

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

a. Penentuan Letal Dosis 50 dan Dosis Aman

Hasil uji pendahuluan memperlihatkan kematian 50% cacing (LD_{50}) pada dosis 5 ml, yaitu sebanyak 18,5 ekor. Pada dosis 10, 15, 20, dan 25 ml membunuh cacing kurang lebih 80 % dalam waktu 24 jam. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kematian Cacing dalam waktu 24, 48, dan 72 jam Pada Uji Pendahuluan

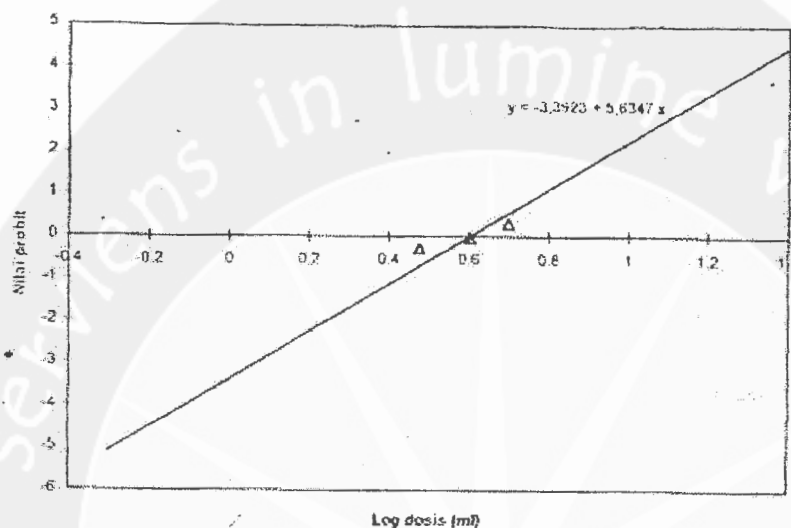
DOSIS (ml)	KEMATIAN DALAM WAKTU 24, 48, DAN 72 JAM (ekor)			TOTAL KEMATIAN
	24	48	72	
0	0	0	0	0
5	4,5	14	0	18,5
10	13	13,5	3,5	30
15	23,5	6,5	0	30
20	27	3	0	30
25	29	1	0	30

Dari uji pendahuluan LD_{50} ada pada dosis nikotin 5 ml, pada uji lanjutan dosis yang diteliti adalah 0,5, 1, 2, 3, dan 4 ml, hal ini dapat dilihat pada Tabel 4. Nikotin dengan dosis 3 ml ditemukan kematian cacing sebanyak 11,5 ekor dan pada dosis 4 ml sebanyak 14,5 ekor cacing yang mati dalam waktu 72 jam.

Tabel 4. Kematian Cacing dalam Waktu 24, 48, dan 72 jam pada Uji Lanjutan

DOSIS (ml)	KEMATIAN DALAM WAKTU 24, 48, DAN 72 JAM (ekor)			TOTAL KEMATIAN
	24	48	72	
0	0	0	0	0
0,5	0	0	0	0
1	0	0	0	0
2	0	0	0	0
3	3,5	8	0	11,5
4	5,5	9	0	14,5

Dari data kematian pada Tabel 3 dan Tabel 4 di atas dilanjutkan dengan analisis probit untuk mengetahui LD_{50} . Hasil probit dapat dilihat pada Gambar 2, yang menunjukkan letak LD_{50} ada pada titik 0,6.



Gambar 2. Grafik Probit dari LD_{50}

b. Parameter pH, Suhu, dan Kelembaban

Pada uji pendahuluan selama 72 jam pH berkisar antara 6 sampai 6,8. Pada kontrol pH 6,8 dan pH pada dosis 25 ml adalah 6. Suhu dengan waktu 24 jam ada pada 27° C, sedangkan pada 48 jam 29° C dan pada 72 jam 29° C. Kelembaban yang terukur antara 60 % sampai 100 %. Kelembaban pada kontrol adalah 60% dan kelembaban pada dosis 25 ml adalah 100%. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 5 di bawah ini.

Tabel 5. pH, Suhu, Kelembaban, dalam waktu 24, 48, dan 72 jam pada Uji Pendahuluan

PARAMETER DLM WAKTU (jam)		DOSIS (ml)					
		0	5	10	15	20	25
pH	24	6,8	6,5	6	6	6	6
	48	6,8	6,5	6	6	6	6
	72	6,8	6,5	6	6	6	6
SUHU (°C)	24	27	27	27	27	27	27
	48	29	29	29	29	29	29
	72	28	28	28	28	28	28
KELEMBABAN (%)	24	60	75	90	100	100	100
	48	60	75	90	100	100	100
	72	60	75	90	100	100	100

Hasil uji lanjutan pada Tabel 6, pH selama 72 jam berkisar antara 6,7 sampai 6,8. Kontrol mempunyai pH 6,8 sedangkan pada dosis 4 ml pH 6,7. Suhu yang terukur berkisar antara 28° C pada waktu 24 jam sedangkan pada waktu 48 sampai 72 jam suhu mencapai 29° C. Kelembaban yang terukur berkisar antara 60 % sampai 72 %, kelembaban pada kontrol sebesar 60% dan pada dosis 4 ml adalah 72 %.

Tabel 6. pH, Suhu, Kelembaban, dalam waktu 24, 48, dan 72 jam pada Uji Lanjutan

PARAMETER DLM WAKTU (jam)		DOSIS (ml)					
		0	0,5	1	2	3	4
pH	24	6,8	6,8	6,8	6,8	6,8	6,7
	48	6,8	6,8	6,8	6,8	6,8	6,7
	72	6,8	6,8	6,8	6,8	6,8	6,7
SUHU (°C)	24	28	28	28	28	28	28
	48	29	29	29	29	29	29
	72	29	29	29	29	29	29
KELEMBABAN (%)	24	60	60	60	60	66	72
	48	60	60	60	60	66	72
	72	60	60	60	60	66	72

B. Pembahasan

a. Penentuan Letal Dosis 50 dan Dosis Aman

Pada uji pendahuluan dosis 5 ml menyebabkan kematian yang sangat cepat terhadap hewan uji sebesar 18,5 ekor atau mencapai lebih dari 50%, maka hal ini dapat dikatakan sebagai keracunan akut. Pada perlakuan kontrol tidak didapati

kematian selama durasi percobaan, walaupun sudah dilakukan puasa dan aklimatisasi. Kematian hewan uji (*Lumbricus rubellus*) dikarenakan penambahan nikotin pada media.

Kematian cacing mencapai 50% lebih dalam waktu 24 jam, sedangkan yang dijumpai pada serangga kematian karena nikotin berlangsung sekitar 5 menit sampai 4 jam, sampainya nikotin pada sistem saraf pusat membutuhkan waktu kurang lebih 10 sampai 15 menit untuk menimbulkan keracunan dan kematian pada serangga (Quraishi, 1991).

Perubahan yang terjadi pada cacing yang terkena nikotin, sebelum mengalami kematian yaitu mula-mula cacing akan keluar dari permukaan. Naiknya cacing di permukaan dapat dikarenakan setelah tanah diberi nikotin dalam dosis yang tinggi kelembabannya akan meningkat sehingga cacing tanah akan mencari tempat yang lebih kering, selain itu yang lebih penting cacing akan menghindari kontak langsung dengan nikotin.

Menurut Yuwantiningsih (1997), nikotin adalah racun kuat bagi beberapa serangga dengan jalan tertelan, melalui kulit, atau sistem pernapasan. Berdasarkan keterangan Edwards & Lofty (1992), nikotin mempengaruhi sistem pernapasan cacing tanah secara langsung yaitu nikotin akan masuk melalui kulit, karena sistem pernapasan cacing tanah melalui pori-pori yang terdapat pada lapisan tipis yang disebut kutikula kulit. Pada lapisan kutikula inilah terdapat pembuluh darah yang berfungsi untuk mengambil O_2 dan melepas CO_2 di udara.

Pemberian nikotin pada cacing juga menunjukkan penurunan berat tubuh yang disertai keluarnya cairan atau dehidrasi. Air yang merupakan 70 – 78%

penyusun tubuh cacing akan keluar bersama mukus disusul dengan pembengkakan pada semua bagian yang terkena, kemudian pembengkakan tadi akan pecah dengan mengeluarkan nanah, darah, dan mukus dalam jumlah yang besar. Hal ini dapat disebabkan karena ekstrak nikotin mempunyai $\text{pH} = 4$ atau asam. Menurut Simanjuntak dan Waluyo (1992), bila cacing tanah terkena suatu zat yang terlalu asam dapat mengakibatkan suatu pembengkakan pada tembolok atau pada daerah yang terkena sehingga dapat mengalami kematian. Keadaan makanan atau lingkungan yang terlalu asam dapat mengakibatkan juga suatu proses dehidrasi pada tubuh cacing tanah. Tubuh akan berwarna gelap, lendir akan keluar secara berlebihan, dan pada akhirnya mati. Cacing tanah akan mengeluarkan mukus secara besar yaitu untuk menutupi kulit tubuh, agar terhindar kontak secara langsung oleh nikotin. Sel-sel akan menghasilkan mukus atau sel-sel kelenjar akan lebih giat mengeluarkan lendir bila keadaan memaksa (terkena rangsang toksik) (Jungueira dan Carneiro, 1990).

Menurut Lu (1995), pendarahan pada tubuh cacing terjadi bila pembuluh darah pecah, hal ini diakibatkan pengaruh komponen racun nikotin yang terbawa oleh aliran darah, akibat terjadi peningkatan volume darah sehingga tekanan darah menjadi tinggi yang pada akhirnya pembuluh darah akan pecah. Gejala serupa dijumpai pada semua cacing yang terkena nikotin.

Menurut Nogrady (1992), dan Sudarmo(1991) menunjukkan keadaan lain yang dijumpai sebagai akibat pemberian ekstrak nikotin pada cacing yaitu mempunyai dampak langsung terhadap sistem saraf dan sistem pencernaan. Nikotin sebagai racun saraf disebut juga penghambat ganglionik, yaitu akan

menghambat kerja enzim asetilkolin dengan cara berikatan dengan reseptor asetilkolin sehingga enzim asetilkolinesterase tidak dapat menghidrolisis asetilkolin oleh karena nikotin dan asetilkolin mempunyai struktur dengan jarak atom N yang hampir sama. Masuknya nikotin ke dalam sistem saraf pusat akan menggantikan kedudukan asetilkolin, dalam hal ini nikotin sebagai inhibitor asetilkolin dengan enzimnya. Akibatnya sensitifitas membran pasca sinapsis akan berkurang sehingga impuls menjadi terbengkalai kerja otot – otot tubuh menjadi terganggu atau tak semestinya dan pada akhirnya akan menyebabkan kematian. Proses penghambatan tadi secara fisik dapat dilihat pada tubuh cacing sebelum mati yaitu tubuh akan terus-menerus bergerak tidak dapat dikendalikan. Hal ini terjadi karena adanya perintah yang datang terus pada otot-otot tertentu (Sudarmo, 1991). Berdasarkan Tarumingkeng (1992), tanda-tanda keracunan nikotin pada serangga mirip keracunan pestisida organik, yaitu urinasi, defekasi, lakrimasi, kejang otot, dan kematian. Pada cacing juga menunjukkan gejala yang sama yaitu keracunan saraf dengan perlakuan berusaha menghindari dari daerah yang terdapat nikotin, mengalami kejang-kejang, menggeliat, mengangkat tubuh bagian posterior, diam, dan kemudian lumpuh.

Menurut Dhewayani (1993), penelitian pada struktur mikroanatomi sistem pencernaan cacing tanah pada spesies *Pheritima* sp setelah diberi perlakuan insektisida jenis karbofuran, ternyata mempunyai ciri-ciri sebagai berikut: sel-sel tertentu pada ventrikulus mengalami piknosis dan pembengkakan sel. Kerusakan berat pada intestinum selain beberapa inti piknosis, inti lisis, sehingga beberapa sel diduga mengalami kematian. Lapisan epidermis mengalami karolisis, ada sel-

sel yang membengkak, mengerut, dan mengalami nekrosis pada epidermis. Hal serupa tidak menutup kemungkinan dapat terjadi pada cacing *Lumbricus rubellus* yang terkena nikotin, mengingat kerja nikotin mempunyai efek yang sama dengan pestisida sintetik. Beberapa keterangan di atas telah membuktikan luasnya dampak penggunaan insektisida baik itu sintetik atau biopestisida bagi organ dan jaringan cacing tanah.

Uji pendahuluan telah ditemukan dosis 5 ml yang menyebabkan kematian cacing lebih dari 50%. Berdasarkan uji pendahuluan dilakukan lagi uji lanjutan dengan menggunakan dosis 0,5, 1, 2, 3, dan 4 ml. Ternyata pada dosis 3 ml ditemukan kematian sebesar 11,5 ekor cacing dan pada dosis 4 ml sebesar 14, ekor cacing. Sebaliknya pada dosis 0,5, 1, 2, dan kontrol cacing dapat hidup 100% selama durasi percobaan, dengan kata lain dosis 2 ml dan di bawahnya merupakan dosis aman bagi cacing *Lumbricus rubellus* karena tidak mempengaruhi kehidupan cacing, dan LD₅₀ pada waktu 72 jam ada pada dosis 4 ml per berat tubuh cacing.

Cacing tanah *Lumbricus rubellus* di samping mengalami kematian dengan diberi perlakuan ekstrak nikotin, juga ada yang mempunyai kemampuan tetap bertahan hidup atau bahkan tidak menunjukkan reaksi fisik gejala keracunan. Hal ini dapat terjadi pada dosis yang aman, dengan adanya suatu kemampuan detoksifikasi yang tinggi, yaitu kemampuan untuk mengeleminasi nikotin yang ada sehingga sebagian besar dapat dikeluarkan oleh tubuh, sehingga dosis yang diberikan dapat dibuang, dengan demikian cacing tanah dapat bertahan. Nikotin dikeluarkan lewat feces dan urine, tetapi nikotin dengan dosis yang tinggi tidak

dapat dieliminasi sehingga dapat masuk ke dalam tubuh sampai pada tempat aksi yaitu reseptor asetilkolin (Nogrady, 1992).

Menurut Tarumingkeng (1992), kemampuan pengimbangan nikotin agar tidak menjadi racun, setelah nikotin masuk ke dalam sel, sebelum sampai ke asetilkolin di sistem saraf pusat, di dalam sel yang terlewati oleh nikotin, akan mengalami metabolisme. Nikotin mengalami proses metilasi menjadi ion isometonium dan kotin yang tidak beracun, dengan mudah larut dalam air sehingga dapat dikeluarkan, misalnya lewat feces sehingga ketika nikotin sampai pada sistem saraf pusat jumlahnya akan berkurang, hal ini dikarenakan di dalam saraf sendiri nikotin akan mengalami metabolisme menjadi ion N-oksidas oleh enzim amin oksidase yang terletak dalam mikrosom di dalam saraf pusat. Enzim yang tergantung pada NADPH dan oksidase ini mengatalis nikotin menjadi kotinin yang tidak beracun, dengan sedikitnya nikotin yang menghambat enzim asetilkolin esterase akan menyebabkan jumlah asetilkolin esterase yang terhambat sedikit. Selain itu menurut Radiopetro *et al.* (1994), proses detoksifikasi pada cacing dapat melalui esopagus, yaitu makanan dalam esopagus tercampur cairan hasil sekresi kelenjar kapur yang terdapat di dalam esopagus. Cairan ini sifatnya alkalis dapat untuk menetralkan makanan yang bersifat racun. Hal ini terjadi jika nikotin masuk melalui sistem pencernaan.

Hasil dari analisis probit menunjukkan perbedaan yang nyata pada setiap penambahan dosis nikotin. Semakin besar dosis yang mengenai cacing semakin besar mortalitasnya dan LD₅₀ pada waktu 72 jam ada pada 3,7 – 4,3 ml. Hal ini dapat dilihat juga pada Gambar 2. LD₅₀ berada pada suatu garis linier, yaitu angka

0,6 berasal dari dosis 4 ml yang telah dilog-kan dan angka 0 merupakan letak kematian cacing sebesar 50 %. Maka dalam penelitian ini hipotesis yang ada dapat diterima.

Menurut Widiarnako dan Van Strallan (1994), pestisida sintetis jenis carbofuran mempunyai LD₅₀ terhadap *Lumbricus rubellus* pada dosis 4 mg per berat tubuh, maka dapat terlihat daya bunuh nikotin sama dengan pestisida sintetis. Sebagai contoh lain pestisida jenis *benomyl* atau *carbendazim* mempunyai LC₅₀ pada *Lumbricus terrestris* sebesar 3,5 mg per berat tubuh. Menurut Myers (1990), beberapa jenis pestisida alami nampaknya mempunyai kerja yang sama dengan pestisida sintetis. Daya racun pestisida alami bila mengenai organisme non-target dapat mengakibatkan kematian, tetapi pestisida alami berbeda dalam waktu kerja racun dan residu dalam penurunan populasi.

b. Parameter pH, Suhu, dan Kelembaban

Hasil pada Tabel 5 dan Tabel 6 ternyata terlihat tidak beda nyata, yaitu parameter pH, suhu, dan kelembaban. Hal ini berarti penambahan ekstrak nikotin, ternyata tidak memberikan banyak perubahan yang berarti.

Parameter pH menunjukkan penurunan pH pada kontrol yaitu dari 6,8 menjadi 6,5 pada dosis 5 ml dan penambahan dosis selanjutnya pH menjadi konstan yaitu 6, hal ini dapat disebabkan karena pH 4 pada ekstrak nikotin yang bersifat asam. Derajat keasaman (pH) di atas masih tergolong normal untuk kehidupan cacing tanah. Menurut Rukmana (1999), cacing *Lumbricus rubellus* dapat hidup dengan baik pada tanah yang sedikit asam sampai netral. Keasaman (pH) tanah yang ideal untuk cacing ini adalah 6 – 7,2. Tanah pertanian di

Indonesia umumnya bermasalah karena pH-nya asam. Tanah yang pH-nya asam dapat mengganggu pertumbuhan dan daya berkembang biak cacing tanah, karena ketersediaan bahan organik dan unsur hara (makan) cacing tanah relatif terbatas.

Hasil pengukuran suhu pada tabel 5 dan tabel 6 berkisar antara 27 – 29 °C, dan kelembaban yang terukur 60 % pada kontrol sampai dosis 3 mg. Kenaikan kelembaban terjadi setelah penambahan ekstrak dari 3 – 25 ml dengan kelembaban 60 – 100 %. Temperatur yang terukur dipengaruhi oleh fluktuasi pada perubahan suhu lingkungan laboratorium, ternyata melebihi temperatur normal atau ideal bagi kehidupan cacing *Lumbricus rubellus*. Suhu atau temperatur tanah yang ideal untuk pertumbuhan cacing berkisar antara 15 – 25 °C. Suhu tanah yang lebih tinggi dari 25 °C masih cocok untuk cacing ini, tetapi harus diimbangi dengan kelembaban yang memadai dan naungan yang cukup. Oleh karena itu, cacing tanah biasanya ditemukan hidup di bawah pepohonan atau tumpukan bahan organik (Rukmana, 1999). Pada temperatur 29 °C, cacing *Lumbricus rubellus* masih dapat hidup, hal ini terlihat pada kontrol waktu 48 dan 72 jam. Menurut Simanjuntak dan Waluyo (1992), kelembaban tanah mempengaruhi pertumbuhan dan daya reproduksi cacing *Lumbricus rubellus* yang ideal yakni pada 40 – 60 %. Kelembaban tanah yang terlalu tinggi atau terlalu basah dapat menyebabkan cacing *Lumbricus rubellus* berwarna pucat dan kemudian mati. Sebaliknya, bila kelembaban tanah terlalu kering cacing ini akan segera masuk ke dalam tanah dan berhenti makan serta akhirnya akan mati.