



UNIVERSITI PUTRA MALAYSIA

**PEMBENTUKAN KAEDAH PENGESAN RACUN MAKHLUK PEROSAK
MENGUNAKAN TEKNIK ELEKTROD ENZIM DAN ENZIM IMUNOASAI**

FARIDAH BT. SALAM

FSAS 1996 17

**PEMBENTUKAN KAEDAH PENGESAN RACUN MAKHLUK PEROSAK
MENGUNAKAN TEKNIK ELEKTROD ENZIM DAN ENZIM IMUNOASAI**

OLEH

FARIDAH BT. SALAM

**Tesis yang dikemukakan sebagai Memenuhi Keperluan
untuk memperolehi Ijazah Master Sains di
Fakulti Sains dan Pengajian Alam Sekitar
Universiti Pertanian Malaysia**

Mei, 1996



PENGHARGAAN

Alhamdulillah, bersyukur saya kehadiran Allah s.w.t. kerana dengan izinNya saya dapat menyempurnakan projek penyelidikan dan penulisan tesis ini sehingga kepada noktahnya.

Setinggi-tinggi jutaan terima kasih saya ucapkan kepada pengerusi saya iaitu Prof. Dr. Abu Bakar Salleh yang telah memberi tunjukajar yang bermakna di peringkat akhir penyelidikan dan penulisan tesis. Prof. Dr. Kamaruzaman Ampon yang telah menyelia saya dengan penuh kesabaran sebelum beliau bertukar ke Universiti Sabah. Juga kepada Prof. Madya Dr. Che Nyonya Abd. Razak yang telah memberi semangat dan perangsang semasa memulakan penyelidikan.

Begitu juga dengan kakitangan makmal, kak Rohaida dan Yati yang telah banyak membantu dan bekerjasama dalam mendapatkan bahan kimia dan penggunaan alatan makmal. Juga kepada Prof. Madya Dr. Noraini Samad yang telah membenarkan penggunaan alat pembaca ELISA. Tidak ketinggalan juga kepada Shake, Zan, Maz, Su, Yam, Khanom dan Rena yang menghidupkan suasana riang di makmal penyelidikan.

Untuk keluarga tercinta, Jamil, Liana dan Fikri serta ibu dan ayah tersayang segala pengorbanan kalian tidak akan dilupakan.



KANDUNGAN

MUKASURAT

PENGHARGAAN	I
SENARAI JADUAL	VI
SENARAI RAJAH	VII
NAMA SINGKATAN	IX
ABSTRAK	XI
ABSTRACT	XIII
BAB	
I PENGENALAN	1
II SOROTAN LITERATUR	
Racun makhluk perosak.....	4
Racun rumpai 2,4-D.....	4
Paration.....	5
Karbofuran.....	7
Kesan racun makhluk perosak.....	7
Pemantauan alam sekitar.....	8
Biosensor.....	11
Bioreseptor.....	12
Enzim.....	12
Mikroorganisma.....	13
Tisu dan organel.....	13
Reseptor imunologi.....	14
"Transducer".....	14
Sekatgerak bioreseptor.....	15
Pemerangkapan fizikal.....	15
Tautsilang.....	15
Aruhan elektromagnet.....	16
Elektrod enzim.....	17



Asetilkolin.....	17
Asetilkolinesterase.....	18
Kolin oksidase.....	19
Aplikasi elektrod enzim.....	19
Enzim imunoasai.....	20
Hapten.....	20
Perlekatan hapten-protein.....	21
Pencirian antigen.....	22
Penghasilan antibodi.....	22
Format enzim imunoasai.....	23
Enzim imunoasai kompetitif.....	24
Kelebihan teknik enzim imunoasai.....	27

III BAHAN DAN KAEDAH

Sumber bahan kimia.....	29
Instrumentasi.....	30
Kaedah elektrod enzim.....	30
Alat pegasan makhluk perosak.....	30
Kaedah penyediaan membran dialisis.....	32
Cara menyekatgerakkan enzim	32
Kaedah asai aktiviti enzim AchE dan ChO bebas.....	34
Kaedah asai aktiviti elektrod enzim.....	35
Penentuan julat perencat bagi enzim bebas.....	35
Penentuan julat perencat bagi elektrod enzim.....	36
Penentuan kesan pengaktifan 2-PAM ke atas pengaktifan aktiviti enzim bebas yang didedahkan kepada Paration pada kepekatan I_{50}	36
Penentuan kesan 2-PAM ke atas aktiviti elektrod enzim yang telah didedahkan kepada Paration pada kepekatan I_{50}	37
Kesan perencat keatas aktiviti elektrod enzim.....	37

Kaedah enzim immunoasai.....	38
Penyediaan konjugat 2,4-D - BSA.....	38
Penyediaan konjugat 3-Hidroksikarbofuran tiroglobulin...	38
Penyediaan konjugat Paration terturun BSA.....	39
Immunosasi dalam arnab.....	40
Penyediaan konjugat IgG - Alkalin fosfatase.....	44
Penentuan kesan agen penghalang terhadap perlekatan yang tidak spesifik pada permukaan pepejal piring mikrotiter.....	44
Kaedah ELISA.....	45
Penentuan titer IgG 2,4-D, Paration dan Karbofuran menggunakan kaedah kompetitif ELISA secara langsung.....	48
Penentuan graf piawai 2,4-D, Paration dan Karbofuran Menggunakan kaedah kompetitif ELISA secara langsung.....	48
Penentuan kespesifikan antibodi 2,4-D terhadap lain-lain terbitan 2,4-D.....	49
Penyediaan sampel tanah.....	50
Pengekstrakkan 2,4-D.....	50
Penyediaan sampel air.....	51
Penyediaan sampel sayur-sayuran dan buah-buahan	51

IV KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN

Kaedah enzim elektrod.....	52
Aktiviti enzim bebas.....	52
Aktiviti enzim sekatgerak.....	53
Julat perencat bagi enzim bebas.....	60
Julat perencat bagi enzim sekatgerak.....	63

Pengaktifan AchE dengan 2-PAM.....	67
Kaedah enzim immunoasai.....	68
Titer antibodi.....	71
Pengoptimuman kaedah ELISA.....	77
Penganalisan sampel air.....	87
Penganalisan 2,4-D dalam sampel tanah.....	87
Penganalisan sampel buah-buahan dan sayuran.....	91
Perbandingan julat kepekatan racun makhluk perosak yang dapat dikesan menggunakan kaedah elektrod enzim dan enzim immunoasai.....	95
V KESIMPULAN.....	98
RUJUKAN.....	100
VITA.....	108
PENERBITAN.....	109

SENARAI JADUAL

Jadual		Mukasurat
1	Kesan barah oleh racun makhluk perosak terhadap haiwan percubaan dan manusia (Fan, 1993).....	9
2	Jadual penyuntikan arnab.....	41
3	Senarai agen penghalang lain yang pernah dilaporkan	82
4	Perbandingan julat kepekatan racun yang dapat dikesan menggunakan kaedah ELISA.....	86
5	Pengekstrakkan 2,4-D menggunakan 2 kaedah dan tiga jenis pelarut berbeza dan pengasaianya menggunakan kaedah ELISA secara langsung.....	90
6	Kit ELISA komersial untuk pengesanan racun makhluk perosak.....	94
7	Perbandingan kepekatan racun makhluk perosak yang dapat dikesan oleh kaedah elektrod enzim dan enzim immunoasai.....	96



SENARAI RAJAH

Rajah		Mukasurat
1	Struktur kimia 2,4-D.....	5
2	Struktur kimia Paration.....	6
3	Struktur kimia Karbofuan.....	7
4	Prinsip biosensor.....	11
5	Kaedah penangkapan kompetitif.....	25
6	Kaedah "Sandwich" asai.....	26
7	Carta kaedah elektrod enzim.....	31
8	Graf penulenan IgG menggunakan turus DEAE-selulosa.....	43
9	Carta alir kaedah kompetitif ELISA secara langsung.....	45
10	Carta alir kaedah DAS-ELISA.....	46
11	Carta alir kaedah Nitroselulosa-ELISA.....	47
12	Penentuan kadar tindakbalas yang dimangkinkan oleh AchE mengikut peningkatan kepekatan substrat.....	55
13	Penentuan kadar tindakbalas mengikut peningkatan kepekatan AchE.....	56
14	Penentuan kadar tindakbalas mengikut peningkatan kepekatan ChO.....	57
15	Penentuan amaun AchE untuk disekat- gerak pada membran elektrod (kepekatan ChO adalah konstan, 7U/ml).....	58
16	Penentuan aktiviti enzim sekatgerak mengikut peningkatan kepekatan substrat AcI.....	59

17	Julat kepekatan racun makhluk perosak yang dapat merencat aktiviti enzim AchE bebas.....	61
18	Penentuan kadar tindakbalas AchE pada separuh perencatan maksimum (I_{50}) mengikut peningkatan kepekatan substrat AcI.....	62
19	Julat kepekatan perencat yang dapat merencat aktiviti enzim AchE yang disekatgerak.....	65
20	Kesan 2-PAM ke atas aktiviti enzim bebas yang telah didedahkan kepada Paration I_{50}	69
21	Kesan 2-PAM ke atas aktiviti enzim sekatgerak yang telah didedahkan kepada Paration I_{50}	70
22	Titer IgG terhadap 2,4-D.....	73
23	Titer IgG terhadap Paration.....	74
24	Titer IgG terhadap Karbofuran.....	75
25	Kespesifikan antibodi 2,4-D terhadap lain-lain terbitan 2,4-D.....	76
26	Kaedah DAS-ELISA.....	78
27	Strip NC-ELISA.....	79
28	Kesan agen penghalang terhadap perlekatan yang tidak spesifik pada plat mikrotiter.....	81
29	Graf piawai 2,4-D.....	83
30	Graf piawai Paration.....	84
31	Graf piawai Karbofuran.....	85
32	Penganalisan 2,4-D dalam sampel air dari sumber yang berbeza.....	88
33	Kandungan residu Paration dan Karbofuran dalam sampel buah-buahan dan sayuran dari ladang MARDI.....	92



NAMA SINGKATAN

AchE	Asetilkolinesterase
ChO	Kolin Oksidase
AcI	Asetilkolin Iodida
BSA	Albumin Serum Lembu
ECA	Albumin Telur Ayam
OA	Ovalbumin
2,4-D	2,4-Dwiklorofenoksi asid asetik
IgG	Immunoglobulin G
2-PAM	Piridin-2-Aldoximide Metiodida Klorida
NHS	N-Hidroksisuksinimid
DCC	N,N'-Dwisikloheksilkarbodiimid
NH ₂	Kumpulan amina
OH	Kumpulan hidroksil
COOH	Kumpulan karboksil
SH	Kumpulan sulfilhidril
ELISA	“Enzyme-linked Immunosorbent Assay”
DAS-ELISA	“Double Antibody Sandwich”-ELISA
NC-ELISA	Nitroselulosa-ELISA
ppm	Bahagian per sejuta
ppb	Bahagian per bilion
Ach	Asetilkolin
BuchE	Butirilkolinesterase



MCPA	4-Kloro-2-metilfenoksi asid asetik
CPA	(±)-2-(4-Klorofenoksi) asid propionik
2,4,5-T	2,4,5-Triklorofenoksi asid propionik
sm	sentimeter
I ₅₀	Kepekatan perencat yang menyebabkan setengah perencatan maksimum
PBS-T	Penimbal fosfat bergaram yang mengandungi 0.05% Tween-20
PBS	Penimbal fosfat bergaram
BOD	“Biological Oxygen Demand”
FCA	Adjuvan Freund’s lengkap
FIA	Adjuvan Freund’s tak lengkap
DE-52	Dwietilaminoetilselulosa
BOM	Alat Pemonitoran oksigen

Abstrak tesis yang dikemukakan kepada Senat Universiti Pertanian Malaysia sebagai memenuhi syarat untuk mendapatkan Ijazah Master Sains

**PEMBENTUKAN KAEDAH PENGESAN RACUN MAKHLUK PEROSAK
MENGUNAKAN TEKNIK ELEKTROD ENZIM DAN ENZIM
IMMUNOASAI**

Oleh

FARIDAH BTE SALAM

Mei, 1996

Pengerusi : Prof. Abu Bakar Salleh, PhD
Fakulti : Sains dan Pengajian Alam Sekitar

Kaedah elektrod enzim dan kaedah enzim imunoasai telah dibentuk untuk menganggarkan kepekatan racun makhluk perosak dalam pemantauan alam sekitar. Enzim Asetilkolinesterase (AChE) dan Kolin Oksidase (ChO) yang disekatgerak pada membran elektrod oksigen secara fizikal, taut silang dan pemerangkapan gelatin telah digunakan sebagai elektrod enzim. Sekatgerak enzim secara taut silang didapati paling sensitif untuk penentuan racun makhluk perosak. Racun Paration, Karbofuran dan asid 2,4-Dwiklorofenoksi asetik (2,4-D) telah digunakan untuk menguji darjah kesensitifan elektrod enzim. Elektrod enzim dengan enzim yang disekatgerak secara taut silang menunjukkan separuh perencatan maksimum (I_{50}) bagi Paration ialah $0.00001 \mu\text{g/L}$ dan $0.0002 \mu\text{g/L}$ bagi Karbofuran. Tiada kesan perencatan bagi racun 2,4-D. Julat kepekatan racun yang boleh dikesan oleh elektrod enzim adalah $0.00001-0.0001 \mu\text{g/L}$ bagi Paration dan $0.00001-0.001 \mu\text{g/L}$ bagi Karbofuran. 2-amino-2-(hidroksimetil)-1,3-propandiol (2-PAM) pada kepekatan $1 \times 10^{-3}\text{M}$ didapati sesuai digunakan sebagai bahan pengaktif bagi enzim pada elektrod yang telah didedahkan kepada racun makhluk perosak.



Dalam kaedah enzim imunoasai, antibodi poliklonal terhadap racun Paration, Karbofuran dan 2,4-D disediakan dengan mengimunkan arnab dengan imunogen yang terdiri daripada konjugat Paration terturun-serum albumin lembu (BSA), 3-hidroksi-Karbofuran-Tiroglobulin dan 2,4-D-BSA. Titer imunoglobulin G (IgG) terhadap Paration adalah 1:102400, 1:51200 bagi Karbofuran dan 1:512000 bagi 2,4-D. Antibodi terhadap 2,4-D didapati boleh bertindaksilang dengan kesemua terbitan 2,4-D yang dikaji. Tiga kaedah asai imunojerapan berpaut enzim (ELISA) telah dibentuk iaitu kaedah "Double Antibody Sandwich-ELISA" (DAS-ELISA), Nitroselulosa-ELISA (NC-ELISA) dan kompetitif ELISA secara langsung. Kaedah kompetitif ELISA secara langsung didapati berkesan untuk pengesanan ketiga-tiga jenis racun yang dikaji. Larutan 1% susu tepung tanpa lemak merupakan agen penghalang terbaik untuk kaedah ini. Julat kepekatan racun yang boleh dikesan adalah 0.01 ng/ml hingga 500 ng/ml bagi Paration, 0.01 ng/ml hingga 100 ng/ml bagi Karbofuran dan 1 ng/ml hingga 1000 ng/ml bagi 2,4-D.

Kaedah elektrod enzim dan enzim imunoasai dapat mengesan racun makhluk perosak pada kepekatan yang rendah iaitu kurang daripada 1 $\mu\text{g/L}$ (1ppm). Kaedah elektrod enzim adalah sensitif terhadap racun kumpulan organofosfat (Paration) dan karbamat (Karbofuran) tetapi tidak sensitif terhadap racun daripada kumpulan lain (2,4-D). Elektrod enzim merupakan kaedah yang cepat di mana ia dapat menentukan kehadiran racun makhluk perosak dalam masa kurang daripada lima minit manakala kaedah enzim imunoasai adalah kaedah yang sensitif untuk kesemua jenis racun makhluk perosak tetapi memerlukan masa asai yang lama.

Abstract of thesis submitted to the Senate of Universiti Pertanian Malaysia in fulfilment of the requirement for the degree of Master of Science

DEVELOPMENT OF AN ENZYME ELECTRODE AND ENZYME IMMUNOASSAY TECHNIQUES FOR PESTICIDES DETERMINATION

By

FARIDAH BT SALAM

May, 1996

Chairman : Prof. Abu Bakar Salleh, PhD.
Faculty : Science and Environmental Study

An enzyme electrode and enzyme immunoassay techniques were developed to determine the concentration of pesticides in environmental monitorings. Acetylcholinesterase (AChE) and Choline Oxidase (ChO) immobilized by physical, cross-linking and gelatin entrapment were used as enzyme electrode. Cross-linked enzyme was the most sensitive for pesticide detection. Parathion, Carbofuran and 2,4-Dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) were used to test the sensitivity of the enzyme electrode. The electrode with cross-linking enzyme showed 50% inhibition by Parathion and Carbofuran at a concentration of 0.00001 $\mu\text{g/L}$ and 0.0002 $\mu\text{g/L}$ respectively. There was no inhibition for 2,4-D. The detection limit of the pesticide concentration for cross-linking enzyme was found between of 0.00001 $\mu\text{g/L}$ and 0.0001 $\mu\text{g/L}$ for Parathion and 0.00001 $\mu\text{g/L}$ to 0.001 $\mu\text{g/L}$ for Carbofuran. 2-PAM (1×10^{-3} M) was found to be useful for reactivation of the enzyme electrode after it had been exposed to pesticides.



In an enzyme immunoassay method, polyclonal antibodies against Parathion, Carbofuran and 2,4-D were raised in rabbits by immunization with haptein reduced Parathion-BSA, 3-hydroxy-Carbofuran-Thyroglobulin and 2,4-D-BSA conjugate. The IgG titer against Parathion, Carbofuran and 2,4-D were found at 1:102400, 1:51200 and 1:512000 respectively. The 2,4-D antibody showed the cross reactivity with all 2,4-D derivatives which had been tested. Of the three ELISA methods used (Double antibody sandwich-ELISA, Nitrocellulose-ELISA and Direct competitive ELISA), direct competitive ELISA was found to be the most sensitive in the detection of the pesticides tested. One percent of non fat dry milk solution was found to be the best blocking agent in this ELISA method. The detection limit of the pesticides concentration was at between 0.01 ng/ml to 500 ng/ml for Parathion, 0.01 ng/ml to 100 ng/ml for Carbofuran and 1 to 1000 ng/ml for 2,4-D.

Both of the methods studied could determine low concentrations of the pesticides (less than 1 $\mu\text{g/L}$, 1 ppm). The enzyme electrode was sensitive to organophosphorus and carbamate pesticides but was not sensitive for the other pesticides. It was found that the electrode enzyme was the fastest method for detection of pesticides, while the enzyme immunoassay was more sensitive for all types of pesticides.



BAB I

Pengenalan

Penggunaan racun makhluk perosak semakin meningkat di negara ini kerana sebahagian besar daripada racun perosak tersebut digunakan dalam sektor pertanian untuk mengawal perosak-perosak tanaman. Kejayaan penggunaannya terbukti boleh meningkatkan pengeluaran hasil pertanian dan berjaya membasmi serangga pembawa kuman penyakit. Tetapi, di samping kejayaan penggunaan racun perosak, tidak dapat dinafikan bahawa penggunaannya yang sangat tinggi juga boleh menimbulkan berbagai-bagai kesan buruk ke atas persekitaran dan juga kepada manusia sendiri.

Pendedahan racun makhluk perosak di kalangan petani sering mengakibatkan gangguan kesihatan seperti gangguan fizikal dan mental. Selain itu, masalah aras sisa racun perosak yang tinggi dalam bahan makanan khususnya sayur-sayuran dan buah-buahan yang dijual di negara ini juga boleh menyebabkan keracunan pada manusia dan ternakan. Penumpukan sisa racun yang kekal agak lama di dalam tanah juga boleh menyebabkan kerosakkan kepada tanaman. Di samping itu, ia juga boleh mengakibatkan pencemaran kepada sistem saliran di mana akan meninggalkan kesan buruk kepada organisma bukan sasaran seperti ikan dan hidupan-hidupan lain (Yunus dan Lim, 1980). Justru itu langkah pengawasan perlu di ambil terhadap masalah pencemaran racun makhluk perosak di negara ini.



Antara kaedah-kaedah pengesanan sisa racun makhluk perosak yang biasa digunakan adalah berdasarkan kepada kaedah-kaedah konvensional seperti kromatografi gas, kromatografi cecair berpotensi tinggi dan kromatografi lapisan nipis. Walaupun teknik-teknik ini sensitif, tetapi ia memerlukan penelitian dan kos yang mahal. Jadi kaedah yang mudah dikendali, kos yang rendah dan sensitif diperlukan untuk mengesan kehadiran racun makhluk perosak di persekitaran.

Pendekatan yang digunakan dalam kajian ini ialah menggunakan kaedah biosensor terutamanya kaedah elektrod enzim dan enzim imunoasai untuk mengesan sisa racun makhluk perosak yang berada di persekitaran. Kaedah ini didapati lebih cekap, sensitif, spesifik, mudah dikendalikan pada jumlah sampel yang banyak dan tidak memerlukan kos yang tinggi.

Dalam kajian ini alat pengesan racun makhluk perosak dibentuk berdasarkan kepada darjah perencatan racun terhadap aktiviti enzim Asetilkolinesterase (AChE) yang disekatgerak bersama enzim Kolin Oksidase (ChO) pada membran dialisis dan diikat pada mikro-elektrod oksigen. AChE menghidrolisiskan substrat Asetilkolin Iodida (AChI) kepada asetat, kolin dan ion iodida, kemudian ChO mengoksidakan kolin kepada betain dan hidrogen peroksida. Penggunaan oksigen untuk pengoksidakan kolin diukur menggunakan elektrod oksigen yang disambung kepada alat pemantauan oksigen. Kepekatan racun makhluk perosak dalam sampel adalah berkadar songsang dengan amaun oksigen yang digunakan dalam tindakbalas enzim ChO. Dalam kajian ini model racun yang digunakan adalah Paration, Karbofuran dan 2,4-Dwiklorofenoksi asid asetik (2,4-D). Racun kumpulan organofosfat dan karbamat atau racun lain yang bersifat

neurotoksik sahaja yang boleh merencat aktiviti enzim AchE. Oleh yang demikian elektrod enzim hanya boleh mengesan kehadiran racun-racun daripada kumpulan ini sahaja dan kesensitifannya adalah bergantung kepada amaun enzim dan kaedah sekatgerak enzim pada membran elektrod. Jadi kaedah enzim imunoasai dibentuk untuk menentukan jenis racun yang berbeza dengan lebih spesifik. Kaedah ini adalah berdasarkan kepada perlekatan yang spesifik di antara racun dengan antibodi terhadap racun tersebut. Antibodi dilabel dengan enzim alkalin fosfatase dan penambahan substrat p-nitro-fenilfosfat akan menghasilkan produk berwarna yang dicerap menggunakan spektrofotometer. Keamatan warna yang terbentuk adalah berkadar songsang dengan kepekatan racun dalam sampel. Walaupun kaedah ini memerlukan penghasilan antibodi untuk setiap jenis racun yang digunakan tetapi ia mempunyai beberapa keistimewaan iaitu kespesifikan antibodi yang tinggi terhadap sesuatu jenis racun boleh digunakan untuk membezakan terbitan-terbitan suatu jenis racun yang berada dalam sesuatu sampel. Di samping itu darjah kesensitifannya adalah sangat tinggi di mana ia dapat menentukan amaun racun yang sangat rendah dalam sesuatu sampel.

Jadi objektif kajian ini adalah untuk membentuk satu kaedah yang cepat dan spesifik untuk mengesan racun makhluk perosak yang berada di persekitaran. Di antara parameter yang dikaji adalah:

- (a) Pengoptimuman kaedah elektrod enzim
- (b) Pengoptimuman kaedah ELISA
- (c) Aplikasi kedua-dua kaedah untuk sampel racun piawai dan sampel racun yang berada di persekitaran.

BAB II

SOROTAN LITERATUR

Racun makhluk perosak

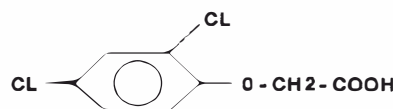
Racun makhluk perosak merupakan bahan kimia yang digunakan untuk mengawal atau membunuh makhluk perosak seperti serangga, roden, nematod, kulat, herba, hamma, bakteria dan sebagainya. Selain itu, terdapat juga sebatian kimia yang tergolong dalam racun makhluk perosak seperti bahan pengontang, peluruh daun, pengatur tumbesaran, bahan pengusir, bahan pemandul, bahan penarik dan bahan penyahjangkitan. Kebanyakan racun makhluk perosak adalah toksik terhadap haiwan dan manusia (Fan, 1993). Racun makhluk perosak yang digunakan dalam penyelidikan ini ialah racun rumpai iaitu asid 2,4-Dwiklorofenoksi asetik (2,4-D) dan racun serangga iaitu Paration dan Karbofuran.

Racun rumpai 2,4-D

Racun rumpai ini tergolong dalam kumpulan asid fenoksi berklorin. 2,4-D merupakan racun yang mula-mula diperkenalkan dalam tahun 1944. 2,4-D merupakan sebatian kimia yang bersifat hormon dan boleh didapati dalam bentuk garam atau ester. Ia bersifat sistemik dan digunakan dengan meluas untuk mengawal rumpai berdaun lebar

dalam tanaman bijirin. Kadar yang digunakan ialah 0.28 hingga 2.3 kilogram per hektar (Thompson *et al.*, 1984)

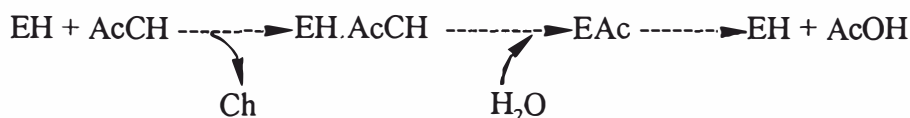
Penumpukan racun berlaku di bahagian meristem pucuk dan akar (Thompson *et al.*, 1984). Racun ini menyebabkan pertumbuhan pokok yang tidak normal di samping mempengaruhi pernafasan, simpanan makanan dan pembahagian sel. Dalam tanah yang lembab dan panas racun ini kekal antara satu hingga empat minggu (Thompson *et al.*, 1984). 2,4-D bersifat neurotoksik pada manusia. Kesan teratogenik mungkin berlaku pada individu yang terdedah kepada semburan 2,4-D (Hoar *et al.*, 1986).



Rajah 1 : Struktur kimia 2,4-D

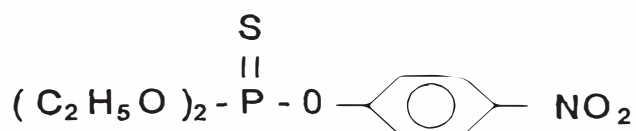
Paration

Paration adalah racun serangga dari kumpulan organofosforus. Sebatian organofosforus merupakan sejenis ester daripada asid fosforus dan alkohol. Paration bertindak terhadap sistem saraf. Cara tindakan adalah merencat fungsi enzim asetilkolinesterase di bahagian sinap. Corak tindakan racun ini telah dilaporkan oleh O'Brien (1971) dan Corbett (1974). Semasa utusan melewati bahagian sinap, sel-sel saraf akan merembeskan asetilkolin. Bahan ini bertindak sebagai pembawa utusan kepada sel saraf yang berikutnya. Apabila tiada lagi maklumat, sejenis enzim iaitu asetilkolinesterase akan bertindak ke atas asetilkolin ini. Tindakbalas yang berlaku adalah seperti berikut:



Pada mulanya enzim (EH) bercantum dengan asetilkolin (AcCH) membentuk kompleks yang boleh bertindakbalas secara suapbalik. Komplek ini akan membebaskan kolin (Ch). Jika air ditambah, kompleks EAc akan membebaskan enzim bebas dan asid asetik (AcOH). Ikatan P=O pada racun Paration mempunyai tarikan yang kuat terhadap kumpulan OH pada enzim. Tindakan ini menyebabkan enzim tidak boleh bertindak dengan asetilkolin. Ini menyebabkan asetilkolin berkumpul di bahagian sinap. Apabila keadaan ini berlaku, corak biasa penghantaran maklumat akan terganggu. Bagi serangga keadaan demikian boleh menyebabkan serangga tersebut hiperaktif, mengeletar, lumpuh dan akan mati. Racun ini boleh menyebabkan kecacatan pada anak-anak ayam jika disuntik ke dalam kandul yolka (Kuh & Dorough, 1977).

Terdapat beberapa simptom keracunan pada mamalia seperti kekejangan otot, menggelepar dan pengecutan anak mata. Pekerja-pekerja yang sering terdedah kepada racun ini akan mengalami kekurangan tenaga, lesu dan insommia (Kuh & Dorough, 1977)

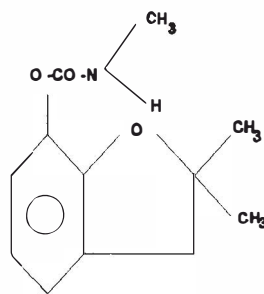


Rajah 2: Struktur kimia Paration

Karbofuran

Karbofuran (2,3-dihidro-2,2-dimetil-7-benzofuranil N-metilkarbamat) adalah racun serangga yang bersifat sistemik dari kumpulan karbamat. Ia digunakan sebagai racun hama dan nematod, mempunyai kelarutan yang sangat tinggi dalam air iaitu 700 mg per liter air pada suhu 25⁰C, ini memudahkan ia memasuki sistem tumbuhan.

Racun ini boleh digunakan pada daun dan pada tanah. Karbofuran kekal hanya beberapa minggu dalam tanah. Sebatian racun dalam tanah boleh diserap oleh akar dan akan mengawal perosak di bahagian daun. Masa separuh hayat dalam tanah bergantung kepada jenis tanah iaitu 30 hari dalam pasir dan mencapai 80 hari dalam tanah yang kaya dengan organik. Manakala dalam tumbuhan, racun ini lebih bersifat persisten. Karbofuran bertindak pada sistem saraf. Corak tindakan adalah sama seperti Paration.



Rajah 3 : Struktur kimia Karbofuran

Kesan racun makhluk perosak

Sisa racun berkumpul dalam badan haiwan dan manusia melalui sistem rantaian makanan. Kebanyakan racun makhluk perosak berkumpul dalam tisu lemak haiwan dan

kekal agak lama. Banyak penyakit yang bersifat kronik sering dikaitkan dengan kewujudan sisa racun dalam tubuh (Ames, 1992). Jadual 1 menunjukkan racun makhluk perosak yang berpotensi menyebabkan barah berdasarkan kepada data eksperimen terhadap haiwan percubaan dan kes keracunan.

Pemantauan alam sekitar

Kualiti alam sekitar bergantung kepada pengawalan pencemaran yang berpunca daripada bahan buangan kilang perindustrian, sisa bahan pertanian dan kenderaan bermotor. Racun makhluk perosak merupakan sisa bahan pertanian yang menunjukkan kegigihan yang rendah dalam alam sekitar tetapi bersifat toksik akut yang tinggi dalam badan haiwan dan manusia (Moore & Moore, 1983).

Racun makhluk perosak biasanya dimonitor dengan menggunakan kaedah konvensional seperti kaedah kromatografi gas, kromatografi cecair berpotensi tinggi dan kromatografi lapisan nipis. Kaedah ini memerlukan masa analisa yang lama dan sampel perlu diekstrak dan dipekatkan terlebih dahulu untuk mendapatkan nilai kepekatan racun yang tepat. Kaedah pengesanan BOD (Biological Oxygen Demand) digunakan juga dalam pengawalan alam sekitar. Kaedah ini didapati memerlukan masa penderaman sampel selama 5 hari. Ekoran dari itu, kita memerlukan satu kaedah yang mampu mengesan dan menentukan kuantiti bahan racun makhluk perosak yang berada di persekitaran dengan cepat, mudah dan lebih spesifik. Biosensor menjadi fokus utama dalam kajian ini.

Jadual 1 Kesan barah oleh racun makhluk perosak terhadap haiwan percubaan dan manusia (Fan, 1993)

Racun Makhluk perosak	Aplikasi pada tanaman	Kesan barah
Alaklor	limau	C
Asid arsenik	jagong	A
Atrazin	kapas	C
Benomil	tebu	C
Kalsium arsenit	peach, pome fruit	C
Kaftafol	Limau, padi	C
Kaptan	Jambu batu	B2
Kordimefon	kacang soya	B1
Klorobenzilat	epal, almond	C
Klorotalonil	kapas	B2
Kuprum arsenit	limau	B1
Kipermetrin	buah, sayur, kekacang	C
Kiromazin	sayuran	B1
Daminozide	kapas	B1
Dialatte	ternakan	C
Diklofop-metil	epal	B1
Etaflurin	kacang soya	B1
Etil okside	limau, kapas	B2
Lindane	epal, orkid	B2/C
Linuron	avokado	C
Mankozeb	bawang, kentang	B2
Maneb	buah, bijirin kecil	B2
Metomil	kapas	C
Metiram	buah, bijirin kecil	B2
Metolaktor	buah, bijirin kecil	C
Orizalin	jagong, kacang soya	C
Oxadiazon	kacang soya	C
Parakuat	vineyards	C
Paration	padi	C
PCNB	padi, kacang soya	B2
O-fenilfenon	kapas, kekacang	B2
Pronamid	limau, orkid	C
Tetrakloinfos	lettuce	C
Tiodikab	pir	C
Terbutrin	anggur	C
Tiofanate-metil	kapas	C
Toxapane	kapas, kacang soya	B2
Triflurin	buah, kacang	C
Zineb	sayuran	B2

- A Karsinogen pada manusia
 B1 Karsinogen pada manusia tetapi kajian tidak mendalam
 B2 Karsinogen pada haiwan percubaan
 C Kemungkinan bersifat karsinogenik pada manusia