

PENGARUH PEMBERIAN DIAZINON 60 EC PER ORAL TERHADAP AKTIVITAS ENZIM KOLINESTERASE PLASMA DARAH TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus* L.)

Dewi K. Paramita dan Sukarti Moeljopawiro*

INTISARI

Paramita, D.K. dan S. Moeljopawiro. 1997. Pengaruh Pemberian Diazinon 60 EC per Oral terhadap Aktivitas Enzim Kolinesterase Plasma Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.). *Biologi*, 2 (3) : 115-128.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian diazinon pada tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) terhadap aktivitas enzim kolinesterase plasma darah. Penelitian ini dibagi dalam tiga tahap dan menggunakan 88 ekor tikus jantan. Tahap pertama menggunakan 58 ekor untuk uji orientasi yang bertujuan untuk mengetahui apakah kisaran LD₅₀ yang telah didapatkan pada penelitian sebelumnya dapat diterapkan pada uji pendahuluan. Tahap kedua uji pendahuluan yang bertujuan untuk menentukan dosis perlakuan pada uji perlakuan dan ketiga tahap perlakuan. Pada uji perlakuan digunakan 30 ekor tikus jantan yang dibagi menjadi 6 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Kelompok A sebagai kelompok kontrol, tidak diberi perlakuan. Kelompok B diberi aquades sebanyak 2 ml. Kelompok C, D, E, F, masing-masing diberi perlakuan diazinon dengan dosis 150 mg/kg bb, 200 mg/kg bb, 250 mg/kg bb, dan 300 mg/kg bb. Setelah diberi perlakuan, setiap jam selama 5 jam pertama aktivitas enzim kolinesterase diperiksa. Aktivitas enzim kolinesterase diperiksa dengan metode *S-Butyrylthiocholine iodide*.

Hasil yang diperoleh dianalisis dengan analisis varian faktor A (perlakuan) mixed B (waktu setelah perlakuan), dan dilanjutkan dengan uji LSD dengan taraf kepercayaan 95%.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa diazinon dapat menghambat aktivitas enzim kolinesterase plasma. Pemberian diazinon mulai dosis 150 mg/kg bb sampai dengan 300 mg/kg bb dengan interval kenaikan 50 mg/kg bb tidak menunjukkan beda nyata. Penghambatan enzim maksimal terjadi pada jam pertama setelah pemberian diazinon pada semua kelompok (C, D, E, dan F) yaitu masing-masing sebesar 56,80%, 54,15%, 58,50%, dan 60,00%. Dengan ini dapat dikatakan bahwa diazinon mulai dosis 150 mg/kg bb telah dapat menghambat aktivitas enzim kolinesterase plasma.

Kata kunci : toksikologi, diazinon, aktifitas enzim, kolinesterase

*Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

ABSTRACT

Paramita, D.K. and S. Moeljopawiro. 1997. The effect of Diazinon 60 EC given per oral to the activity of enzyme cholinesterase in blood plasma of rat (*Rattus norvegicus* L.). *Biologi* 2 (3) : 115-128.

The effect of Diazinon 60 EC to the activity of enzyme cholinesterase in blood plasma of rat has been studied.

Eighty eight male rats (*Rattus norvegicus* L.) were used in these studies, 58 were used in the first step for determining the amount of the diazinon needed on the treatment, followed by step of the treatment using 30 rats. Thirty rats were divided into 6 groups of 5. The first group used as a control without any treatment. The 2nd, 3rd, 4th, 5th and 6th group were given 2 ml of distilled water, 150 mg, 200 mg, 250 mg and 300 mg diazinon/kg body weight, per day respectively.

The activity of enzymes were measured every hour at the first 5 hour after treatment, using *S-Butyrylthiocholine iodide* method.

It was found that diazinon 60 EC inhibit the activity of enzyme cholinesterase in the blood plasma of rat. Treatment with Diazinon at many different levels showed that the degree of inhibition did not significantly different.

At all levels the highest degree of inhibition is at the first hour after treatment 56,8% at 150 mg diazinon/kg B.W. to 60% at 300 mg/kg B.W.

It can be concluded that as low as 150 mg diazinon/kg B.W. per day given per oral significantly inhibit the activity of enzyme cholinesterase in blood plasma of rat.

Key words : toxicology, diazinon, enzyme activity, cholinesterase

PENDAHULUAN

Di negara-negara yang telah maju maupun yang sedang berkembang termasuk Indonesia, penggunaan pestisida semakin meningkat dari tahun ke tahun dan telah terbukti berhasil meningkatkan produksi pertanian.

Pestisida merupakan alat bantu yang sangat penting dalam meningkatkan produksi pertanian. Kerugian dunia akibat jasad pengganggu diperkirakan men-

capai US\$100 milyar setiap tahunnya. Namun demikian penggunaan pestisida yang sangat berlebihan dan terus menerus akan menimbulkan pengaruh-pengaruh sampingan yang bersifat negatif, baik terhadap manusia penggunaannya, hewan-hewan maupun lingkungan.

Insektisida yang paling banyak digunakan saat ini adalah dari golongan organofosfat. Se-

nyawa organofosfat mempunyai sifat tidak stabil, sehingga dari segi lingkungan lebih menguntungkan dibanding senyawa organoklorin, karena senyawa ini tidak persisten di tanah dan tidak menumpuk pada timbunan lemak pada tingkatan yang sama (Hayes, 1989). Akan tetapi senyawa ini mempunyai sifat lebih toksik terhadap mamalia dibanding senyawa organoklorin. Senyawa organofosfat meracuni pemakainya baik melalui kulit, oral, ataupun pernafasan (Sastroutomo, 1992). Senyawa organofosfat ini mempengaruhi sistem saraf dan mempunyai cara kerja menghambat fungsi enzim kolinesterase. Menurut Suprijanto (1989) dari 268 kasus keracunan yang terjadi selama tahun 1982, sebanyak 62,3% adalah keracunan akut karena insektisida penghambat aktivitas enzim kolinesterase.

Diazinon merupakan salah satu insektisida dari golongan senyawa organofosfat turunan heterosiklik. Jenis insektisida ini biasanya digunakan untuk membasmi serangga-serangga di daun dan di dalam tanah. Di Indonesia insektisida ini diperdagangkan dengan nama Nilvar, Basudin, Brantasan, Mibas dan Neocidol.

Aktivitas biologik senyawa organofosfat terletak pada potensial atom P, yaitu inti yang berperan aktif dalam proses fosforilasi enzim kolinesterase (ChE). Dalam keadaan terfosforilasi enzim ini tidak dapat melakukan fungsinya (Garner, 1961). Dalam keadaan non aktif kolinesterase tidak dapat mengubah asetilkolin menjadi asetil dan kolin (Cassaret & Doull, 1975).

Ikatan P=O pada senyawa organofosfat mempunyai daya tarik yang sangat kuat terhadap gugus-hidroksil dari enzim kolinesterase, sehingga enzim tidak akan terikat dan aktivitasnya akan terhambat (Sastroutomo, 1992).

Enzim kolinesterase berfungsi menghidrolisis asetilkolin. Aktivitas asetilkolin dalam tubuh diatur oleh asetilkolinesterase. Asetilkolin sendiri merupakan perantara kimia parasimpatis dan aktivitas tertentu jenis lain dalam sistem saraf.

Asetilkolin dibuat di dalam badan sel saraf dan diangkut dalam vesikel-vesikel melalui akson menuju sinapsis, kemudian disimpan dan diikat membran sinaptik. Jika ada stimulus pada sel saraf dan mencapai akhiran akson, asetilkolin akan dilepaskan ke

dalam celah sinaptik dan selanjutnya akan berdifusi (Orten *et al.*, 1982; Subowo, 1993).

Kolinesterase menghidrolisis asetilkolin setelah asetilkolin ini membentuk kompleks dengan reseptor subsinaptik (Wilson, 1979). Asetilkolin berikatan dengan enzim kolinesterase pada dua pusat katalitik yang terdiri dari sisi anionik yang bermuatan negatif dan sisi esteratik (Strand, 1983).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian Diazinon pada tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) terhadap aktivitas enzim kolinesterase plasma darah.

BAHAN DAN CARA KERJA

Hewan uji yang digunakan dalam percobaan ini adalah tikus putih *Rattus norvegicus* L. jantan dewasa, berumur kira-kira 2 bulan, sebanyak 88 ekor. Hewan-hewan ini dibedakan untuk uji orientasi sebanyak 8 ekor, untuk uji pendahuluan sebanyak 50 ekor, dan untuk uji perlakuan sebanyak 30 ekor. Sedangkan pestisida yang digunakan adalah Diazinon 60 EC dalam kemasan 100 ml yang diproduksi oleh P.T.

Petro Kimia Gresik diperoleh dari U.D. Tani Maju Jl. Magelang Yogyakarta.

Cara Kerja

Penyesuaian kondisi laboratorium atau aklimasi terhadap tikus putih dilaksanakan selama 7-9 hari. Selama aklimasi, tikus putih diberi makanan standar UPHP yaitu pelet kering. Makanan dan minuman diberikan dua kali sehari.

Uji orientasi bertujuan untuk mengetahui apakah kisaran LD₅₀ yang telah didapatkan pada penelitian sebelumnya dapat diterapkan dalam uji pendahuluan. Dasar pemberian dosis adalah LD₅₀ menurut Natawigena (1985) yaitu antara 88-130 mg/kg berat badan. Dosis perlakuan pada uji orientasi diberikan lebih kecil dan lebih besar dari kisaran tersebut. Delapan ekor tikus jantan dibagi menjadi 4 kelompok, 2 ekor tiap kelompok. Dosis yang diberikan pada kelompok I, II, III dan IV masing-masing 50 mg, 150 mg, 250 mg dan 300 mg/kg berat badan.

Pengamatan dilakukan dua puluh empat jam setelah perlakuan, ternyata tikus yang mati hanya 1 ekor yaitu pada kelompok IV.

Uji Pendahuluan

Dari hasil uji orientasi dilakukan uji pendahuluan untuk mengetahui dan menentukan dosis perlakuan pada uji perlakuan.

Lima puluh ekor tikus putih jantan dibagi menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 10 ekor. Dosis 150 mg/kg berat badan diambil sebagai dosis terendah dalam uji pendahuluan ini dengan alasan karena gejala keracunan mulai tampak pada tikus yang diberi perlakuan dengan dosis 200 mg/kg berat badan.

- Kelompok I diberi larutan Diazinon dengan dosis 150 mg/kg berat badan
- Kelompok II diberi larutan Diazinon dengan dosis 200 mg/kg berat badan
- Kelompok III diberi larutan Diazinon dengan dosis 250 mg/kg berat badan
- Kelompok IV diberi larutan Diazinon dengan dosis 300 mg/kg berat badan
- Kelompok V diberi larutan Diazinon dengan dosis 350 mg/kg berat badan

Tikus-tikus ini diamati pada jam ke-24 setelah perlakuan. Dari

uji ini didapatkan tikus yang mati hanya pada kelompok V yaitu dengan dosis perlakuan 350 mg/kg berat badan, yaitu sebanyak 4 ekor.

Uji Perlakuan

Dosis terbesar yang belum menyebabkan kematian sampai pada hari terakhir pada uji pendahuluan selanjutnya dijadikan dosis eksperimental maksimum dalam uji perlakuan.

Tiga puluh ekor tikus jantan dibagi menjadi 6 kelompok, dan masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus (sebagai ulangan). Setiap kelompok diberi perlakuan dengan berbagai tingkat konsentrasi Diazinon LD₅₀ 24 jam, dan satu kelompok kontrol (tidak diberi perlakuan) serta satu kelompok diberi perlakuan dengan aquades. Dosis tertinggi yang belum menyebabkan kematian pada uji pendahuluan adalah 300 mg/kg berat badan, selanjutnya dosis ini dijadikan dosis maksimal dalam percobaan yang sebenarnya. Pemberian larutan Diazinon dilakukan per oral menggunakan spuit dengan kanul tumpul.

- Kelompok A sebagai kelompok kontrol, tidak diberi perlakuan
- Kelompok B diberi perlakuan dengan akuades
- Kelompok C diberi larutan Diazinon dengan dosis 150 mg/kg berat badan
- Kelompok D diberi larutan Diazinon dengan dosis 200 mg/kg berat badan
- Kelompok E diberi larutan Diazinon dengan dosis 250 mg/kg berat badan
- Kelompok F diberi larutan Diazinon dengan dosis 300 mg/kg berat badan

Pengambilan sampel darah untuk pemeriksaan aktivitas kolinesterase dilakukan pada jam ke 1; 2; 3; 4 dan ke 5 setelah perlakuan. Sampel darah diambil dari mata dengan menggunakan tabung haematokrit dan dimasukkan ke dalam tabung kecil yang telah diberi anti koagulan (heparin). Sehari sebelum perlakuan tikus dipuaskan agar larutan Diazinon dapat diabsorpsi dengan efektif.

Sebelum diberi perlakuan, aktivitas enzim kolinesterase plasma darah tikus tersebut diperiksa.

Pemeriksaan Aktivitas Enzim Kolinesterase

Aktivitas kolinesterase diperiksa dengan menggunakan metode *S-Butyrylthiocholine iodide* dari Merckotest katalog no. 12131.

Pengukuran Aktivitas Enzim Kolinesterase

Larutan pereaksi disiapkan dengan melarutkan isi satu botol campuran reagensia dengan 3 ml diluent. Larutan ini dapat digunakan selama 2 jam pada suhu 15 sampai 25°C.

Reagensia dihangatkan hingga suhu 30°C, sementara itu sampel diencerkan dengan perbandingan 1:1. Sampel sebanyak 10µl diambil dengan pipet endorf, dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dengan diameter 1 cm. Kemudian larutan pereaksi sebanyak 1000µl ditambahkan, dicampur dengan segera dan setelah kira-kira 1 menit, kenaikan absorbansi setiap menit diukur selama 3 menit dengan menggunakan spektrofotometer (*Jenwey Ltd., Felsted Dunmow Essex England*) dengan panjang gelombang 405 nm, diameter kuvet 1 cm, dengan suhu ukurnya 30°C.

Angka hasil pengamatan dicatat, dan aktivitas enzim dihitung dengan rumus :

$$\text{Aktivitas enzim} = \frac{(\Delta A / \text{menit}) \times 15,2}{k\mu/l}$$

Analisis Statistik

Data yang diperoleh dihitung dengan analisis variansi faktor A (perlakuan) v.s. B (waktu setelah perlakuan) untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antar perlakuan, kemudian untuk mencari letak perbedaannya dilanjutkan dengan uji LSD dengan taraf kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pada uji orientasi memperlihatkan bahwa kisaran LD₅₀ yang diteliti oleh Natawigena (1985) yaitu antara 88-130 mg/kg bb belum menyebabkan kematian.

Dalam penelitian ini diazinon diberikan kepada tikus per oral. Jalur oral merupakan jalur yang paling lazim untuk masuknya zat kimia ke dalam tubuh. Hal ini juga dilakukan karena LD₅₀ yang digunakan sebagai dasar pemberian dosis adalah nilai LD₅₀ diazinon terhadap tikus per oral.

Selain itu menurut Sastroutomo (1992), secara umum penelanan pestisida lebih toksik jika dibanding dengan melalui pernafasan atau melalui kulit, sehingga akibat keracunan senyawa ini dapat segera diamati. Lagi pula pemberian per oral lebih mudah dikontrol.

Zat kimia yang ada di saluran cerna dapat menimbulkan efek hanya pada permukaan sel mukosa yang melapisi saluran tersebut, kecuali terjadi absorpsi dari saluran cerna. Sebagian besar zat kimia yang diberikan per oral hanya akan dapat memberikan efek sistemik pada organisme setelah terjadi absorpsi dari oral atau saluran cerna tersebut (Loomis, 1978).

Aktivitas Enzim Kolinesterase Setelah Pemberian Diazinon

Aktivitas enzim kolinesterase setelah pemberian diazinon dalam berbagai konsentrasi disajikan dalam Tabel 1.

Pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa baik pada kelompok A (kontrol) maupun pada kelompok B (dengan pemberian aquades) tidak terdapat beda yang nyata pada setiap jam setelah perlakuan.

Tabel 1. Aktivitas enzim kolinesterase setelah pemberian diazinon pada berbagai konsentrasi

| Klp | Dosis Diazinon (mg/kg bb) | Aktivitas Enzim pada Jam Ke: ($\mu/ml \times 10^{-2}$) | | | | | |
|-----|---------------------------|--|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | | Sblm prlk | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| A | 0 | 13,38 ^a | 13,38 ^a | 13,68 ^a | 18,24 ^a | 17,94 ^a | 19,15 ^a |
| B | 0 + 2 ml aquades | 13,07 ^a | 12,46 ^a | 17,02 ^a | 16,72 ^a | 16,11 ^a | 17,72 ^a |
| C | 150 | 13,38 ^a | 5,78 ^b | 10,94 ^b | 12,46 ^b | 11,55 ^b | 11,24 ^b |
| D | 200 | 14,59 ^a | 6,69 ^b | 9,12 ^b | 9,24 ^b | 11,86 ^b | 13,68 ^b |
| E | 250 | 12,16 ^a | 5,47 ^b | 10,34 ^b | 9,12 ^b | 10,34 ^b | 10,94 ^b |
| F | 300 | 15,20 ^a | 6,08 ^b | 9,42 ^b | 9,12 ^b | 12,16 ^b | 14,59 ^b |

N : 5
Angka yang diikuti huruf yang sama pada setiap kolom tidak berbeda nyata ($p \leq 0,05$)

Sedangkan aktivitas enzim kolinesterase pada masing-masing kelompok, C, D, E, F pada jam ke 1, 2, 3, 4, maupun pada jam ke 5 jauh lebih kecil dibandingkan kelompok A. Hal ini membuktikan bahwa pemberian diazinon berpengaruh menurunkan aktivitas enzim kolinesterase plasma. Menurut Wijaya (1995) diazinon sebagai salah satu senyawa organofosfat mempunyai kerja fisiologis menghambat aktivitas enzim kolinesterase.

Senyawa organofosfat dapat menyerang enzim tersebut karena strukturnya mirip dengan asetilkolin yang merupakan substrat alami. Seperti telah diketahui bahwa fungsi enzim kolinesterase adalah menghidrolisis asetilkolin menjadi asam asetat dan kolin. Asetilkolin sendiri merupakan transmitter atau penghantar kimia yang sangat penting, yaitu ber-

fungsi sebagai pembawa sinyal melewati sambungan yang sangat kecil yang berada di antara akhiran akson dan sel saraf berikutnya. Sambungan ini dinamakan sinapsis. Sinapsis ini juga dapat berada di antara sel saraf yang terakhir dengan sel efektor yaitu otot.

Pada penelitian ini aktivitas enzim pada kelompok C, D, E, F tidak menunjukkan adanya beda yang nyata. Meskipun terdapat perbedaan nilai dalam hal aktivitas enzimnya, hal ini dapat saja terjadi kemungkinan karena adanya variasi biologi yaitu adanya variasi dalam respons terhadap zat kimia di antara spesimen-spesimen uji biologi di dalam satu species tertentu (Loomis, 1978). Menurut Wijaya (1995) variasi individual dalam aktivitas enzim kolinesterase mencapai kira-kira 50% dari nilai rata-rata kelompok.

Dengan ini dapat dikatakan bahwa penambahan konsentrasi dengan skala 50 mg/kg bb mulai dari 150 mg/kg bb sampai dengan 300 mg/kg bb tidak memberikan pengaruh yang berarti. Menurut Sastroutomo (1992) selain toksisitas, dosis dan konsentrasi terdapat dua faktor lain yang mempengaruhi sifat racun pestisida yaitu lamanya terkena pestisida dan cara pestisida masuk ke dalam tubuh.

Terjadinya penurunan aktivitas enzim setelah pemberian Dia-

Perubahan aktivitas enzim kolinesterase tiap jam mulai jam ke 1 sampai dengan jam ke 5 pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada Tabel 2. Pengaruh diazinon pada jam ke 5 sudah jauh lebih kecil daripada jam ke 2 dan 3, pada jam ke 4 mulai terjadi penurunan dan saat ini adalah perbatasan antara kisaran aktivitas enzim pada jam ke 2 dan 3 dengan jam ke 5.

Gambar 1 juga memperlihatkan bahwa aktivitas enzim terendah pada masing-masing

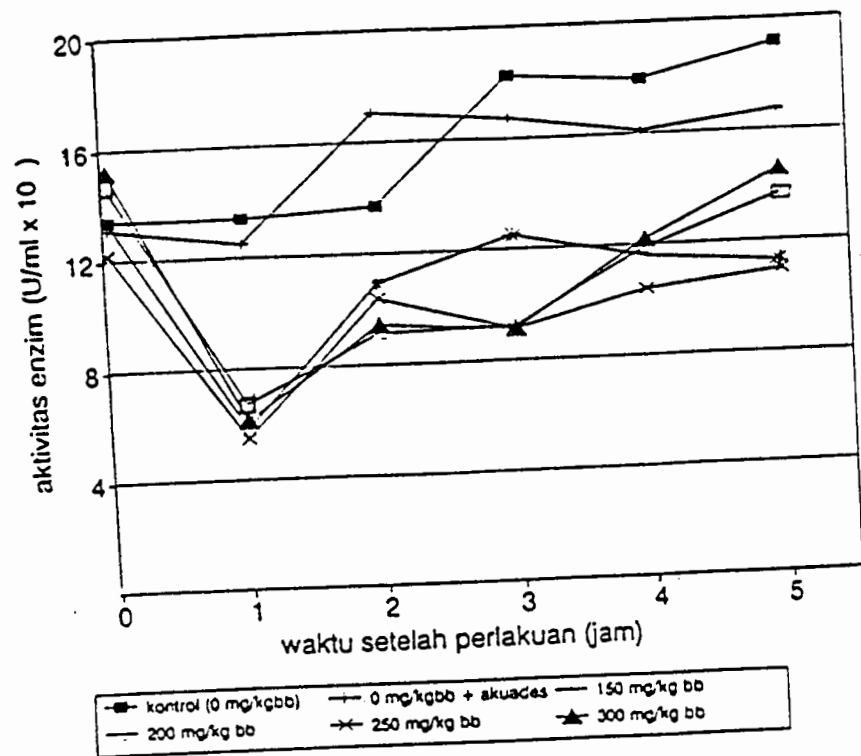
Tabel 2. Aktivitas enzim kolinesterase pada jam ke 1 sampai dengan jam ke 5 setelah pemberian diazinon

| Waktu setelah perlakuan (jam) | Aktivitas Enzim ($\mu/ml \times 10^{-2}$) | | | | | |
|-------------------------------|---|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | Dosis pemberian diazinon (mg/kg bb) | | | | | |
| | 0 A | 0 + aquades B | 150 C | 200 D | 250 E | 300 F |
| 1 | 13,38 ^a | 12,46 ^a | 5,78 ^a | 6,69 ^a | 5,47 ^a | 6,08 ^a |
| 2 | 13,68 ^b | 17,02 ^b | 10,94 ^b | 9,12 ^b | 10,34 ^b | 9,42 ^b |
| 3 | 18,42 ^b | 16,72 ^b | 12,46 ^b | 9,24 ^b | 9,12 ^b | 9,12 ^b |
| 4 | 17,94 ^{bc} | 16,11 ^{bc} | 11,55 ^{bc} | 11,86 ^{bc} | 10,34 ^{bc} | 12,16 ^{bc} |
| 5 | 19,15 ^c | 16,72 ^c | 11,24 ^c | 13,68 ^c | 10,94 ^c | 14,59 ^c |

N : 5
Angka yang diikuti huruf yang sama pada setiap kolom tidak berbeda nyata ($p \leq 0,05$)

zinnon, dikarenakan enzim yang terfosforilasi masih dapat terhidrolisis tetapi sangat lambat sehingga enzim tidak mampu menghadapi ledakan pembebasan asetilkolin secara efisien ke sinapsis sebagai hasil aktivitas saraf normal (Reiner, 1971 dalam Corbett, 1984).

kelompok perlakuan terjadi pada jam ke 1, dan aktivitas enzim terendah pada saat ini terjadi pada kelompok E yaitu pada kelompok perlakuan dengan dosis pemberian diazinon 250 mg/kg bb. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Isnaeni (1992) yang



Gambar 1. Aktivitas enzim kolinesterase setelah pemberian diazinon

menyatakan bahwa penghambatan maksimal terjadi pada menit ke 15 sampai dengan menit ke 75 setelah pemberian diazinon secara oral.

Perhitungan lebih lanjut dilakukan untuk mengetahui apakah terjadi interaksi antara perlakuan pemberian diazinon dengan lama waktu perlakuan yang ditunjukkan dengan pengamatan tiap jam. Hasil dari

perhitungan ini disajikan dalam Tabel 3. Dari tabel tersebut dapat dilihat bahwa probabilitas hitung lebih besar dari pada 0,05 berarti tidak ada interaksi di antara keduanya.

Penghambatan Aktivitas Enzim Kolinesterase oleh Diazinon

Besarnya penghambatan aktivitas enzim kolinesterase disajikan dalam Tabel 4.

Tabel 3. Analisis variansi faktor A (perlakuan) v.s. B (waktu) aktivitas enzim kolinesterase plasma darah setelah pemberian diazinon

| Source | df | Sum of square | Mean square | P Value | Pr > F |
|----------------------|-----|---------------|-------------|---------|--------|
| Perlakuan | 5 | 0.12882790 | 0.02576558 | 12.90 | 0.0001 |
| Ulangan (perlakuan) | 24 | 0,04792694 | 0.00199696 | | |
| Waktu | 4 | 0,06648715 | 0.01662179 | 17.33 | 0.0001 |
| Perlakuan v.s. waktu | 20 | 0.01748203 | 0.00087410 | 0.91 | 0.5741 |
| Error | 96 | 0.09208330 | 0.00095920 | | |
| Corrected total | 149 | 0,35807320 | | | |

Tabel 4. Penghambatan aktivitas enzim kolinesterase

| Klp | Dosis Diazinon (mg/kg bb) | Penghambatan Enzim pada Jam ke : (%) | | | | |
|-----|---------------------------|--------------------------------------|-------|-------|-------|-------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| C | 150 | 56,80 | 18,23 | 6,88 | 13,68 | 15,99 |
| D | 200 | 54,15 | 37,49 | 36,67 | 18,71 | 6,24 |
| E | 250 | 58,50 | 20,89 | 30,22 | 20,89 | 16,30 |
| F | 300 | 60,00 | 38,03 | 40,00 | 20,00 | 4,01 |

Penghambatan enzim kolinesterase paling besar terjadi pada jam ke 1 pada dosis pemberian diazinon 300 mg/kg bb yaitu sebesar 60%, artinya bahwa waktu satu jam merupakan waktu yang diperlukan oleh diazinon untuk menimbulkan hambatan paling besar terhadap aktivitas enzim kolinesterase plasma. Hal ini berarti bahwa 1 jam setelah pemberian diazinon dengan dosis sebesar 300 mg/kg bb, jumlah kolinesterase plasma yang diikat oleh diazinon (kolinesterase yang terfosforilasi) adalah paling besar yaitu 60% sehingga aktivitas

kolinesterase plasma pada saat itu kurang lebih hanya 40% dari keadaan yang normal yaitu antara 0,1183-0,2475 U/ml (Isnaeni, 1992). Kolinesterase yang terfosforolasi demikian itu tidak dapat menjalankan fungsinya secara normal dalam menghidrolisis asetilkolin menjadi asam asetat dan kolin, sehingga akan mengakibatkan terganggunya proses penalaran impuls.

Ternyata pada semua kelompok, penghambatan juga terjadi pada jam ke 1 setelah pemberian diazinon yaitu antara 54,15%-60%. Pada jam ke 2 penghambatan

enzim mengalami penurunan, kemudian pada jam ke 3 pada kelompok E dan F penghambatannya naik lagi dan berangsur-angsur turun pada jam ke 4 dan 5 hampir pada semua kelompok. Pada kasus ini karena pemberian zat hanya terjadi satu kali, dengan demikian mula-mula efek itu terlihat sangat besar dan besarnya penghambatan tergantung pada laju absorpsi, kemudian akan turun tergantung pada laju eliminasi (Ariens, 1993).

Respons biologi dapat kembali normal bila kadar zat kimia dalam hewan berangsur-angsur hilang. Jika senyawa diberikan kepada organisme hanya satu kali maka lambat laun organisme itu akan menghilangkannya (Loomis, 1978).

Hilang atau tidaknya zat kimia dalam tubuh hewan disebabkan ada 3 efek. Ketiga efek tersebut adalah efek yang segera timbal balik (reversible), efek yang tidak segera timbal balik (irreversible), dan efek yang secara esensial memang tidak berbalik (non reversible). Dalam toksikologi sebagian besar kematian jaringan yang disebabkan kontaminasi zat kimia lambat laun akan kembali. Jika pemberian zat kimia tersebut dihentikan, maka lambat laun akan

hilang karena proses detoksifikasi (Loomis, 1978).

Salah satu akibat yang disebabkan oleh insektisida organofosfat adalah bergabungnya senyawa tersebut dengan enzim kolinesterase yang sangat penting bagi transmisi neuromuskular. Laju disosiasi kompleks enzim-organofosfat kembali ke komponennya berjalan sangat lambat, sehingga proses tersebut sering diduga sebagai proses yang tidak dapat kembali (Loomis, 1978).

Menurut Wijaya (1995) keracunan berat setelah terkena senyawa organofosfat selalu ditandai dengan penghambatan yang hebat terhadap aktivitas kolinesterase yaitu mencapai 20%, khususnya kolinesterase plasma. Data pada Tabel 4 hasil penelitian ini menunjukkan bahwa aktivitas enzim pada kelompok C pada jam ke 1 terhambat hingga di atas 20% yaitu 56,80%. Kemudian pada jam ke 2, 3, 4, dan 5 penghambatan aktivitas enzim pada kelompok ini telah turun di bawah 20%. Pada kelompok D penghambatan aktivitas enzim di atas 20% terjadi sampai pada jam ke 3, pada jam ke 4 dan 5 penghambatannya turun hingga di bawah 20%. Sedangkan pada kelompok E, F, penghambatan

aktivitas enzim pada jam ke 1 sampai dengan jam ke 4 masih di atas 20%. Baru pada 5 jam setelah pemberian diazinon penghambatan turun sampai di bawah 20%. Hal ini berarti bahwa diazinon pada dosis 150 mg/kg bb memberikan pengaruh keracunan yang besar hanya pada jam pertama setelah perlakuan. Sedangkan pada dosis-dosis 200 mg/kg bb, 250 mg/kg bb, dan 300 mg/kg bb, penghambatan aktivitas enzim masih tinggi sampai pada jam ke 3 dan 4 setelah pemberian diazinon. Hassal (1982) menyebutkan bahwa waktu yang diperlukan untuk defosforilasi seporoh molukul enzim yang bereaksi dengan dimetil fosfat lebih kurang 80 menit, tetapi jika enzim terfosforilasi oleh dietil fosfat seperti halnya diazinon, waktu yang diperlukan untuk defosforilasi adalah enam kali lebih lama dari yang diperlukan oleh dimetil fosfat. Sedangkan Wijaya (1995) mengatakan bahwa reaktivasi kolinesterase plasma dua atau tiga kali lebih cepat dari pada kolinesterase eritrosit. Sesuai dengan pernyataan tersebut, penghambatan aktifitas kolinesterase plasma pada penelitian ini setelah 5 jam pemberian diazinon sangat berkurang pada semua kelompok dosis. Sedangkan

Isnaeni (1992) mengatakan bahwa pengaruh pemberian diazinon akan hilang pada hari ke 6 setelah pemberian.

KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

1. Pemberian diazinon per oral sebesar 150 mg/kg bb (dosis terkecil dalam penelitian ini), sudah menghambat aktivitas enzim kolinesterase.
2. Penghambatan maksimal aktivitas enzim kolinesterase, terjadi pada jam pertama setelah pemberian diazinon pada semua kelompok. Penghambatan tersebut mencapai 56,80% pada dosis 150 mg/kg bb, 54,15% dan 60,00% pada dosis 300 mg/kg bb.

PUSTAKA ACUAN

- Ariens, E.J. 1993. *Toksikologi Umum. Pengantar*. Cetakan kedua. Terjemahan oleh Yoke R.W., Mathilda B.W., Elin Y.S. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Casarett, L.J. and J. Doull. 1975. *Toxicology The Basic Science of Poisons*. Mcmillan Publishing Co. Inc. New York.

- Corbett, J.R., K. Wright and A.C. Baillie. 1984. *The Biochemical Mode of Action of Pesticides*. Second edition. Academic Press. London.
- Garner, F.A. 1961. *Veterinary Toxicology*. Second edition. Bailliere Tindall and Cox Ltd. London.
- Hassal, K.A. 1982. *The Chemistry of Pesticides, Their Metabolism, Mode of Action and Uses in Crop Protection*. Macmillan Press. London.
- Hayes, A.W. 1989. *Principles and Methods of Toxicology*. Second edition. Raven Press. New York. Hlm: 140-142.
- Isnaeni, W. 1992. *Pengaruh Pemberian Diazinon Melalui Mulut terhadap Aktivitas Kolinesterase, Kecepatan Pembekuan Darah dan Jumlah Trombosit Pada Tikus (*Rattus norvegicus* L.)*. Tesis. Fakultas Pasca Sarjana UGM. Yogyakarta.
- Loomis, T.A. 1978. *Toxicologi Dasar*. Cetakan ketiga. Terjemahan oleh Imono A.D. IKIP Semarang Press.
- Natawigena, H. 1985. *Pestisida dan Kegunaannya*. Cetakan kedua. Penerbit Armico. Bandung. Hlm : 2-4, 46.
- Orten, J.M., Neuhaus & W. Otto. 1982. *Human Biochemistry*. C.V. Mosby Company. London. Hlm : 421-422.
- Strand, F.L. 1983. *Physiology : A Regulatory System Approach*. Second edition. W.H. Freeman and Company. San Francisco. Hlm : 99-125.
- Suprijanto, I. 1989. *Penggunaan Pestisida dan Dampaknya terhadap Kesehatan Lingkungan dalam Tinjauan Penelitian Ekologi Kesehatan*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Jakarta. Hlm : 158-178.
- Sastroutomo, S.S. 1992. *Pestisida Dasar-Dasar dan Dampak Penggunaannya*. P.T. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. Hlm: 1-12, 128-130, 138-146.
- Subowo. 1993. *Neurobiologi*. Penerbit Bumi Aksara. Jakarta.
- Wilson, J.A. 1979. *Principles of Physiology*. Second edition. Macmillan Publishing Co. Inc. New York. Hlm : 269-285.
- Wijaya, C. 1995. *Deteksi Dini Penyakit Akibat Kerja*. Cetakan kedua. Penerbit Buku Kedokteran EGC.