

Ikem sebagai 'Mentoring' ekspedisi.

HUBUNGAN ANTARA AKTIVITAS ASETIKOLINESTERASE SERUM DAN LESI PADA OTAK IKAN MAS YANG DIBERI DIAZINON DALAM AIR AKUARIUM

*Charles Rangga Tabbu**

ABSTRAK

*Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari hubungan antara aktivitas asetilkolinesterase (AKE) serum dan timbulnya lesi pada otak ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang diberi diazinon. Penelitian ini dilakukan pada 32 ekor ikan, yang dibagi menjadi 4 kelompok, masing-masing 8 ekor. Ikan-ikan dalam 3 kelompok diberi diazinon melalui air akuarium dengan dosis masing-masing 0,1 ppm, 0,5 ppm dan 1,5 ppm sedangkan satu kelompok lainnya sebagai kontrol tanpa diberi bahan uji. Contoh darah dari 4 ekor ikan pada setiap kelompok diambil pada hari ke-14 dan ke-28 setelah perlakuan, kemudian ikan dibunuh dan contoh jaringan otak diambil untuk pemeriksaan histopatologik.*

Analisis statistik dengan metode 2 x 4 factorial ANOVA menunjukkan bahwa aktivitas AKE pada kelompok ikan yang diberi diazinon 0,1 ppm, 0,5 ppm dan 1,5 ppm lebih rendah secara bermakna ($P < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok kontrol pada hari ke-14 ataupun ke-28 setelah perlakuan. Uji multiple comparison dengan Student Newman Keuls (SNK) tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok dosis pada setiap periode pemeriksaan. Secara histopatologik tidak ditemukan adanya lesi tertentu pada otak.

Hasil penelitian ini memberi petunjuk tentang mekanisme toksisitas diazinon pada ikan mas, dan mungkin juga pada ikan secara umum, yang meliputi hambatan pada AKE. Pemberian diazinon dosis rendah hanya menyebabkan penurunan aktivitas enzim tersebut tanpa disertai oleh lesi pada otak.

* Staf Pengajar Lab. Patologi FKH-UGM, Yogyakarta.

ABSTRACT

THE RELATIONSHIP BETWEEN THE ACTIVITY OF SERUM ACETYLCHOLIN-ESTERASE AND LESIONS IN THE BRAIN OF CARP GIVEN DIAZINON IN AQUARIUM WATER

*This experiment was designed to study the relationship between the activity of serum acetylcholinesterase (AChE) and lesions in the brain of carp (*Cyprinus carpio*) treated with diazinon through aquarium water. This experiment was done in 32 carps, which were divided into 4 groups, each of 8 fishes. Fish in 3 groups were given either 0,1 ppm, 0,5 ppm or 1,5 ppm of this compound whereas the remaining group as a control without treatment. Blood samples from 4 fishes of each group were taken at 14 or 28 days post treatment, after which fish were killed and their brain samples were collected for histopathologic evaluation.*

Statistical analysis of 2 x 4 factorial ANOVA indicated that the activity of AChE in group of fish given diazinon of 0,1 ppm, 0,5 ppm or 1,5 ppm was significantly lower ($P < 0,05$) than control at 14 days and 28 days after treatment. Student Newman Keuls (SNK) test did not demonstrate any significant difference between groups at each period of testing. Histopathologic evaluation did not reveal any lesion in the brain.

Results of this experiment suggest inhibition of AChE as the mechanism of diazinon induced only a decrease in the activity of this enzyme without lesion in the brain.

PENDAHULUAN

Dewasa ini para petani di berbagai daerah mempunyai kecenderungan untuk memelihara ikan sebagai usaha tambahan di samping mengerjakan sawahnya. Sumber air yang digunakan pada umumnya sama dengan yang dipakai untuk mengairi sawah, sehingga pencemaran air kolam dengan pestisida/insektisida dapat terjadi setelah penyemprotan pada tanaman. Di samping itu penggunaan pestisida yang tidak "tepat" dapat menyebabkan timbulnya keracunan pada organisme bukan sasaran, misalnya ternak, ikan, manusia ataupun sistim lingkungan di sekitar area penggunaan pestisida tertentu.

Diazinon adalah salah satu insektisida kelompok organofosfat (OP) yang sering dipakai untuk memberantas hama tanaman (Murphy, 1986). Substansi ini dapat diabsorpsi melalui saluran pernapasan, pencernaan, atau

pun kontak langsung melalui kulit (Arena, 1977). Metabolisme diazinon pada ikan mungkin terjadi di hepar dan ekskresi bahan tersebut mungkin melalui ginjal. Dugaan tersebut dapat dihubungkan dengan adanya lesi pada kedua organ tersebut setelah pemberian diazinon (Rangga Tabbu, 1992).

Keracunan insektisida golongan OP pada hakekatnya dapat dihubungkan dengan hambatan pada aktivitas enzim asetilkolinesterase (AKE) dan neurotoksisitas kronis (Kurtz et al., 1989). Pada mamalia dan serangga, hambatan pada aktivitas AKE merupakan dasar mekanisme keracunan akut insektisida golongan OP. Enzim tersebut berfungsi untuk menghidrolisa asetilkolin (AK) yang bertanggung jawab untuk transmisi impuls syaraf melalui sinapsis di dalam sistem syaraf perifer dan sistem syaraf pusat. Asetilkolin juga berfungsi dalam proses aktivasi otot skelet oleh neuron motoris dan aktivasi organ efektor tertentu oleh sistem syaraf otonom. Secara normal stimulasi reseptor pasca sinapsis yang dihasilkan oleh penggabungan dengan AK akan berhenti akibat hidrolisis AK oleh AKE. Sehubungan dengan adanya kemiripan struktur kimiawi antara AK dan substansi-substansi OP termasuk diazinon, maka AKE akan bergabung dengan insektisida tersebut (Murphy, 1986). Gabungan ini akan menghasilkan gugus ester yang relatif stabil dan selanjutnya akan menghambat AKE untuk mendeaktifkan substrat normalnya, yaitu AK. Akibatnya akan terjadi timbunan AK yang berlebihan di dalam jaringan syaraf dan organ-organ efektor yang selanjutnya akan menyebabkan timbulnya pengaruh muskarinik, nikotinik dan sistem syaraf pusat (Murphy, 1986), termasuk berbagai lesi pada otak. Pengaruh pada syaraf pusat meliputi berbagai efek pada sistem respirasi dan sirkulasi. Hambatan AKE pada sistem syaraf pusat akan mengakibatkan timbulnya gejala kebingungan, suara yang tidak jelas, gangguan koordinasi dan konvulsi. Efek neurotoksisitas kronis OP dapat menimbulkan degenerasi Wallerian pada akson dan mielin dari syaraf perifer. Efek neurotoksisitas ini tidak ditemukan pada semua jenis OP (Kurtz et al., 1989).

Lama gejala keracunan biasanya merupakan suatu fungsi dari waktu yang dibutuhkan untuk reaktivasi enzim AKE dan pada umumnya berbeda untuk berbagai jenis OP. Kontak dengan OP secara berulang ataupun terus menerus akan menyebabkan timbulnya toleransi (Kurtz et al., 1989). Walaupun efek toksik substansi ini pada berbagai jaringan ikan mas sudah dilaporkan (Rangga Tabbu, 1992), mekanisme keracunan bahan tersebut pada ikan mas ataupun ikan secara umum belum diketahui secara pasti.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari tentang kemungkinan adanya hambatan pada AKE di dalam serum ikan mas setelah pemberian dia-

zinon dan untuk mengetahui hubungan antara aktivitas enzim tersebut dan timbulnya lesi didalam otak. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran tentang mekanisme keracunan diazinon pada ikan mas dan dapat dijadikan bahan pertimbangan dalam diagnosis keracunan diazinon pada ikan.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini menggunakan ikan mas (*Cyprinus carpio*) sebanyak 32 ekor (jantan dan betina) ukuran 8-10 cm sebagai hewan percobaan, yang dibeli dari petani tambak di Yogyakarta. Ikan-ikan tersebut dipelihara dalam akuarium ukuran 40 x 26 x 28 cm³ dan diberi makanan ikan buatan P.T. Charoen Pokphan, Jakarta yang dibeli dari *Poultry shop* di Yogyakarta. Penelitian ini menggunakan sumber air yang berasal dari sumur tanpa proses penjernihan secara kimiawi.

Bahan uji yang digunakan adalah diazinon 60 EC buatan P.T. Petrokimia, Kayaku, Gresik, Jawa Timur yang dibeli dari toko penyalur obat-obatan dan alat pertanian di Yogyakarta.

Setelah adaptasi selama satu minggu, maka ikan-ikan tersebut dibagi secara acak ke dalam 4 kelompok (A, B, C dan D), masing-masing 8 ekor per kelompok. Kelompok A, B, dan C diberi diazinon yang dicampurkan ke dalam air akuarium masing-masing sebesar 0,1 ppm, 0,5 ppm dan 1,5 ppm sedangkan kelompok D bertindak sebagai kontrol (tidak diberi diazinon). Air akuarium yang mengandung diazinon diganti secara periodik dengan larutan yang sama setiap 24 jam. Makanan ikan diberikan secara *ad libitum*.

Pada hari ke-14 dan ke-28 setelah perlakuan, 4 ekor dari setiap kelompok diambil darahnya secara intrakardial untuk pemeriksaan aktivitas AKE serum menggunakan *spectrophotometer* (Perkin-Elmer, Coleman 44, USA). Setelah pengambilan contoh darah, semua ikan dibunuh dengan cara dekapitasi kemudian dinekropsi untuk pemeriksaan patologik (makroskopik dan mikroskopik). Contoh jaringan otak dari setiap ikan diambil dan dimasukkan kedalam formalin 10% untuk selanjutnya diproses sesuai dengan metode pewarnaan hematoksilin dan eosin (H & E) yang lazim dikerjakan di laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada.

Data tentang aktivitas AKE serum dari masing-masing ikan dikumpulkan dan selanjutnya dianalisis dengan metode 2 x 4 *factorial ANOVA* (*completely random design*); kemudian diuji untuk *multiple comparison* menggunakan uji Student Newman Keuls (SNK) dengan $P < 0,05$ (Steel and Torrie, 1980). Perubahan patologik pada otak dianalisis secara kualitatif/deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gejala Klinik

Selama penelitian ini berlangsung, ikan-ikan pada kelompok yang diberi diazinon tidak menunjukkan suatu gejala tertentu sehubungan dengan adanya efek toksik dari bahan tersebut. Hal ini mungkin disebabkan oleh karena dosis diazinon yang dipakai pada penelitian ini masih rendah sehingga belum menimbulkan gejala keracunan yang spesifik (Rangga Tabbu, 1992).

Pemeriksaan Patologik

Hasil pemeriksaan makroskopik maupun mikroskopik pada otak ikan-ikan percobaan dari semua kelompok tidak menunjukkan adanya perubahan tertentu. Hal ini dapat dihubungkan dengan dosis diazinon yang digunakan pada penelitian ini, yang masih dibawah dosis terendah yang dapat menimbulkan kerusakan pada otak (Rangga Tabbu, 1992).

Pemeriksaan Aktivitas Asetilkolinesterase Serum

Hasil pemeriksaan aktivitas AKE serum menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($P < 0,05$) antara kelompok yang diberi diazinon dosis 0,1 ppm, 0,5 ppm dan 1,5 ppm dibandingkan dengan kelompok kontrol pada hari ke-14 ataupun hari ke-28 setelah perlakuan (lihat Tabel 1). Penurunan aktivitas AKE pada kelompok ikan yang diberi diazinon dapat dihubungkan dengan efek toksik bahan tersebut. Keadaan ini sesuai dengan mekanisme toksisitas senyawa OP pada mamalia dan serangga yang telah dilaporkan sebelumnya (Kurtz et al., 1989). Sebaliknya mekanisme serupa belum dilaporkan pada ikan.

Selama penelitian ini berlangsung, gejala klinik maupun lesi pada otak belum terlihat; hal ini memberi petunjuk bahwa ketiga macam dosis

diazinon yang digunakan hanya menimbulkan penurunan aktivitas AKE serum saja dan belum menyebabkan lesi pada otak ataupun gejala klinik tertentu. Di samping itu penurunan aktivitas enzim ini dapat diamati pada semua kelompok ikan percobaan, termasuk kelompok yang diberi diazinon dosis rendah (0,1 ppm).

Tabel 1. Aktivitas Asetilkolinesterase Serum Ikan Percobaan yang Diberi Diazinon Setelah Hari ke-14 dan ke-28.

Kelompok	Dosis (ppm)	N	Aktivitas Asetilkolinesterase (kU/l)*	
			Hari ke-14	Hari ke-28
A	0,1	4	0,165 ± 0,013**	0,253 ± 0,044***
B	0,5	4	0,197 ± 0,032**	0,171 ± 0,033***
C	1,5	4	0,171 ± 0,011**	0,202 ± 0,031***
D	Kontrol	4	0,752 ± 0,104**	0,988 ± 0,032***

* Data disajikan dalam bentuk $X \pm S.E.$

** Signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol ($P < 0,05$) pada hari ke-14 setelah perlakuan.

*** Signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol ($P < 0,05$) pada hari ke-28 setelah perlakuan.

Temuan-temuan ini memberi petunjuk bahwa diagnosis keracunan diazinon yang awal pada ikan dapat dilakukan berdasarkan evaluasi pada aktivitas AKE serum.

Penurunan aktivitas AKE masih terlihat sampai hari ke-28 setelah perlakuan walaupun pada periode tersebut mulai terjadi peningkatan aktivitas enzim tersebut pada kelompok ikan yang diberi diazinon dosis 0,1 ppm dan 0,5 ppm (lihat Tabel 1.). Hal ini mungkin dapat dihubungkan dengan proses awal reaktivasi AKE di dalam tubuh ikan (Kurtz *et al.*, 1989), disamping kemungkinan timbulnya toleransi yang dihasilkan oleh kontak dengan diazinon secara terus menerus pada suatu periode tertentu (Kurtz *et al.*, 1989).

Berdasarkan atas hasil penelitian ini, maka dapatlah disimpulkan bahwa penurunan aktivitas AKE memberi petunjuk tentang mekanisme keracunan diazinon (salah satu senyawa OP) pada ikan mas dan mungkin pula pada ikan secara umum. Disamping itu, evaluasi aktivitas AKE dapat diper-

timbangkan sebagai salah satu cara diagnosis dini keracunan diazinon/ senyawa OP pada ikan mas dan mungkin pula pada ikan secara umum.

Mengingat bahwa diazinon dosis rendah (0,1 ppm) telah mampu menimbulkan hambatan pada AKE serum, yang merupakan suatu indikasi awal keracunan bahan tersebut, maka penggunaan air yang tercemar dengan diazinon untuk keperluan kolam/tambak ikan hendaklah dihindari.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, atas pemberian biaya melalui Dana Penunjang Pendidikan tahun 1992/1993.

DAFTAR PUSTAKA

- Arena, MD. 1977. *Poisoning, Toxicology-Symptoms-Treatment*. Edisi 3. Springfield, Illinois, USA: Charles C. Thomas. Hal. 112.
- Garner, RJ. 1961. *Veterinary Toxicology*. Edisi 2. London, UK: Balliere Tindal and Co. Hal. 245-247.
- Kurtz, PJ, Deskin, R, dan Harrington, RM. 1989. *Pesticides*. Dalam: *Principles and Methods of Toxicology*. Edisi 2. AW Hayes, editor. New York, USA: Raven Press. Hal. 137-167.
- Menzer, RE, dan Nelson, JO. 1986. *Water and soil pollutants*. Dalam: *Casarett and Doull's Toxicology*. Edisi 3. CD Klaassen, et al., editor. New York, Toronto, London: Macmillan Publ. Co. Hal. 825-853.
- Murphy, SD. 1986. *Toxic effects of pesticides*. Dalam: *Casarett and Doull's Toxicology*. Edisi 3. CD Klaassen et al., editor. New York, Toronto, London: Macmillan Publ. Co. Hal. 519-581.
- Radeleff, RD. 1970. *Veterinary Toxicology*. Edisi 2. Philadelphia, USA: Lea and Febiger. Hal. 209-210; 220-221.
- Rangga Tabbu, C. 1992. *Pengaruh diazinon dalam air akuarium terhadap ikan mas*. Laporan Penelitian Proyek Operasi Dan Perawatan Fasilitas Universitas Gadjah Mada, Fakultas Kedokteran Hewan UGM. Hal. 1-18.
- Steel, RGD, dan Torrie, JH. 1980. *Principles and Procedures of Statistics*. Edisi 2. New York, USA: McGraw-Hill Book Company. Hal. 137-194.

(WA)

