jenis-jenis aberasi kromosom pada hulu, tengah, dan hilir. Pada bagian hulu, aberasi kromosom yang terjadi adalah tipe *stickiness*. Pada bagian tengah, aberasi kromosom yang terjadi adalah tipe C-mitosis, *stickiness*, dan *spindel abnormalities*. Pada bagian hilir ditemukan *micronucleus*, *stickiness*, dan *bridge*. Berdasarkan hasil yang didapatkan, air bagian hilir terpantau lebih banyak sel yang mengalami aberasi kromosom yang terjadi dibanding yang lainnya. Gambar hasil aberasi kromosom yang didapat tersaji pada Gambar 4.



Gambar 4. Hasil Pengamatan Macam-macam Aberasi Kromosom. (a) *bridge* (P 1000x); (b) *micronucleus* (P 400x); (c) *stickiness* (P 1000x); (d) C-mitosis (P 400x); (e) *spindel abnormalities* (P 1000x)

Berdasarkan hasil dapat disimpulkan bahwa *A. cepa* L dapat digunakan sebagai bioindikator untuk memonitor perairan di wilayah Cagar Alam Pangandaran.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengamatan dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut.

1. Indeks mitosis pada sampel air hulu, air tengah, dan air hilir berturut-turut adalah sebesar 59.37 %, 46.43 %, dan 25 %.
2. Indeks mitosis tertinggi terdapat pada sampel air hulu dan terendah terdapat pada air hilir.

Ucapan Terima Kasih

Penulis ucapkan terima kasih kepada Balai Besar Konservasi Sumber Daya Alam (BBKSDA) Jawa Barat dan Resor Cagar Alam Pangandaran yang telah memberi izin untuk melakukan penelitian serta Departemen Biologi Universitas Padjadjaran yang telah menyelenggarakan Kuliah Kerja Lapangan 2016.

Daftar Pustaka

- Amin, A. W. 2002. Cytotoxicity testing of sewage water treatment using *A. cepa* chromosome aberration assay. *Pakistan Journal of Biological Science*. 5(2): 184-188
- Athanasio, C.G.; D. Pra; and A. Rieger. 2014. Water quality of urban streams: the *A. cepa* seeds/seedlings test as a tool for surface water monitoring. *The Scientific World Journal*. 2014: 1-7



- Chandraker, S.K.; P. Singh; and B. Pandey. 2014. Clastogenic effect of soft drink on root tip of *A. cepa*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 3(5): 200-206
- Depkes RI. 1990. *Peraturan Menteri Kesehatan RI No 416/Menkes/Per/IX/1990*. Jakarta.
- Düsman, E.; M. Luzzza; L. Savegnago; D. Lauxen; V.E.P. Vicentini; I.B. Tonial; and T.P. Sauer. 2014. *A. cepa* L. Athanaisoas a bioindicator to measure cytotoxicity of surface water of the Quatorze River, located in Francisco Beltrão, Paraná, Brazil. *Environmental Monitoring and Assessment*. 186:1793-1800
- Elrod, S. L. and W.D. Stansfield. 2007. *Genetika*. Erlangga. Jakarta
- Feretti, D.; I. Zerbini; C. Zani; E. Ceretti; and S. Monarca. 2007. *A. cepa* chromosome aberration and micronucleus tests applied to study genotoxicity of extracts from pesticide-treated vegetables and grapes. *Food Additive and Contaminant*. 24(6): 561-572
- Khanna, N. and S. Sherma. 2013. *A. cepa* root chromosomal aberration assay: a review. *Indian Journal of Pharmaceutical and Biological Research*. 1 (3): 105-119
- Leme D.M. and M. A. Marin-Morales. 2009. *A. cepa* test in environmental monitoring: a review on its application. *Mutation Research*. Vol. 682 (1): 71-81
- Noortingsih; I.S. Jalip; dan S. Handayani. 2008. Keanekaragaman makrozoobentos, meiofauna, dan foraminifera di Pantai Pasir Putih Barat dan Muara Sungai Cikamal, Pangandaran, Jawa Barat. *Vis Vitalis*. 1: 34-42
- Ping, K.Y.; I. Darah; U.K. Yusuf; C. Yeng; and S. Sasidharan. 2012. Genotoxicity of *Euphorbia hirta*: An *A. cepa* assay. *Molecules*. 17: 7782-7791
- Rindyastuti. R dan A.S. Darmayanti. 2010. *Komposisi Kimia dan Estimasi Proses Dekomposisi Serasah 3 Familia Fabaceae Di Kebun Raya Purwodadi*. Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi. Surabaya
- Tedesco, S.B. and H.D. Laughinghouse. 2012. Bioindicator of Genotoxicity: The *A. cepa* Test. Environmental Contamination. Intech Rijeka, Croatia. Available at: interchopen.com (diakses 18 Maret 2016)
- Winarno. 1986. *Air Untuk Industri Pangan*. Penerbit Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.