

**DISERTASI**

**PENGARUH *DIPLAZIUM ESCULENTUM* TERHADAP KADAR ENZIM  
*CHOLINESTERASE*, *PARAOXONASE-1* DAN *MALONDIALDEHID*  
PADA PETANI SAYUR PENGGUNA PESTISIDA DI DESA KANREAPIA  
KECAMATAN TOMBOLOPAO,  
KABUPATEN GOWA**

**THE INFLUENCE OF *DIPLAZIUM ESCULENTUM* ON LEVEL OF  
ENZYME *CHOLINESTERASE*, *PARAOXONASE-1* AND  
*MALONDIALDEHYDE* IN VEGETABLE FARMERS USERS  
OF PESTICIDES IN KANREAPIA VILLAGE, TOMBOLOPAO DISTRICT,  
GOWA REGENCY**

**HABIBI  
C013191010**



**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
2022**

**DISERTASI**

**PENGARUH *DIPLAZIUM ESCULENTUM* TERHADAP KADAR ENZIM  
*CHOLINESTERASE*, *PARAOXONASE-1* DAN *MALONDIALDEHID*  
PADA PETANI SAYUR PENGGUNA PESTISIDA DI DESA KANREAPIA  
KECAMATAN TOMBOLOPAO,  
KABUPATEN GOWA**

**THE INFLUENCE OF *DIPLAZIUM ESCULENTUM* ON LEVEL OF  
ENZYME *CHOLINESTERASE*, *PARAOXONASE-1* AND  
*MALONDIALDEHYDE* IN VEGETABLE FARMERS USERS  
OF PESTICIDES IN KANREAPIA VILLAGE, TOMBOLOPAO DISTRICT,  
GOWA REGENCY**

**HABIBI  
C013191010**



**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
2022**

**DISERTASI**

**PENGARUH DIPLAZIUM ESCULENTUM TERHADAP KADAR ENZIM CHOLINESTERASE,  
PARAOXONASE-1 (PON1) DAN MALONDIALDEHID (MDA) PADA PETANI SAYUR  
PENGGUNA PESTISIDA DI KECAMATAN TOMBOLOPAO,  
KABUPATEN GOWA**

**THE INFLUENCE OF DIPLAZIUM ESCULENTUM ON LEVELS OF ENZYME CHOLINESTERASE,  
PARAOXONASE-1 AND MALONDIALDEHYDE IN VEGETABLE FARMERS USERS OF  
PESTICIDES IN TOMBOLOPAO DISTRICT,  
GOWA REGENCY**

Disusun dan diajukan oleh

**HABIBI  
C013191010**

*Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran  
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin  
pada tanggal, 11 Juli 2022  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan*

Menyetujui  
Promotor,

**Prof. Dr. dr. Suryani As'ad, M.Sc. Sp.GK(K)**  
Nip. 19600504 198601 2 002

Co. Promotor

Co. Promotor

**Dr. dr. H. Anli Armyrn Nurdin, M.Sc**  
Nip. 19550203 198312 1 001

**dr. Agus salim Bukhari, M. Med, Ph.D, Sp.GK (K)**  
Nip. 19700321 199903 1 001

Ketua Program Studi S3  
Ilmu Kedokteran,

Dekan Fakultas Kedokteran  
Universitas Hasanuddin,

**dr. Agus salim Bukhari, M. Med, Ph.D, Sp.GK (K)**  
Nip. 19700821 199903 1 001

**Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid M.Kes., Sp.PD., KGH., FINASIM., Sp.GK**  
Nip. 19680530 199603 2 001



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
FAKULTAS KEDOKTERAN

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN**

Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10 Makassar 90245 Telp.(0411)586010,(0411)586297

EMAIL : s3kedokteranunhas@gmail.com

**PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI**

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Habibi  
NIM : C013191010  
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran  
Jenjang : S3

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul :

Pengaruh *Diplazium esculentum* terhadap Aktivitas Enzim *cholinesterase*, *paraoxonase-1* dan *malondialdehid* pada Petani Sayur Pengguna Pestisida di Desa Kanreapia Kecamatan Tombolopao, Kabupaten Gowa.

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain, bahwa Disertasi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan Disertasi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 12 April 2022

Yang menyatakan,

Habibi

## PRAKATA

Segala puji dan syukur kami panjatkan kehadirat Allah SWT, atas rahmat dan anugerah-Nya, dikarenakan hasil penelitian yang berjudul “Pengaruh *Diplazium esculentum* Terhadap Kadar Enzym *Cholinesterase*, *Paraoxonase-1* dan *Malondialdehid* pada Petani Sayur Pengguna Pestisida Di Desa Kanreapia Kecamatan Tombolopao Kabupaten Gowa” dapat diselesaikan dan diajukan ke dalam ujian disertasi.

Berbagai tantangan dalam penyusunan disertasi ini, namun dengan bantuan dan dukungan dari berbagai pihak sehingga dapat diselesaikan, walaupun masih terdapat banyak kekurangan di dalamnya.

Melalui kesempatan ini pula peneliti menyampaikan ucapan terima kasih yang setinggi-tingginya kepada:

1. **Prof. Dr. ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc** selaku Rektor yang telah memberikan kesempatan kepada peneliti untuk mengikuti pendidikan di Universitas Hasanuddin.
2. **Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, SpPD-KGH., Sp.GK** selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar yang telah memberikan kesempatan kepada peneliti melanjutkan studi program pascasarjana di Universitas Hasanuddin.
3. **dr. Agussalim Bukhari, M.Med.,Ph.D.,Sp.GK.(K).** selaku Ketua Program Studi S3 Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin.

4. **Prof. Dr. dr. Suryani As'ad, M.Sc.,Sp.GK (K), Dr. dr. A. Armyn Nurdin, M.Sc,** dan **dr. Agussalim Bukhari, M.Med., Ph.D., Sp.GK (K)** selaku tim pembimbing yang senantiasa memberikan masukan kepada peneliti.
5. Penguji Eksternal peneliti, **Dr. dr. Hj. Fatmawati, MPH** yang telah memberikan masukan bagi penelitian ini.
6. Dewan Penguji **Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K), Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes, dr. M.Furqaan Naiem, M.Sc., Ph.D, dr. Aminuddin, M. Nut & Diet., Ph.D, Sp.GK (K), dr. Joko Hendarto, Ph.D** yang senantiasa memberikan bimbingan dan arahan kepada peneliti.
7. Seluruh Dosen pengajar S3 Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar yang telah memberikan bekal ilmu yang sangat bermanfaat bagi peneliti.
8. Staf dan pengelola S3 Ilmu Kedokteran Universitas hasanuddin, Bapak Akmal, Bapak Abdul muin, dan Bapak Rahmat yang selalu membantu peneliti.
9. Kepada kedua orangtua tercinta, istri, anak, keluarga dan sahabat peneliti yang banyak memberikan dukungan dan bantuan selama penyusunan disertasi ini.
10. Teman-teman S3 Ilmu Kedokteran angkatan 2019, terima kasih atas motivasi dan doanya, teman seperjuangan, bantuan dan saran yang diberikan kepada peneliti.

Tiada hentinya peneliti memanjatkan doa kepada Allah SWT. Semoga seluruh bantuan dan doa yang disampaikan untuk peneliti mendapat balasan pahala yang berlipat ganda dan semoga menjadi amal jariyah,

Disertasi ini masih belum sempurna, sehingga secara pribadi peneliti terbuka untuk menerima saran dan masukan dari para pembimbing, dewan penguji, dan sejawat untuk dapat memberikan masukan demi perbaikan disertasi ini. Semoga niat untuk menyebarluaskan ilmu mendapat jalan yang dimudahkan sampai penyelesaian studi ini.

Makassar, 01 Juni 2022

Peneliti

## ABSTRAK

**HABIBI.** *Pengaruh Diplazium Esculentum terhadap Aktivitas Enzim Cholinesterase Paraaxonase-1 dan Malondialdehid pada Petani Sayur Pengguna Pestisida di Desa Kanreapia Kecamatan Tombolopao, Kabupaten Gowa (dibimbing oleh Suryani As'ad. Agussalim Bukhari. A. Armyun Nurdin).*

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh Diplazium esculentum terhadap aktivitas enzim cholinesterase, aktivitas paraoxonase-1 (PON1) dan aktivitas malondialdehid (MDA) pada petani yang terpapar dengan pestisida.

Metode Penelitian ini menggunakan desain eksperimental Randomized Controlled Trial (RCT) dimana peneliti mengalokasikan sampel penelitian ke kelompok eksperimen dan kelompok kontrol secara acak berdasarkan kriteria yang telah ditentukan peneliti, dilakukan penilaian dengan double-blind. Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh petani sayur pengguna pestisida di Desa Kanreapia Kecamatan Tombolopao, Kabupaten Gowa yang terdiri dari 375 orang. Adapun jumlah sampel adalah 42 orang (21 orang kelompok intervensi dan 21 orang kelompok kontrol).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa berdasarkan uji T berpasangan didapatkan nilai pada kelompok intervensi  $p=0.004$  dan kontrol  $p=0.032$  dan Hasil uji t tidak berpasangan didapatkan nilai signifikansi  $p=0.047$  yang berarti ada pengaruh pemberian Diplazium esculentum terhadap aktivitas cholinesterase. Hasil uji uji wilcoxon paraoxonase-1 didapatkan nilai pada kelompok intervensi  $p=0.005$  dan kelompok kontrol  $p=0.520$ . Hasil uji mann whitney U didapatkan nilai signifikansi  $p=0.043$  yang berarti ada pengaruh pemberian Diplazium esculentum terhadap kadar paraoxonase-1. Adapun uji wilcoxon malondialdehid (MDA) didapatkan nilai pada kelompok intervensi  $p=0.424$  dan kontrol  $p=0.375$  Hasil uji mann whitney U didapatkan nilai signifikansi  $p=0.242$  yang berarti tidak ada pengaruh yang signifikan pemberian Diplazium esculentum terhadap kadar malondialdehid pada petani sayur pengguna pestisida. Ada pengaruh Diplazium esculentum terhadap aktivitas enzim cholinesterase, dan aktivitas paraoxonase-1 (PON1), serta tidak ada pengaruh Diplazium esculentum terhadap malondialdehid (MDA) pada petani yang terpapar dengan pestisida

Kata kunci: Diplazium esculentum, Enzim cholinesterase, Aktivitas Paraaxonase-1 (PON1), Malondialdehid (MDA) pada Petani yang Terpapar dengan Pestisida.





## ABSTRACT

**HABIBI.** *The Influence of Diplazium Esculentum on Cholinesterase, Paraoxonase 1, and Malondialdehyde Activities on Vegetable Farmers Using Pesticides in Kanreapia Village, Tombolopao District, Gowa Regency (Supervised by Suryani As'ad, Agussalim Bukhari, and A. Armyun Nurdin)*

This study aims to determine the effect of Diplazium esculentum enzyme cholinesterase activity, paraoxonase-1 (PON 1) activity and malondialdehyde (MDA) activity in farmers exposed to pesticides.

This study used a Randomized Controlled Trial (RCT) experimental design, in which the researcher allocates research samples to the experimental group and the control group randomly based on the criteria determined by the researcher, double-blind. The population in this study were all pesticide-using vegetable farmers in Kanreapia Village, Tombolopao District, Gowa Regency, which consisted of 375 people. While the number of samples were 42 people (21 people in the intervention group and 21 people in the control group).

Based on the paired t test, the value in the intervention group was  $p = 0.004$  and the control  $p = 0.032$  and the results of the unpaired t test obtain a significance value of  $p = 0.047$  which means there is an effect of giving Diplazium esculentum activity cholinesterase. The results of the Wilcoxon paraoxonase-1 show that the value in the intervention group is  $p=0.005$  and the control group  $p=0.520$ . Test Mann Whitney U obtains a significance value of  $p = 0.043$  which means that there is an effect of giving Diplazium esculentum levels paraoxonase-1 whereas Wilcoxon malondialdehyde (MDA). The value in the intervention group is  $p=0.424$  and the control  $p=0.375$ . Test Mann Whitney U shows a significance value of  $p=0.242$ , which means that there is no significant effect of giving Diplazium esculentum levels malondialdehyde in pesticide-using vegetable farmers. There is an effect of Diplazium esculentum on enzyme cholinesterase, and paraoxonase-1 (PON 1) activity, and there is no effect of Diplazium esculentum on malondialdehyde (MDA) in farmers exposed to pesticides.

Keywords: Diplazium esculentum; enzyme cholinesterase, paraoxonase-1 (PON 1) activity; malondialdehyde (MDA) in farmers exposed to pesticides



## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	ii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iii
KETERANGAN KEASLIAN DISERTASI.....	iv
PRAKATA .....	v
ABSTRAK .....	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI .....	x
DAFTAR TABEL .....	xiv
DAFTAR GAMBAR .....	xvi
DAFTAR BAGAN .....	xvii
DAFTAR SINGKATAN, ISTILAH, LAMBANG .....	xviii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	13
1.3 Tujuan Penelitian .....	13
1.4 Manfaat Penelitian .....	14
1.5 Nilai Kebaharuan Penelitian ( <i>Novelty</i> ) .....	15
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Keracunan Pestisida .....	16
2.1.1 Jenis-jenis Pestisida .....	17
2.1.2 Pestisida Organofosfat.....	20
2.1.3 Struktur Komponen Pestisida Organofosfat.....	21

2.1.4 Patofisiologi .....	25
2.1.5 Cara Masuk Pestisida ke Tubuh .....	26
2.1.6 Gejala Keracunan Pestisida.....	30
2.1.7 Enzim <i>Cholinesterase</i> sebagai Biomarker keracunan.....	31
2.1.8 Jenis-jenis Enzim <i>Cholinesterase</i> .....	32
2.1.9 Pemeriksaan Enzim <i>Cholinesterase</i> .....	32
2.1.10 Faktor–faktor yang Mempengaruhi Turunnya Kadar Enzim <i>Cholinesterase</i> Darah .....	33
2.1.11 <i>Cholinesterase</i> sebagai Indikator Keracunan .....	35
2.1.12 Paraoxonase-1 (PON1) .....	37
2.1.13 Struktur PON1 .....	38
2.1.14 Fungsi paraoxonase-1 .....	39
2.1.15 Penentuan Status PON1 .....	41
2.1.16 Pemeriksaan PON 1 .....	42
2.1.17 Faktor-faktor yang mempengaruhi PON1 .....	42
2.1.18 Mekanisme PON1 Menghidrolisis Pestisida .....	44
2.1.19 Radikal bebas .....	45
2.1.20 Stres Oksidatif.....	46
2.1.21 Malondialdehid.....	47
2.1.22 Struktur dan Sintesis MDA.....	48
2.1.23 Malondialdehid sebagai Biomarker Stres Oksidatif.....	49
2.1.24 Faktor-faktor yang mempengaruhi Malondialdehid.....	50
2.1.25 Antioksidan .....	51
2.1.26 Jenis-jenis Antioksidan .....	42

2.1.27 Enzim Antioksidan .....	54
2.1.28 Peran Senyawa Metabolit sekunder Mencegah Stres Oksidatif.....	54
2.1.29 kapasitas Antioksidan .....	64
2.2 Paku sayur( <i>Diplazium esculentum</i> ).....	65
2.2.1 Taksonomi Paku sayur .....	69
2.2.2. Deskripsi <i>Diplazium esculentum</i> .....	70
2.2.3. Kandungan Gizi dan Manfaat <i>Diplazium esculentum</i> .....	71
2.3 Keterkaitan Antara Keracunan Pestisida dan Mekanisme <i>Diplazium esculentum</i> Sebagai Antioksidan .....	75
2.4 Kerangka Teori .....	81
2.5 Kerangka konsep .....	72
2.6 Definisi Operasional.....	82
2.7 Hipotesis Penelitian .....	84
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b>	
3.1 Rancangan Penelitian .....	86
3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	90
3.3 Populasi dan Teknik Sampel.....	91
3.4 Instrumen Pengumpulan Data .....	95
3.5 Prosedur Penelitian .....	101
3.6 Alur Penelitian .....	105
3.8 Analisa Data.....	106
3.9 Etika Penelitian .....	106
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	

4.1 Hasil Penelitian .....	109
4.2 Hasil Uji Produk .....	110
4.2.1 Identifikasi Biokimia .....	110
4.2.2 Aktivitas antioksidan dengan metode DPPH.....	111
4.2.3 Uji toksisitas dengan BSLT .....	112
4.2.4. Uji Organoleptik .....	114
4.3 Analisis Univariat .....	115
4.4 Analisis Bivariat .....	119
4.5 Pembahasan.....	125
4.5.1 Karakteristik Responden.....	125
4.5.2 Pengaruh Pemberian <i>Diplazium esculentum</i> terhadap Kadar <i>Cholinesterase</i> .....	131
4.5.3 Pengaruh Pemberian <i>Diplazium esculentum</i> terhadap Kadar <i>Paraoxonase-1</i> .....	134
4.5.4 Pengaruh Pemberian <i>Diplazium esculentum</i> terhadap Kadar <i>Malondialdehid</i> .....	137
4.5.5 Pengaruh Pemberian <i>Diplazium esculentum</i> terhadap Perubahan Gejala Klinis .....	141
4.6 Keterbatasan penelitian .....	146

## **BAB V KESIMPULAN DAN SARAN**

5.1 Kesimpulan .....	149
5.2 Kesimpulan Umum.....	150
5.3 Saran .....	151

## **DAFTAR PUSTAKA**

## **LAMPIRAN**

## DAFTAR TABEL

No	Teks	Halaman
2.1	Struktur kimia organofosfat.....	22
2.2	Gejala Klinis dan Tingkat Keracunan Pestisida.....	30
2.3	Golongan pestisida dan dampak Kesehatan .....	31
2.4	Keberadaan Jenis Paku sayur di Indonesia .....	65
2.5	Jenis Paku-pakuan.....	67
2.6	Kadar Kandungan Paku sayur Daun <i>Diplazium esculentum</i> .....	73
2.7	Hasil Penapisan Fitokimia Paku sayur ( <i>Diplazium esculentum</i> )	74
4.1	Pengujian Fitokimia.....	113
4.2	Hasil Uji Antioksidan (IC <sub>50</sub> ) Metode DPPH.....	114
4.3	Hasil Pengukuran Nilai LC <sub>50</sub> .....	115
4.4	Uji Organoleptik .....	116
4.5	Gambaran Karakteristik Responden Kelompok Kontrol dan Intervensi Petani Sayur Pengguna Pestisida Di Desa Kanreapia Kecamatan Tombolopao Kabupaten Gowa Tahun 2021.....	118
4.6	Gambaran Gejala Klinis Kelompok Intervensi Petani Sayur Pengguna Pestisida Di Desa Kanreapia Kecamatan Tombolopao Kabupaten Gowa Tahun 2021.....	119
4.7	Gambaran Gejala Klinis Kelompok Kontrol Petani Sayur Pengguna Pestisida Di Desa Kanreapia Kecamatan Tombolopao Kabupaten Gowa Tahun 2021.....	120
4.8	Pengaruh Pemberian <i>Diplazium esculentum</i> terhadap Kadar <i>Cholinesterase</i> pada Petani Sayur Pengguna Pestisida Di Desa Kanreapia Kecamatan Tombolopao Kabupaten Gowa Tahun 2021.....	121
4.9	Pengaruh Pemberian <i>Diplazium esculentum</i> terhadap Kadar	

	<i>Paraoxonase-1</i> pada Petani Sayur Pengguna Pestisida di Desa Kanreapia Kecamatan Tombolopao Kabupaten Gowa Tahun 2021.....	122
4.10	Pengaruh Pemberian <i>Diplazium esculentum</i> terhadap Kadar <i>Malondialdehid</i> pada Petani Sayur Pengguna Pestisida di Desa Kanreapia Kecamatan Tombolopao Kabupaten Gowa Tahun 2021.....	124
4.11	Pengaruh Pemberian <i>Diplazium esculentum</i> terhadap Perubahan Gejala Klinis pada Petani Sayur Pengguna Pestisida di Desa Kanreapia Kecamatan Tombolopao Kabupaten Gowa Tahun 2021.....	125

## DAFTAR GAMBAR

No	Teks	Halaman
2.1	Kromosom 7 manusia .....	37
2.2	Struktur PON-1 .....	38
2.3	Mekanisme metabolisme <i>Diazinon</i> dan hidrolisis <i>paraoxon</i> oleh PON1.....	44
2.4	Proses terbentuknya MDA.....	48
2.5	Mekanisme Kerja Antioksidan enzimatik .....	56
2.6	Mekanisme pengaruh Flavonoid terhadap ROS.....	61
2.7	Pengaruh flavonoid terhadap Radikal NO* .....	61
2.8	Kapasitas antioksidan suatu flavonoid hasil isolasi dengan DPPH.....	63
2.9	<i>Diplazium esculentum</i> .....	70
2.10	Mekanisme metabolisme <i>Diazinon</i> dan hidrolisis <i>paraoxon</i> oleh PON1.....	77
2.11	Mekanisme SOD, CAT dan GPx mengubah radikal bebas menjadi non radikal .....	79



## DAFTAR BAGAN

No	Teks	Halaman
2.1	Skema reaksi <i>cholinesterase</i> dengan pestisida <i>organophosphate</i> dan <i>karbamat</i> .....	76
2.2	Kerangka teori.....	82
2.3	Kerangka Konsep .....	83
3.1	Rancangan Penelitian.....	90
3.2	Alur Penelitian .....	107

## DAFTAR SINGKATAN, ISTILAH, DAN LAMBANG

AA	: Asam Arakidonat
ACh	: Asetilkolin
AChE	: Asetilcholinesterase
AChEI	: Inhibitor Acetilcholinesterase
ACP	: Acid Phosphatase
AGE	: Advenced Glycation end-products
ALE	: Advenced Lipoxidation end-products
ALP	: Alkanine Phosphatase
ALS	: Amyotrophic Lateral Sclerosis
APD	: Alat Pelindung Diri
ARC	: Katarak
AREase	: Arylesterase
ASS	: Atomic Absorption Spectrofometry
BHA	: Butil Hidroksil Anisol
BHT	: Butil Hidroksi Toluen
BSLT	: Brine Shrimp Lethality Test
BuChE	: Pseudocholinesterase
CAT	: Katalase
CCl <sub>4</sub>	: Karbon Tetraklorida
CPS	: Klorpirifos
CYP	: Polimorfisme Sitokrom P450

DDVP	: Diklorvos
DEHAe	: Diplazium Esculentum
Dermal LD50	: Toksitas Dermal
DNA	: Asam Deoksiribonukleat
DPPH	: 1,1-Diphenyl-2-picryl Hidrazil
DZS	: Diazinon
EDTA	: Asama Etilen Diamin Tetraasetat
ELISA	: Enzyme-linked Immunosorbent Assay
Free CO <sub>2</sub>	: Distillate Water
GGT	: Glutamyl Transferase
GPx	: Glutathione Peroksidase
GSH	: Kadar Glutathione
GSSG	: Glutathione Disulfida
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hydrogen Peroxide
HDL	: High Density Lipoprotein
IC <sub>50</sub>	: Antioksidan
LC <sub>50</sub>	: Median Lethal Concentration
LDH	: Laktat Dehidrogenase
Log C	: Konsentrasi
LOO	: Peroksida Lemak
LPO	: Lipid Peroxidisation
MDA	: Malondialdehid
mRNA	: Messenger RNA
NADH	: Nicotinamide Adenine Dinucleotide

O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	: Superoxide Anion
OD	: Optical Density
OH <sup>·</sup>	: Hydroxyl
OHdG-8	: 8-Hidroksi-Deoksiguanosin
OPs	: Organofosfat
ox-LDL	: Oxidized Low Density Lipoprotein
Pb	: Kadar Timbal
PET	: Polietilen
PG	: Propil Galat
PGI-2	: Protector Eicosanoid Prostacyclin
PLA	: Asam Polilaktat
PLA <sub>2</sub>	: Aksi Fosfolipase
PON1	: Paraoxonase-1
PPAR- $\gamma$	: Peroxisome Proliferator Activator Receptor-Gamma
PUFA	: Polyunsaturated Fatty Acids
RCT	: Randomized Controlled Trial
RE	: Retikulum Endoplasma
RNS	: Spesies Nitrogen Reaktif
ROS	: Reactive Oxygen Species
SGOT	: Glutamic Oxaloacetic Transaminase
SGPT	: Glutamat Piruvat Trasamin
SOD	: Superoxide Dismutase
TBA	: Thiobarbituricacid
TBARS	: Thiobarbituric Acid Reactive Substance

TBHQ : Tert-Butil Hidroksi Quinon  
TCA : Trichloroacetic Acid  
TEPP : Tetraethyl Pyrophosphate  
VLDL : Very Low-density Lipoprotein



# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Penggunaan pestisida di dunia saat ini mengalami perkembangan yang semakin meningkat. Pestisida ini banyak digunakan untuk membasmi hama dan penyakit tanaman, membersihkan lingkungan dari serangga pembawa penyakit, membasmi hama gudang dan sebagainya. Penggunaan pestisida dalam pertanian meningkat pesat di negara berkembang, terutama di Asia Tenggara, WHO telah melaporkan bahwa sekitar 20% pestisida digunakan di negara berkembang dengan peningkatan penggunaan oleh masyarakat (Sharma *et al.*, 2019).

Pestisida digunakan secara umum untuk mengendalikan gulma dan invasi serangga di lahan pertanian dan berbagai hama dan pengangkut penyakit (misalnya nyamuk, hewan pengerat, kutu dan tikus) di dalam rumah, tempat kerja, pusat perbelanjaan, dan jalan raya. Pestisida tidak bekerja secara spesifik, sehingga hal tersebut menimbulkan kekhawatiran terkait meningkatnya ancaman lingkungan terkait dengan paparannya melalui berbagai cara misalnya residu dalam makanan dan air minum (Kumar and Kumar, 2019).

Pestisida merupakan bahan beracun yang memiliki potensi menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan dan keanekaragaman hayati, menyebabkan resistensi, resurgensi, timbulnya hama baru, serta gangguan kesehatan manusia dan makhluk hidup lainnya, sehingga harus dikelola dengan penuh kehati-hatian (Kementan, 2015).

Dalam upaya meningkatkan mutu dan produktivitas hasil pertanian, penggunaan pestisida untuk membasmi hama sering tak terhindarkan. Pestisida yang digunakan diharapkan dapat membantu dalam mendapatkan keuntungan yang maksimal. Penggunaan pestisida secara berlebihan dan tidak terkendali seringkali memberikan risiko keracunan pestisida bagi petani.

Menurut WHO, terdapat 107.705 kasus orang meninggal dunia pada tahun 2015 akibat dari keracunan yang tidak disengaja. Proporsi kematian akibat keracunan pestisida tidak diketahui karena data terbatas, tetapi kemungkinan jumlahnya besar. Hal tersebut dikarenakan gejala keracunan khususnya pestisida dari golongan organofosfat dan karbamat tidak spesifik bahkan cenderung menyerupai gejala penyakit biasa seperti: pusing, mual, dan lemah. Gejala klinis baru akan timbul bila aktivitas *cholinesterase* 50 % dari normal atau lebih rendah. (Purba, 2010). Sebagian besar kasus keracunan pestisida diperkirakan terjadi dikalangan masyarakat berpenghasilan rendah dan negara berkembang. Paparan kronis terhadap pestisida telah dikaitkan dengan beberapa



kondisi kesehatan, seperti kanker, *amyotrophic lateral sclerosis* (ALS), asma, diabetes tipe II dan lain-lain (FAO, 2019). Di Indonesia, informasi kejadian keracunan pestisida pada tahun 2016, terdapat 771 kasus kejadian keracunan pestisida di seluruh wilayah provinsi di Indonesia (Badan POM, 2016).

Terdapat berbagai macam jenis pestisida yang digunakan oleh petani diantaranya Insektisida yang digunakan untuk membasmi serangga, herbisida diperuntukkan membasmi tumbuhan pengganggu tanaman dan fungisida digunakan untuk mengendalikan berbagai jenis penyakit pada tanaman yang disebabkan oleh jamur/cendawan. Pada sektor pertanian, jenis hama yang paling sering ditemukan adalah serangga dan beberapa diantaranya sebagai vektor penyakit. Terdapat 3200 merek pestisida yang terdaftar di Kementerian Pertanian, yang paling banyak digunakan adalah insektisida (Lestari, Denny and Setyaningsih, 2019).

Pada tahun 1996, data Departemen Kesehatan tentang monitoring keracunan pestisida organofosfat dan karbamat pada petani penjamah pestisida organofosfat dan karbamat di 27 provinsi Indonesia menunjukkan 61,8% petani mempunyai aktivitas *cholinesterase* normal, 1,3% keracunan berat dan 26,9% keracunan ringan. Pestisida jenis insektisida organofosfat dan karbamat paling banyak digunakan petani dalam membasmi serangga. Selain itu, pestisida jenis ini mudah dimonitor

dengan mengukur Aktivitas *cholinesterase* darah. Karena itu, Departemen Kesehatan mengukur aktivitas *cholinesterase* dalam darah untuk memonitor keracunan pestisida di tingkat petani (Rustia *et al.*, 2010).

Enzim *cholinesterase* darah dalam tubuh adalah merupakan enzim yang berperan dalam kestabilan tubuh untuk menjaga agar otot-otot, kelenjar dan sel-sel saraf bekerja secara harmonis. Data menunjukkan bahwa keracunan pestisida pada petani dapat dilihat dari hasil penelitian yang dilaksanakan oleh Dinas Kesehatan Propinsi Sulawesi Selatan yaitu dari 1.010 petani yang diperiksa aktivitas *cholinesterase* darah menunjukkan 225 petani mengalami keracunan (22,7%) dengan tingkat keracunan ringan 201 petani (89,33), keracunan sedang 22 petani (9,78%) dan berat 2 petani (0,89%) (Tampudu, Russeng and Rahim, 2010).

Pada tahun 2009 penelitian dilakukan pada 62 petani di Kanreapia, Kecamatan Tombolopao Kabupaten Gowa menunjukkan bahwa terdapat 22 orang (35,5 %) mengalami keracunan ringan dan keracunan sedang 6 orang (9,7 %). (Habibi, 2009). Pada tahun 2012 dilakukan penelitian untuk menilai aktivitas enzim *Cholinesterase* terkait penggunaan Alat pelindung diri (APD). Kelompok yang menggunakan APD memiliki pengaruh positif terhadap peningkatan aktivitas enzim *cholinesterase*. Sebaliknya jika tidak menggunakan APD, dapat menurunkan aktivitas enzim *cholinesterase* yang merupakan indikator keracunan pada petani sayur pengguna pestisida di Lingkungan Buluballea Kelurahan Pattapang Kecamatan

Tinggimoncong Kabupaten Gowa (Habibi, 2012). Pada tahun 2015 penelitian dilakukan di Kecamatan Tombolopao, Kabupaten Gowa terkait residu pestisida organofosfat jenis profenofos pada tomat menunjukkan bahwa konsentrasi rata-rata profenofos dalam sayur tomat yaitu 0,37003 mg/kg melebihi standar RfD US-EPA tahun 2006 yaitu 0,005 mg/kg/hari (Lagu, Habibi and Basri, 2015).

Dalam tubuh manusia terdapat enzim serum antioksidan PON1 (*Paraoxonase 1*) yang berfungsi sebagai antiinflamasi, anti oksidatif, anti aterogenik, anti diabetes, anti mikroba dan memiliki sifat hidrolisis organofosfat. Pada saat pestisida masuk ke dalam tubuh, maka akan berikatan dengan enzim *Cholinesterase* dan membentuk ikatan yang *irreversible* sehingga enzim *Cholinesterase* tidak dapat menghidrolisis asetilkolin. Paparan kronis organofosfat dalam tubuh dapat menyebabkan menurunnya kadar enzim PON1 (Muhtaroglu, Barlak Ketici and Ünlühizarci, 2016).

Paparan pestisida secara intensif dapat memengaruhi kemampuan hidrolisis enzim *paraoxonase 1* (PON1) sehingga memicu terjadinya *Reactive Oxygen Species* (ROS) yaitu radikal bebas berupa oksigen dan turunannya yang sangat reaktif. Radikal bebas dan *reactive oxygen species* (ROS) dapat menyebabkan kerusakan oksidatif terhadap molekul protein, DNA, lemak membran sel, dan komponen sel atau jaringan yang lain. *Reactive oxygen species* (ROS) dihasilkan pada saat terjadinya

metabolisme oksidatif dalam tubuh sebagai respon terhadap stressor metabolisme yang salah satunya disebabkan oleh senyawa kimia (Widayati, 2003).

Di dalam sel, *reactive oxygen species* (ROS) akan berikatan dengan *polyunsaturated fatty acids* (PUFA) dan menghasilkan *malondialdehid* (MDA). *Malondialdehid* ( $\text{CH}_2(\text{CHO})_2$ ) adalah suatu senyawa organik aldehid reaktif yang dapat menyebabkan stres toksik sel dan membentuk sumbatan protein pada sel. Peningkatan produksi ROS yang berlangsung terus-menerus dapat menyebabkan stres oksidatif yang dapat menyebabkan kerusakan sel. Stres oksidatif dapat dipantau dengan melihat perubahan kadar *Malondialdehid* (Budi, Kadri and Asri, 2019).

Mekanisme terjadinya keracunan organofosfat diawali dengan terpaparnya petani dengan pestisida organofosfat baik melalui kulit, penafasan maupun melalui makanan. Pestisida kemudian diabsorpsi dan masuk dalam proses metabolisme, didistribusikan dan disimpan ke dalam jaringan lemak. Dengan demikian biotransformasi di dalam bagian tubuh akan terdapat di dalam darah, urin, jaringan lemak dan sebagainya. Setelah diserap usus, maka substansi *lipophilicya* akan diekskresikan ke dalam empedu sebagai akibat resirkulasi enterhepatik (Raini, 2007).

Pada saat pestisida masuk ke dalam tubuh, maka akan menghambat kerja enzim *cholinesterase*. Enzim *Cholinesterase* berfungsi untuk mengkatalisis hidrolisis neurotransmitter asetilkolin (ACh) menjadi kolin dan asam asetat. Asetilkolin merupakan bahan penghantar rangsang saraf (*neurotransmitter*), Asetilkolin disintesis di dalam ujung serabut saraf motorik melalui proses asetilasi kolin ekstrasel dan asetil koenzim A yang memerlukan enzim kolinasetil transferase di ujung terminal saraf. Reaksi antara pestisida dan enzim *cholinesterase* akan menghasilkan senyawa "*Phosphorylated Cholinesterase*", pengikatan antara organofosfat dan *Cholinesterase* yang hampir irreversible. Kadar aktif dari enzim *cholinesterase* akan berkurang karena enzim tersebut tidak dapat berfungsi lagi (Raini, 2007).

Karena *cholinesterase* tidak dapat memecahkan *acetylcholine*, maka impuls syaraf mengalir terus (konstan) menyebabkan suatu kontraksi otot yang cepat dan akhirnya mengarah kepada kelumpuhan. Tubuh akan menghasilkan enzim serum *Paraoxonase-1* (PON1) sebagai reaksi dari adanya pajanan pestisida di dalam tubuh. PON1 berfungsi untuk menghidrolisis paraoxon, metabolit oxon toksik dari parathion insektisida. PON1 disintesis oleh hati, disekresikan ke darah, dan berikatan dengan partikel HDL (Furlong *et al.*, 2016).

Penelitian terkait korelasi antara Paraoxonase-1 dan enzim *cholinesterase* dikaitkan dengan pajanan pestisida organofosfat menunjukkan bahwa aktifitas enzim PON1 yang tinggi dapat meminimalisir efek dari pestisida organofosfat (Richard, Frank and Souza, 2013).

Ketika PON1 tidak mampu menghirolisis organofosfat akibat dari pajanan pestisida yang terus menerus, maka oxon toksik pestisida akan berubah menjadi radikal bebas di dalam tubuh. Peningkatan ROS dan radikal bebas dapat menyebabkan terjadinya kondisi stres oksidatif serta memicu terjadinya peroksidasi lipid pada membran sel yang akan menghasilkan *malondialdehid* (MDA) (Bachtiar, Bukhari and Hadju, 2020).

Di dalam sistem biokimia terdapat keseimbangan antara prooksidan dan antioksidan, sehingga jaringan tubuh terhindar dari kerusakan akibat ROS. Ketika terjadi peningkatan kadar ROS, tubuh akan merespon dengan memproduksi enzim SOD, CAT, dan GPx, untuk menetralkan ROS. Namun demikian tetap ada sebagian ROS yang masih tersisa, terutama bila produksi ROS berlebihan. Untuk meredam ROS yang masih tersisa perlu disediakan antioksidan tambahan seperti vitamin C, vitamin E, asam urat, polyfenol (flavonoid), dll untuk meminimalisir efek ROS tersebut (Widayati, 2003).

Indonesia sangat kaya akan tanaman yang mengandung senyawa antioksidan dan sudah terbiasa dikonsumsi secara turun temurun baik itu berupa sayur-sayuran maupun buah-buahan. Paku sayur (*Diplazium esculentum*) adalah salah satu keanekaragaman hayati yang sering dimanfaatkan oleh masyarakat, tidak hanya dikonsumsi sebagai makanan lezat, sayuran mentah, ataupun salad akan tetapi bagi sebagian masyarakat juga menganggap memiliki berbagai khasiat untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit. Paku sayur (*Diplazium esculentum*) mengandung senyawa aktif meliputi steroid, triterpenoid, fenol, flavon, dan flavonoid (Kaushik *et al.*, 2014).

Penelitian secara *in vitro* aktivitas uji antioksidan pada *Diplazium esculentum* menunjukkan bahwa kandungan antioksidan mencapai 27,4% hingga 33,22% dengan uji *ferric thiocyanate* (TBC) dan thiobarbituric acid (TBA) (Roy, Dutta and Chaudhuri, 2015). Pada penelitian lain, ekstrak *Diplazium esculentum* memiliki kandungan antimikroba dan aktivitas sitotoksik. Potensi antioksidan dari *Diplazium esculentum* yaitu mengandung senyawa flavonoid. Terbukti bahwa daun *Diplazium esculentum* dapat digunakan sebagai antioksidan alami, agen antimikroba dan sitotoksik (Akter *et al.*, 2014).

Flavonoid merupakan salah satu kandungan metabolit sekunder terbanyak yang dikonsumsi manusia sebagai antioksidan yang bersifat melawan radikal bebas, dan terbukti mampu menurunkan risiko PTM.

Penelitian pada subjek berusia  $\geq 19$  tahun menunjukkan asupan flavonoid mampu menurunkan risiko kanker 41%, PJK 18%, hipertensi 9%, DM 8%, gagal jantung 19%, dan stroke 10% (McCullough *et al.*, 2012).

Penelitian secara *in vitro* uji aktifitas anti bakteri *Diplazium esculentum* terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menunjukkan bahwa Konsentrasi ekstrak metanol ental muda *Diplazium esculentum* yang menghasilkan zona hambat paling besar dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* adalah konsentrasi 100%, sedangkan konsentrasi ekstrak ental muda *Diplazium esculentum* yang menghasilkan daya hambat paling besar pada pertumbuhan *escherichia coli* adalah konsentrasi 70%. Adanya zona hambat yang terbentuk dikarenakan *Diplazium esculentum* menghasilkan senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, terpenoid, dan saponin yang dapat merusak dinding sel dan mengganggu permeabilitas membrane (Husna, Sulasmi and Witjoro, 2013). Pada penelitian *in vivo* uji aktifitas anti inflamasi *Diplazium esculentum* terhadap mencit jantan menunjukkan bahwa ekstrak etanol *Diplazium esculentum* memiliki efek anti inflamasi terhadap mencit jantan. Dosis potensial sebagai anti inflamasi adalah 125 mg/KgBB (Husna, Sulasmi and Witjoro, 2013).

Uji aktifitas antioksidan *Diplazium esculentum* dengan metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-picryl Hidrazil) dari penapisan fitokimia menunjukkan bahwa *Diplazium esculentum* mengandung senyawa flavonoid,



monoterpen dan sescquiterpen, steroid, triterpenoid serta kuinon (Syafitri, Purwanti and Sadiyah, 2007).

Uji aktifitas antioksidan *Diplazium esculentum* secara in vivo pada tikus menunjukkan bahwa ekstrak hidroalkohol daun *Diplazium esculentum* mengurangi tingkat peroksidasi lipid dan tingkat enzim antioksidan cukup kembali ke normal. Uji aktifitas antioksidan secara in vitro hidroalkohol daun *Diplazium esculentum* (DEHAe) dalam menetralkan radikal bebas dengan mengacu pada asam askorbat sebagai standar. Menunjukkan bahwa Nilai IC50 aktivitas antioksidan ditemukan 138,8 mg / mL dan 125,2 mg / mL asam askorbat (Junejo *et al.*, 2018).

*Diplazium esculentum* telah terbukti memiliki kandungan senyawa antioksidan, dapat menjadi anti inflamasi, anti bakteri, anti diabetes, mengurangi risiko hyperlipidemia, Hepatoprotektif (pelindung hati) adalah senyawa obat yang memiliki efek terapeutik, untuk memulihkan, memelihara, dan mengobati kerusakan dari fungsi hati sehingga *Diplazium esculentum* dapat dikonsumsi sebagai salah satu pilihan sayur (Junejo *et al.*, 2018).

Akan tetapi, hingga saat ini belum ada penelitian terkait antioksidan *Diplazium esculentum* yang dikorelasikan dengan kadar enzim *cholinesterase*, PON1 dan MDA pada manusia. Penelitian terkait uji toksisitas dan fitokimia *Diplazium esculentum* menunjukkan bahwa

tanaman *Diplazium esculentum* tidak beracun dan aman untuk digunakan manusia (Junejo *et al.*, 2015).

Kecamatan Tombolopao merupakan salah satu tempat tumbuh paku sayur (*Diplazium esculentum*) dan menjadi sayur khas paling digemari oleh masyarakat. Kecamatan Tombolopao adalah sentra pertanian untuk tanaman sayuran dan hortikultura lainnya di Kabupaten Gowa bersama Kecamatan Tinggimoncong, Tompobulu dan Biringbulu. Sub-sektor usaha tanaman pangan dan hortikultura merupakan penyumbang terbesar terhadap sub-sektor pertanian yaitu tercatat sebesar 60,9% dari seluruh nilai tambah pertanian di Kabupaten Gowa. Ada beragam jenis tanaman hortikultura khas dataran menengah dan tinggi yang merupakan produksi wilayah ini seperti jenis sayuran kubis, cabe, tomat, bawang, kentang, wortel, kol bunga, brokoli dan masih banyak lagi, serta jenis buah markisa dan beraneka ragam tanaman hias yang potensial (BPS Gowa, 2017).

Berdasarkan latar belakang diatas maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh *Diplazium esculentum* sebagai pangan lokal terhadap kadar enzim *cholinesterase*, *paraoxonase-1* (PON1) dan *malondialdehid* (MDA) pada petani yang terpapar dengan pestisida.

## 1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh pemberian *Diplazium esculentum* terhadap kadar enzim *cholinesterase*, *Paraoxonase-1* dan *Malondialdehid* pada petani sayur di Desa Kanreapia kecamatan Tombolopao dengan paparan pestisida?

## 1.3 Tujuan penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh *Diplazium esculentum* terhadap kadar enzim *cholinesterase*, *paraoxonase-1* dan *malondialdehid* pada petani sayur pengguna pestisida di Desa Kanreapia Kecamatan Tombolopao, Kabupaten Gowa.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Menghasilkan produk dari *Diplazium esculentum* sebagai antioksidan alami untuk pencegahan keracunan pestisida.
- b. Menentukan efektifitas pemberian *Diplazium esculentum* terhadap kadar enzim *cholinesterase*, *paraoxonase-1* dan *malondialdehid* pada petani sayur pengguna pestisida di Desa Kanreapia Kecamatan Tombolopao, Kabupaten Gowa
- c. Menentukan perubahan gejala klinis terhadap sampel yang diberikan *Diplazium esculentum* dibandingkan dengan sampel yang tidak diberikan.

## **1.4 Manfaat penelitian**

### **1.4.1 Bidang Akademik**

- a. Menggali potensi paku sayur (*Diplazium esculentum*) sebagai sumber antioksidan dan memberikan bukti ilmiah tentang pemanfaatan paku sayur (*Diplazium esculentum*) secara empiris oleh masyarakat untuk mengurangi efek keterpaparan pestisida.
- b. Memberi informasi ilmiah tentang paku sayur (*Diplazium esculentum*) dalam meningkatkan kinerja *paraoxonase-1* dalam menghidrolisis pestisida.
- c. Sebagai bahan informasi untuk dapat menambah dan melengkapi literatur serta merupakan referensi bagi peneliti selanjutnya.

### **1.4.2 Manfaat Praktis**

- a. Sebagai bahan informasi untuk menjadi masukan dalam pengambilan keputusan/kebijakan dalam penggunaan pestisida dan bagi para petani.
- b. Sebagai sumber informasi bagi masyarakat mengenai tingkat keracunan atau kadar enzim *cholinesterase*, *paraoxonase-1* (PON1), *malondialdehid* (MDA) dan stres oksidatif akibat penggunaan pestisida yang tidak tepat dan upaya yang dilakukan untuk mendetoksifikasi racun yang masuk dalam tubuh

dengan mengkonsumsi pangan lokal yang kaya dengan antioksidan (*Diplazium esculentum*).

- c. Menunjang berkembangnya berbagai industri terkait di Indonesia, khususnya pangan yang berasal dari paku sayur (*Diplazium esculentum*).

### **1.5 Nilai Kebaharuan Penelitian (*Novelty*)**

- a. Belum pernah dilakukan penelitian *Diplazium esculentum* yang diujicobakan terhadap petani sayur pengguna pestisida dengan kadar enzim *cholinesterase*, *Paraoxonase-1* dan *malondialdehid*.
- b. Menghasilkan produk dari tumbuhan *Diplazium esculentum* sebagai antioksidan alami yang bermanfaat bagi masyarakat.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Keracunan Pestisida**

Menurut Kementerian Pertanian RI tahun 2015 kata Pestisida berasal dari rangkaian kata *pest* yang berarti hama dan *cida* atau *sida* yang berarti membunuh (Kementan, 2015). Pestisida adalah semua zat kimia atau bahan lain serta jasad renik dan virus yang digunakan untuk beberapa tujuan berikut:

- a. Memberantas atau mencegah hama dan penyakit yang merusak tanaman, bagian-bagian tanaman atau hasil-hasil pertanian.
- b. Memberantas rerumputan.
- c. Mematikan daun dan mencegah pertumbuhan yang tidak diinginkan.
- d. Mengatur dan merangsang pertumbuhan tanaman atau bagian-bagian tanaman (tidak termasuk golongan pupuk).
- e. Memberantas atau mencegah hama-hama luar pada hewan piaraan dan ternak.
- f. Memberantas atau mencegah hama-hama air.
- g. Memberantas atau mencegah binatang-binatang dan jasad renik dalam rumah tangga, bangunan, dan dalam alat-alat pengangkutan.

- h. Memberantas atau mencegah binatang-binatang yang bisa menyebabkan penyakit pada manusia.

### **2.1.1 Jenis-jenis Pestisida**

Pestisida dapat diklasifikasikan berdasarkan sifatnya, targetnya/ sasaran, cara kerjanya atau efek keracunannya dan berdasarkan struktur kimianya (Hudayya and Jayanti, 2013).

Adapun jenis-jenis pestisida yaitu:

- a. Berdasarkan atas sifat pestisida dapat digolongkan menjadi: bentuk padat, bentuk cair, bentuk asap (*aerosol*), bentuk gas (*fumigan*).
- b. Berdasarkan organ targetnya/sasarannya dapat diklasifikasikan sebagai berikut:
  - 1) Insektisida berfungsi untuk membunuh atau mengendalikan serangga
  - 2) Herbisida berfungsi untuk membunuh gulma
  - 3) Fungisida berfungsi untuk membunuh jamur atau cendawan
  - 4) Algasida berfungsi untuk membunuh alga
  - 5) Rodentisida berfungsi untuk membunuh binatang pengerat
  - 6) Akarisida berfungsi untuk membunuh tungau atau kutu
  - 7) Bakterisida berfungsi untuk membunuh atau melawan bakteri
  - 8) Moluskisida berfungsi untuk membunuh siput
- c. Berdasarkan cara Kerja atau efek keracunannya dapat digolongkan sebagai berikut:

- 1) Racun kontak adalah membunuh sarasannya bila pestisida mengenai kulit hewan sarasannya.
  - 2) Racun perut adalah membunuh sarasannya bila pestisida tersebut termakan oleh hewan yang bersangkutan.
  - 3) Fumigan adalah senyawa kimia yang membunuh sarasannya melalui saluran pernafasan.
  - 4) Racun sistemik adalah pestisida dapat diisap oleh tanaman, tetapi tidak merugikan tanaman itu sendiri di dalam batas waktu tertentu dapat membunuh serangga yang menghisap atau memakan tanaman tersebut
- d. Berdasarkan cara kerjanya (*Mode of action*), yaitu menurut sifat kimianya, insektisida dibagi menjadi empat 4 golongan besar seperti uraian berikut ini :
- 1) Golongan Organoklorin  
Merupakan bagian dari kelas yang lebih luas dari *halogenated hydrocarbon*, termasuk diantaranya dan terkenal sebagai penyebab masalah yaitu *Polychlorinated biphenyls* dan *dioxin*. Sebagai kelompok, insektisida *organoklorin* merupakan racun terhadap susunan saraf (*neurotoxins*) yang merangsang sistem saraf baik pada serangga maupun mamalia, menyebabkan tremor dan kejang-kejang.
  - 2) Golongan Organofosfat



Pestisida golongan organofosfat makin banyak digunakan karena sifat-sifatnya yang menguntungkan bagi para petani. Cara kerja golongan ini selektif, tidak persisten dalam tanah, dan tidak menyebabkan resisten pada serangga. Bekerja sebagai racun kontak, racun perut dan juga racun pernapasan. Golongan organofosfat bekerja dengan cara menghambat aktivitas enzim *cholinesterase*, sehingga asetilkolin tidak terhidrolisa. Oleh karena itu, keracunan pestisida golongan organofosfat disebabkan oleh asetilkolin yang berlebihan, mengakibatkan perangsangan secara terus-menerus pada saraf. Keracunan ini dapat terjadi melalui mulut, inhalasi dan kulit.

### 3) Golongan Karbamat

Karbamat pestisida golongan carbamat merupakan racun kontak, racun perut dan racun pernapasan. Bekerja sama seperti golongan organofosfat, yaitu menghambat aktivitas enzim *cholinesterase*. Jika terjadi keracunan yang disebabkan oleh golongan karbamat, gejalanya sama seperti pada keracunan organofosfat, tetapi lebih mendadak dan tidak lama karena efeknya terhadap enzim *cholinesterase* tidak persisten.

### 4) Golongan Piretroid

Insektisida dari kelompok piretroid merupakan analog dari piretrum yang menunjukkan efikasi yang lebih tinggi terhadap serangga dan pada umumnya toksisitasnya terhadap mamalia

lebih rendah dibandingkan dengan insektisida lainnya. Namun kebanyakan diantaranya sangat toksik terhadap ikan, tawon madu dan serangga berguna lainnya. Bekerjanya terutama secara kontak dan tidak sistemik (Hudayya and Jayanti, 2013).

### **2.1.2 Pestisida Organofosfat**

Organofosfat merupakan ester fosfat (OPEs) yang termasuk golongan senyawa organofosfor dengan struktur umum  $O=P(OR)_3$ , pestisida organofosfat (OPs). Insektisida organofosfat dihasilkan dari asam fosfarik yang dikenal sangat beracun terhadap mamalia. Organofosfat bekerja sebagai racun perut, racun kontak, dan beberapa diantaranya racun inhalasi. Pestisida organofosfat (Ops) ketika masuk ke dalam tubuh akan menghambat enzim *cholinesterase* di sistem saraf memicu stimulasi kolinergik berlebih pada sistem saraf perifer, sentral, dan otonom (Hulse *et al.*, 2015).

Menurunnya kemampuan menghidrolisis asetilkolin, mengakibatkan asetilkolin lebih lama di reseptor, dan akan memperhebat dan memperpanjang efek rangsang saraf kolinergik pada sebelum dan sesudah ganglion (*pre-dan postganglionic*) (Dhamayanti and Saftarina, 2018).

Bahan aktif insektisida organofosfat diantaranya *Asefat, Azametifos, Azinfos-etil, Azinfosmetil, Kadusafos, Koretoksifos, Klorfenvinfos, Klormefos, Klorpirifos, Klorpirifos-metil, Koumafos, Sianofos, Demeton-S-metil, Diazinon, Diklorfos/ DDVP, Dikrotofos, Dimetoat, Dimetilvinfos,*

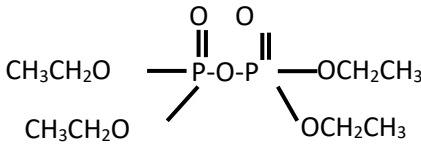
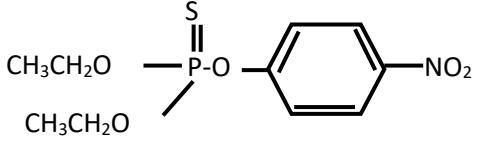
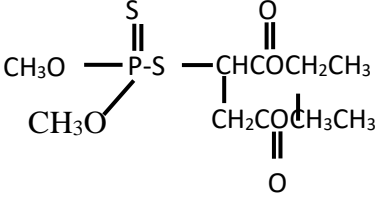
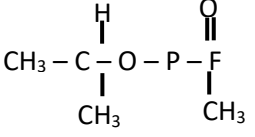
*Disulfoton, EPN, Etion, Etoprofos, Famfur, Fenamifos, Fenitrothion, Fention, Fostiazat, Heptenofos, Imisiafos, Isofenfos, Isoprofil O-(metoksiaminotiofosforil) salisilat, Isoksation, Malation, Mekarbam, Metamidofos, Metidation, Mevinfos, Monokrotofos, Naled, Ometoat, Oksidemeton-metil, Paration, Paration-metil, Fentoat, Forat, Fosalon, Fosmet, Fosfamidon, Foksim, Pirimifos- metil, Profenofos, Propetamfos, Protiofos, Firaklofos, Firidafention, Kuinalfos, Sulfotep, Tebupirimfos, Temefos, Terbufos, Tetraklorvinfos, Tiometon, Triazofos, Triklorfon, Vamidotion* (Hudayya and Jayanti, 2013).

### **2.1.3 Struktur Komponen Pestisida Organofosfat**

Pestisida organofosfat ditemukan pertama kali di Jerman pada awal perang dunia ke II. Bahan tersebut digunakan untuk gas saraf sesuai dengan tujuannya sebagai insektisida. Pada awal sintesisnya diproduksi senyawa *Tetraethyl Pyrophosphate* (TEPP), *Parathion* dan *Schordan* yang sangat efektif sebagai insektisida, tetapi juga cukup toksik terhadap mamalia (Sungkawa, 2008).

Berikut dibawah ini beberapa struktur kimia pestisida organofosfat :

Tabel 2.1 Struktur kimia organofosfat

Nama	Struktur
<b>Tetraethyl/Pyrophosphate (TEPP)</b>	
<b>Parathion</b>	
<b>Malathion</b>	
<b>Sarin</b>	

Terdapat 11 jenis pestisida yang termasuk dalam golongan organofosfat. (Runia, 2008).

Pestisida yang termasuk dalam golongan organofosfat antara lain :

- d. *Asefat*, diperkenalkan pada tahun 1972. *Asefat* berspektrum luas untuk mengendalikan hama-hama penusuk-penghisap dan

pengunyah seperti *aphids*, *thrips*, larva *Lepidoptera* (termasuk ulat tanah), penggrogok daun dan wereng. LD50 (tikus) sekitar 1.030 -1.147 mg/kg; LD50 dermal (kelinci) > 10.000 mg/kg menyebabkan iritasi ringan pada kulit (kelinci).

- e. *Kadusafos*, merupakan insektisida dan nematisida racun kontak dan racun perut. LD50 (tikus) sekitar 37,1 mg/kg; LD50 dermal (kelinci) 24,4 mg/kg tidak menyebabkan iritasi kulit dan tidak menyebabkan iritasi pada mata.
- f. *Klorfenvinfos*, diumumkan pada tahun 1962. Insektisida ini bersifat nonsistemik serta bekerja sebagai racun kontak dan racun perut dengan efek residu yang panjang. LD50 (tikus) sekitar 10 mg/kg; LD50 dermal (tikus) 31-108 mg/kg.
- g. *Klorpirifos*, merupakan insektisida non-sistemik, diperkenalkan tahun 1965, serta bekerja sebagai racun kontak, racun lambung, dan inhalasi. LD50 oral (tikus) sebesar 135-163 mg/kg; LD50 dermal (tikus) > 2.000 mg/kg berat badan.
- h. *Kumafos*, ditemukan pada tahun 1952. Insektisida ini bersifat non-sistemik untuk mengendalikan serangga hama dari ordo Diptera. LD50 oral (tikus) 16 - 41 mg/kg; LD50 dermal (tikus) > 860 mg/kg.
- i. *Diazinon*, pertama kali diumumkan pada tahun 1953. *Diazinon* merupakan insektisida dan akarisida non-sistemik yang bekerja sebagai racun kontak, racun perut, dan efek inhalasi. Diazinon juga

diaplikasikan sebagai bahan perawatan benih (seed treatment). LD50 oral (tikus) sebesar 1.250 mg/kg.

- j. *Diklorvos* (DDVP), dipublikasikan pertama kali pada tahun 1955. Insektisida dan akarisida ini bersifat non-sistemik, bekerja sebagai racun kontak, racun perut, dan racun inhalasi. *Diklorvos* memiliki efek knockdown yang sangat cepat dan digunakan di bidang-bidang pertanian, kesehatan masyarakat, serta insektisida rumah tangga. LD50 (tikus) sekitar 50 mg/kg; LD50 dermal (tikus) 90 mg/kg.
- k. *Malation*, diperkenalkan pada tahun 1952. Malation merupakan pro-insektisida yang dalam proses metabolisme serangga akan diubah menjadi senyawa lain yang beracun bagi serangga. Insektisida dan akarisida non-sistemik ini bertindak sebagai racun kontak dan racun lambung, serta memiliki efek sebagai racun inhalasi. Malation juga digunakan dalam bidang kesehatan masyarakat untuk mengendalikan vektor penyakit. LD50 oral (tikus) 1.375 - 2.800 mg/kg; LD50 dermal (kelinci) 4.100 mg/kg.
- l. *Paration*, ditemukan pada tahun 1946 dan merupakan insektisida pertama yang digunakan di lapangan pertanian dan disintesis berdasarkan lead-structure yang disarankan oleh G. Schrader. *Paration* merupakan insektisida dan akarisida, memiliki mode of action sebagai racun saraf yang menghambat *cholinesterase*, bersifat non-sistemik, serta bekerja sebagai racun kontak, racun lambung, dan

racun inhalasi. Paration termasuk insektisida yang sangat beracun, LD50 (tikus) sekitar 2 mg/kg; LD50 dermal (tikus) 71 mg/kg.

m. *Profenofos*, ditemukan pada tahun 1975. Insektisida dan akarisisida non-sistemik ini memiliki aktivitas translaminar dan *ovisida*. *Profenofos* digunakan untuk mengendalikan berbagai serangga hama (terutama Lepidoptera) dan tungau. LD50 (tikus) sekitar 358 mg/kg; LD50 dermal (kelinci) 472 mg/kg.

n. *Triazofos*, ditemukan pada tahun 1973. Triazofos merupakan insektisida, akarisisida, dan nematisida berspektrum luas yang bekerja sebagai racun kontak dan racun perut. *Triazofos* bersifat non-sistemik, tetapi bisa menembus jauh ke dalam jaringan tanaman (translaminar) dan digunakan untuk mengendalikan berbagai hama seperti ulat dan tungau. LD50 (tikus) sekitar 57 - 59 mg/kg; LD50 dermal (kelinci) > 2.000 mg/kg (Runia, 2008).

#### **2.1.4 Patofisiologi**

Pestisida masuk ke dalam tubuh melalui beberapa cara kulit, Pertama absorpsi melalui kulit berlangsung terus selama pestisida masih ada dikulit. Kedua melalui mulut (tertelan) karena kecelakaan, kecerobohan atau sengaja (bunuh diri) akan mengakibatkan keracunan berat hingga mengakibatkan kematian. Ketiga melalui pernafasan dapat berupa bubuk, droplet atau uap dapat menyebabkan kerusakan serius pada hidung, tenggorokan jika terhisap cukup banyak (Pamungkas, 2016).

- a. Pestisida meracuni tubuh manusia dengan mekanisme kerja memengaruhi kerja enzim/hormon. Enzim dan hormon terdiri dari protein kompleks yang dalam kerjanya perlu adanya activator atau cofaktor yang biasanya berupa vitamin. Bahan racun yang masuk kedalam tubuh dapat menonaktifkan aktivator sehingga enzim atau hormon tidak dapat bekerja atau langsung non aktif. Pestisida masuk dan berinteraksi dengan sel sehingga akan menghambat atau mempengaruhi kerja sel, contohnya gas CO menghambat hemoglobin dalam mengikat atau membawa oksigen.
- b. Merusak jaringan sehingga timbul *histamine* dan *serotine*. Ini akan menimbulkan reaksi alergi, juga kadang-kadang akan terjadi senyawa baru yang lebih beracun.
- c. Fungsi detoksikasi hati (*hepar*). Pestisida yang masuk ketubuh akan mengalami proses detoksikasi (dinetralisasi) di dalam hati oleh fungsi hati (*hepar*). Senyawa racun ini akan diubah menjadi senyawa lain yang sifatnya tidak lagi beracun terhadap tubuh (Pamungkas, 2016).

#### **2.1.5 Cara Masuk Pestisida ke Tubuh Manusia**

Keracunan pestisida adalah masuknya bahan-bahan kimia kedalam tubuh manusia melalui kontak langsung, inhalasi, ingesti dan absorpsi sehingga menimbulkan dampak negatif bagi tubuh. Penggunaan pestisida dapat mengkontaminasi pengguna secara langsung sehingga mengakibatkan keracunan (Runia, 2008; Hamidun, 2017).



a. Kontaminasi Melalui Kulit (*dermal contamination*)

Pestisida yang menempel di permukaan kulit bias meresap masuk ke dalam tubuh dan menimbulkan keracunan. Kejadian kontaminasi lewat kulit merupakan kontaminasi yang paling sering terjadi, meskipun tidak seluruhnya berakhir dengan keracunan akut. Lebih dari 90% kasus keracunan diseluruh dunia disebabkan oleh kontaminasi lewat kulit. Risiko bahaya karena kontaminasi lewat kulit dipengaruhi oleh faktor sebagai berikut:

- 1) Toksitas dermal (dermal LD50) pestisida yang bersangkutan maka makin rendah angka LD 50 makin berbahaya.
- 2) Konsentrasi pestisida yang menempel pada kulit, yaitu semakin pekat pestisida maka semakin besar bahayanya.
- 3) Formulasi pestisida misalnya formulasi EC dan ULV atau formulasi cair lebih mudah diserap kulit dari pada formulasi butiran.
- 4) Jenis atau bagian kulit yang terpapar yaitu mata misalnya mudah sekali meresapkan pestisida. Kulit punggung tangan lebih mudah meresapkan pestisida dari pada kulit telapak tangan.
- 5) Luas kulit yang terpapar pestisida yaitu makin luas kulit yang terpapar makin besar risikonya.
- 6) Kondisi fisik yang yang bersangkutan. Semakin lemah kondisi fisik seseorang, maka semakin tinggi risiko keracunannya

b. Melalui saluran pernapasan (*inhalation*)

Keracunan pestisida karena partikel pestisida terhisap lewat hidung merupakan yang terbanyak kedua sesudah kontaminasi kulit. Gas dan partikel semprotan yang sangat halus (misalnya, kabut asap dari fogging) dapat masuk kedalam paru-paru, sedangkan partikel yang lebih besar akan menempel di selaput lendir hidung atau di kerongkongan. Bahaya penghirupan pestisida lewat saluran pernapasan juga dipengaruhi oleh LD 50 pestisida yang terhirup dan ukuran partikel dan bentuk fisik pestisida.

Pestisida berbentuk gas yang masuk ke dalam paru-paru dan sangat berbahaya. Partikel atau droplet yang berukuran kurang dari 10 mikron dapat mencapai paru-paru, namun droplet yang berukuran lebih dari 50 mikron mungkin tidak mencapai paru-paru, tetapi dapat menimbulkan gangguan pada selaput lendir hidung dan kerongkongan. Gas beracun yang terhisap ditentukan oleh:

- 1) Konsentrasi gas di dalam ruangan atau di udara
- 2) Lamanya paparan
- 3) Kondisi fisik seseorang (pengguna)

Pekerjaan-pekerjaan yang menyebabkan terjadinya kontaminasi lewat saluran pernafasan adalah:

- 1) Bekerja dengan pestisida (menimbang, mencampur dan sebagainya) di ruangan tertutup atau yang ventilasinya buruk.
- 2) Aplikasi pestisida berbentuk gas atau yang akan membentuk gas (misalnya fumigasi), aerosol serta fogging, terutama aplikasi di

dalam ruangan; aplikasi pestisida berbentuk tepung (misalnya tepung hembus) mempunyai risiko tinggi.

- 3) Mencampur pestisida berbentuk tepung (debu terhisap pernapasan)

c. Masuknya ke dalam saluran pencernaan makanan melalui mulut (oral)

Peristiwa keracunan lewat mulut sebenarnya tidak sering terjadi dibandingkan dengan kontaminasi kulit. Keracunan lewat mulut dapat terjadi karena beberapa hal berikut:

- 1) Kasus bunuh diri.
- 2) Makan, minum, dan merokok ketika bekerja dengan pestisida.
- 3) Menyeka keringat di wajah dengan tangan, lengan baju, atau sarung tangan yang terkontaminasi pestisida.
- 4) Drift (butiran halus) pestisida terbawa angin masuk ke mulut.
- 5) Meniup kepala penyembur (*nozzle*) yang tersumbat dengan mulut, pembersihan *nozzle* dilakukan dengan bantuan pipa kecil.
- 6) Makanan dan minuman terkontaminasi pestisida, misalnya diangkat atau disimpan dekat pestisida yang bocor atau disimpan dalam bekas wadah atau kemasan pestisida.
- 7) Kecelakaan khusus, misalnya pestisida disimpan dalam bekas wadah makanan atau disimpan tanpa label sehingga salah ambil.

### 2.1.6 Gejala Keracunan Pestisida

Gejala klinis adalah tanda atau keluhan tertentu yang belum memenuhi kriteria diagnosis penyakit tertentu dan sindrom tertentu atau keluhan subjektif yang dialami oleh petani sayur pengguna pestisida (Supriono, 2017).

Tabel 2.2. Gejala Klinis dan Tingkat Keracunan Pestisida

<b>Aktivitas Cholinesterase (%)</b>	<b>Tingkat Keracunan</b>	<b>Gejala Klinis</b>
75- 100%	Normal	
50-75%	Keracunan Ringan	Letih, lemah, limbung, mual, pandangan kabur
25-50%	Keracunan Sedang	Nyeri kepala, berkeringat, berair mata, mengeluarkan air liur, muntah, pandangan kabur, kedutan otot
0-25	Berat	Kejang perut, buang air, diare, tremor (kejang) otot, berjalan sempoyongan, penyempitan pupil mata, hipotensi (tekanan darah yang rendah), denyut jantung lambat, gangguan pernapasan

Sumber: Suma'mur 1987 dalam (Marisa and Pratuna, 2018) dan (Kemenkes, 2016)

Setiap pestisida memiliki pengaruh atau efek yang berbeda terhadap kesehatan manusia. Dampak Kesehatan berdasarkan jenis pestisida dapat dilihat pada tabel dibawah ini :

Tabel 2.3 Golongan pestisida dan dampak kesehatan

No	Golongan Pestisida	Gejala dan Tanda
1	Organoklorin	Mual, muntah, gelisah, lemah, rasa menusuk pada kulit, kejang otot, hilang koordinasi, tidak sadar
2	Organofosfat dan karbamat	Lelah, sakit kepala, pusing, hilang selera makan, mual, kejang perut, diare, penglihatan kabur, keluar air mata, keringat dan air liur berlebih, tremor, pupil mengecil, denyut jantung lambat, kejang otot, tidak sanggup berjalan, rasa tidak nyaman dan sesak, buang air besar dan kecil tidak terkontrol, inkontinensi, tidak sadar dan kejang-kejang
3	Piretroid Sintetik	Iritasi kulit, pedih, rasa terbakar, gatal-gatal, rasa geli, mati rasa, inkoordinasi, tremor, berkurangnya pendengaran dan perasa, salivasi, muntah, diare, iritasi pada pendengaran dan perasa
4	Piretroid derivat : tanaman piretrun dan piretrin	Alergi, iritasi kulit dan asma
5	Insektisida anorganik asam, borat dan borat	Iritasi kulit : kulit kemerahan, pengelupasan, gatal-gatal pada kaki, bokong dan kemaluan, Iritasi saluran pernafasan dan sesak napas
6	Insektisida mikroba : Bacillus thuringiensis	Radang saluran pencernaan
7	DEET repellent	Iritasi kulit, kulit kemerahan, melepuh hingga nyeri, iritasi mata, pusing, perubahan emosi

Sumber : (Kemenkes, 2016)

### 2.1.7 Enzim *Cholinesterase* sebagai Indikator Keracunan

Kadar enzim *cholinesterase* adalah jumlah enzim *cholinesterase* aktif di dalam plasma pestisida organofosfat. *Cholinesterase* adalah keluarga enzim yang mengkatalisis hidrolisis neurotransmitter asetilkolin (ACh) menjadi kolin dan asam asetat (Colovic *et al.*, 2013).

### 2.1.8 Jenis-jenis Enzim *Cholinesterase*

Terdapat 2 jenis enzim *cholinesterase*, diantaranya :

#### a. *Asetilcholinesterase*

*Asetilcholinesterase* (AChE, *asetilkolin asetilhidrolase*) ditemukan di banyak jenis jaringan saraf dan otot, jaringan pusat dan perifer, motorik dan serat sensorik, serta kolinergik dan nonkolinergik serat. Aktivitas AChE lebih tinggi di neuron motorik daripada di neuron sensorik. AChE dapat ditemukan di sel darah merah (Colovic *et al.*, 2013).

#### b. *Pseudocholinesterase* (BuChE)

Dikenal sebagai *cholinesterase* plasma, *butirilcholinesterase*, atau *acylcholine acylhydrolase*, ditemukan terutama di hati. Berbeda dengan AChE, BuChE menghidrolisis butirilkolin lebih cepat dari AChE.

Ada dua tipe *cholinesterase* dalam darah, yang satu terdapat dalam sel darah merah dan satunya dalam plasma darah. Karena itu ada dua tipe tes *cholinesterase*, tes aktivitas *cholinesterase* yang ada dalam sel darah merah merupakan tes yang lebih baik karena dapat memberikan petunjuk pada dokter perawatan yang paling efektif.

### 2.1.9 Pemeriksaan *Cholinesterase*

Pajanan pestisida dapat diukur berdasarkan hasil pengukuran kadar *cholinesterase* dalam darah dengan memperhitungkan keterlibatan dalam kegiatan pertanian baik secara langsung maupun tidak

langsung dengan pestisida. Penurunan aktivitas *cholinesterase* hingga dibawah 75% merupakan biomarker keracunan senyawa organofosfat (Mukadar, Sulistiyani and Joko, 2018).

Aktivitas *cholinesterase* darah ada jumlah enzim *cholinesterase* aktif dalam plasma darah dan sel darah merah yang berperan dalam menjaga keseimbangan sistem saraf aktivitas *cholinesterase* darah ini dapat digunakan sebagai indikator keracunan pestisida golongan organofosfat

#### **2.1.10 Faktor–faktor yang Mempengaruhi Turunnya Kadar Enzim *Cholinesterase* Darah**

Terdapat berbagai macam faktor yang dapat mempengaruhi turunnya kadar enzim *cholinesterase*. Beberapa diantaranya adalah usia, masa kerja, lama pajanan, lama penyemprotan dan frekuensi penyemprotan. (Lucki, Hanani and Yunita, 2018)

Adapun faktor-faktor yang dapat menyebabkan penurunan aktivitas *cholinesterase* darah adalah sebagai berikut :

- a. Umur, semakin tua umur seseorang akan memiliki aktivitas *cholinesterase* rata-rata lebih rendah.
- b. Masa Kerja, Semakin lama seseorang terpapar pestisida maka kadar enzim *cholinesterase* semakin menurun
- c. Gizi, seseorang yang memiliki tingkat gizi yang baik cenderung memiliki rata-rata aktivitas *cholinesterase* lebih tinggi.

- d. Pengetahuan, seseorang yang memiliki pengetahuan yang cukup tentang penggunaan pestisida cenderung memiliki rata-rata aktivitas *cholinesterase* yang normal.
- e. *Personal hygiene*, seseorang yang memperhatikan kebersihan tubuhnya setelah melakukan penyemprotan cenderung memiliki rata-rata aktivitas *cholinesterase* yang normal.
- f. Keluhan-keluhan kesehatan, seseorang yang sering mengalami gangguan kesehatan (keluhan subyektif) setelah melakukan penyemprotan cenderung mengalami penurunan aktivitas *cholinesterase*.
- g. Kadar hemoglobin, seseorang yang memiliki kadar hemoglobin yang baik cenderung memiliki rata-rata aktivitas *cholinesterase* lebih tinggi pula.
- h. Jenis kelamin, wanita memiliki rata-rata kadar aktivitas *cholinesterase* lebih tinggi dibandingkan dengan laki-laki.
- i. Penyakit, seseorang yang menderita penyakit kronis seperti penyakit hati (*hepatitis*) cenderung memiliki risiko tinggi (*high risk*) bila bekerja dengan pestisida *organophosphate* dan *karbamat*.
- j. Tinggi tanaman yang disemprot, makin tinggi tanaman yang disemprot petani cenderung mendapatkan paparan yang lebih besar.



- k. Posisi penyemprot, petani yang melakukan penyemprotan selalu berlawanan arah angin, cenderung mendapatkan paparan yang lebih tinggi.
- l. Pemakaian alat pelindung diri (APD), petani yang memiliki pelindung diri yang baik, cenderung mendapatkan paparan yang lebih rendah.
- m. Dosis, penggunaan dengan dosis yang lebih tinggi cenderung mendapatkan risiko lebih besar.
- n. Luas lahan, petani yang memiliki luas lahan yang lebih luas, cenderung mendapatkan paparan yang lebih besar.
- o. Frekuensi penyemprotan, petani yang mempunyai frekuensi penyemprotan lebih banyak, cenderung mendapatkan risiko yang lebih tinggi.
- p. Lama kerja, petani yang bekerja lebih dari 5 jam/hari terpapar pestisida, cenderung mendapatkan risiko yang lebih tinggi.
- q. Masa kerja, petani sayur pengguna pestisida yang bekerja sudah lama/ bertahun-tahun, cenderung mendapatkan risiko yang lebih tinggi.

#### **2.1.11 *Cholinesterase* sebagai Indikator Keracunan**

Tingkat keracunan pestisida secara sub-klinik dapat diketahui dengan melakukan pemeriksaan aktivitas *cholinesterase* darah seseorang dengan menggunakan alat tintometer kit. Aktivitas *cholinesterase* darah seseorang yang diperiksa dapat dinyatakan sebagai sesuatu presentase

dari aktivitas *cholinesterase* darah normal. Berdasarkan pemeriksaan aktivitas *cholinesterase* darah maka dapat ditentukan tingkat keracunan seseorang sebagai berikut, (Depkes RI, 1993).

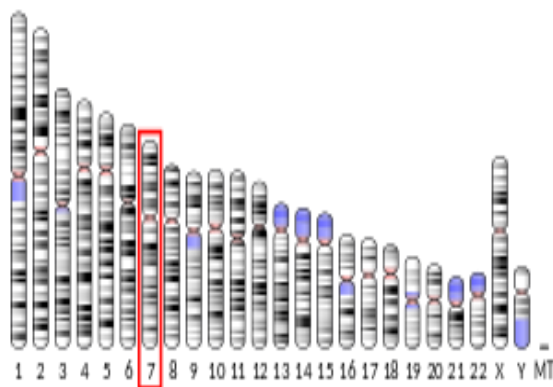
- 1) > 75% - 100% dari normal, tidak ada tindakan tetap perlu diuji ulang dalam waktu dekat, kelompok ini termasuk kategori normal atau tidak keracunan.
- 2) > 50% - 75% dari normal, kemungkinan *over exposure* perlu diuji ulang jika respon lemah, maka disarankan untuk istirahat (tidak kontak dengan pestisida), selama dua minggu, kemudian diuji ulang sampai mencapai normal, kelompok ini masuk kategori keracunan ringan.
- 3) > 25% - 50% dari normal, *over exposure* serius perlu diulangi pengujian, jika benar perlu diistirahatkan dari segala pekerjaan yang berkenaan dengan pestisida. Kelompok ini masuk kategori keracunan sedang.
- 4) 0% - 25% dari normal *over exposure* yang sangat serius perlu diuji ulang dan yang bersangkutan harus diistirahatkan dari semua pekerjaan dan perlu segera dirujuk ke pemeriksaan medis. Berdasarkan tingkat keracunan tersebut dapat menentukan suatu tindakan untuk mencegah keracunan oleh pestisida.

Dalam perundang-undangan yang berkaitan dengan pestisida disebutkan bahwa wadah pestisida diberi label yang mencantumkan

keterangan-keterangan sesuai dengan ketentuan perundang-undangan yang berlaku, tenaga kerja yang melakukan pekerjaan yang berkaitan dengan pestisida hama menggunakan alat pelindung diri dan tidak boleh mengalami pemaparan lebih dari 5 jam sehari dan 30 jam seminggu.

### 2.1.12 *Paraoxonase-1 (PON1)*

*Paraoxonase 1 (PON1)/arylesterase 1* juga dikenal sebagai *A esterase, homocysteine thiolactonase* atau serum *aryldialkylphosphatase 1* adalah enzim serum yang berfungsi untuk menghidrolisis paraoxon, metabolit oxon toksik dari parathion insektisida. Serum PON1 ditemukan di semua spesies mamalia tetapi tidak ditemukan pada burung, ikan dan reptil atau pada serangga. Selain PON1, pada *Paraoxonase family* juga terdapat PON2 dan PON3 yang memiliki fungsi berbeda, ketiga gen ini berdekatan satu sama lain pada kromosom 7 manusia.



Gambar 2.1 Kromosom 7 manusia

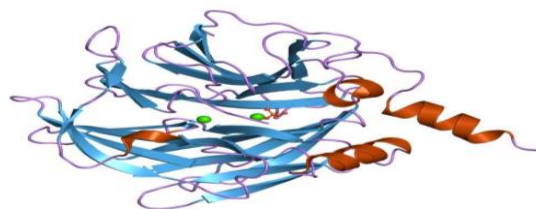
PON1 pada manusia terletak pada lengan panjang kromosom 7. Polimorfisme genetik PON1 berada pada PON1-Q192R yang menentukan

substrat PON1 dalam menghidrolisis insektisida. Beberapa substrat misalnya paraokson dihidrolisis lebih cepat oleh isoform R, sementara yang lain seperti diazoxon dan lipid-peroksida dihidrolisis lebih cepat oleh isoform Q-(Mackness, Durrington and Mackness, 1998)

### 2.1.13 Struktur PON1

PON1 pada manusia merupakan glikoprotein yang terdiri dari 354 asam amino dan memiliki berat molekul 43000 Dalton yang berasosiasi dengan *High Density Lipoprotein* (HDL) dalam sirkulasi darah. PON1 disintesis oleh hati, disekresikan ke darah, dan berikatan dengan partikel HDL.

Substrat alami PON1 adalah lakton. *Oxidized Low Density Lipoprotein* (ox-LDL) membentuk struktur mirip lakton yang merupakan substrat dari PON1. Namun, PON1 telah berevolusi menjadi enzim yang mampu menghidrolisis berbagai macam substrat seperti lakton (termasuk statin), obat glukuronida, tiolakton, arylester, siklik karbonat, pestisida organofosfat dan gas saraf seperti sarin, soman, ester estrogen dan lipid peroksida/Lipid teroksidasi (Furlong *et al.*, 2016)



Gambar 2.2. Struktur PON1  
Sumber (Harel *et al.*, 2004)

Klasifikasi Struktural Protein *Paraoxonase 1*

Kelas	: Semua protein beta
Lipat/Fold	: Baling-baling beta berbilang 6
Superfamili	: Fosfotriesterase yang tergantung kalsium
Family	: Serum <i>Paraoxonase</i> atau arylesterase 1, PON1
Domain Protein	: Serum <i>Paraoxonase</i> atau arylesterase 1, PON1
Panjang	: 354 asam amino
Berat	: 39,6 KDa
Sumber organisme	: Homo sapiens

PON1 mRNA ditemukan pada ginjal manusia dewasa, hati, dan usus serta hati janin tetapi tidak ditemukan pada jaringan lain (Mackness *et al.*, 2010). Penelitian mengenai perkembangan PON1 pada bayi yang baru lahir menunjukkan bahwa jumlah PON1 yang dimiliki hanya seperempat ( $\frac{1}{4}$ ) hingga sepertiga ( $\frac{1}{3}$ ) dari tingkat PON1 orang dewasa. Pada perkembangannya, PON1 pada tubuh bayi membutuhkan waktu 6 bulan hingga 2 tahun agar mencapai tingkat maksimal seperti PON1 pada orang dewasa. Hal tersebut menyebabkan bayi sangat rentan terhadap paparan insektisida terutama klorpirifos (CPS) / CPO atau diazinon (DZS) / DZO (Furlong *et al.*, 2016).

#### **2.1.14 Fungsi**

Dalam tubuh manusia terdapat enzim antioksidan *Paraoxonase* yang berfungsi sebagai anti inflamasi, anti oksidatif, anti aterogenik, anti diabetes, anti mikroba dan memiliki sifat hidrolisis organofosfat. (Bounafaa *et al.*, 2015). Secara spesifik, PON1 berfungsi untuk :

- a. Menghidrolisis metabolit oxon toksik dari insektisida organofosfat.  
Pajanan organofosfat dihubungkan juga dengan penurunan kadar enzim *Paraoxonase-1*(PON1). Enzim PON1 berfungsi untuk menghidrolisis racun oxon organofosfat menjadi bentuk non toksik. PON1 mencegah oksidasi LDL dan merusak pro-inflamasi ox-LDL. Organofosfat terbukti berpengaruh buruk terhadap sistem kardiovaskular (Samsuddin *et al.*, 2016).
- b. Mencegah Oksidasi LDL dan anti-aterosklerotik dari *High Density Lipoprotein* (HDL)  
PON1 juga merupakan komponen utama anti-aterosklerotik dari *High Density Lipoprotein* (HDL) dan mencegah oksidasi low-density lipoprotein (ox-LDL) (Wahab *et al.*, 2016). Gen PON1 diaktifkan oleh *Peroxisome Proliferator Activator Receptor-Gamma* (PPAR- $\gamma$ ) yang meningkatkan sintesis dan pelepasan enzim *Paraoxonase 1* dari hati, mengurangi aterosklerosis (Khateeb *et al.*, 2010).  
Penurunan kadar HDL, penurunan aktivitas PON1, dan peningkatan kadar ox-LDL dapat menyebabkan terjadinya aterosklerosis yang berdampak pada munculnya berbagai penyakit kardiovaskular seperti penyakit jantung koroner, hipertensi bahkan menyebabkan terjadinya ulkus pada kaki penderita diabetes.
- c. PON1 juga melindungi terhadap infeksi bakteri dengan menghancurkan molekul sinyal bakteri yang menyebabkan bakteri gram negatif menyerang jaringan manusia dan membentuk koloni,

sehingga PON1 berkontribusi pada tubuh kekebalan bawaan (*bodies innate immunity*) (Camps *et al.*, 2011).

### 2.1.15 Penentuan Status PON1

Status PON1 ditandai berdasarkan genotip pada posisi gen 192 yang menentukan substrat PON1 akan menghidrolisis pestisida. Genotipe pada posisi 192 sebelumnya ditentukan berdasarkan *TaqMan based genotyping assay* (Applied Biosystems Inc., Foster City, CA) dengan genomik DNA diekstraksi dari *Asam Etilen Diamin Tetraasetat* (EDTA) - dengan menggunakan specimen dari darah.

Tingkat plasma dari aktifitas PON1 dapat ditandai dengan pengukuran aktifitas *arylesterase* (AREase) yang diperoleh dari plasma lithium heparin. Aktifitas *arylesterase* (AREase) dianggap menjadi pengganti yang baik untuk konsentrasi PON1 dalam plasma. Substrat yang digunakan dalam pengukuran ini adalah Phenylacetate dan laju hidrolisis dilaporkan dalam satuan per mililiter. Pengukuran kadar PON1 dapat dilakukan dengan melihat kadar BUCHE. *Butyrylcholinesterase* adalah enzim *cholinesterase* nonspesifik yang menghidrolisis banyak ester berbasis kolin yang berbeda. Pada manusia, BUCHE dibuat di hati, ditemukan terutama dalam plasma darah, dan dikodekan oleh gen BCHE. *Butyrylcholinesterase* (BUCHE) lebih sensitive terhadap *Inhibitor AcetilCholinesterase* (AChEI) atau *anti-Cholinesterase*. Pestisida jenis organofosfat menghambat enzim *Cholinesterase* dalam menghidrolisis asetilkolin.

### 2.1.16 Pemeriksaan PON1

Pemeriksaan *Paraoxonase-1* digunakan untuk :

- a. Determinan tingkat sensitivitas individu terhadap paparan *insektisida*. Penurunan aktivitas PON1 di plasma darah dikaitkan dengan peningkatan kadar enzim *Cholinesterase* setelah terpapar *klorpirifos oxon* dan *diazoxon* (bentuk *oxon klorpirifos* dan *diazinon*)
- b. Pengukuran dapat ditujukan untuk melihat pengaruh konsumsi makanan yang mengandung antioksidan dapat meningkatkan aktivitas serum PON1. Beberapa polifenol seperti quercetin dan naringenin menginduksi peningkatan gen PON1 dan ekspresi protein dalam hati.

### 2.1.17 Faktor-faktor yang mempengaruhi Paraoxonase-1

- a. Usia

Penurunan Aktivitas PON1 pada manusia dimulai dari usia 20 – 80 tahun. Semakin bertambah usia, terjadi penurunan aktivitas PON 1, peningkatan kerentanan oksidasi lipoprotein densitas rendah dan penurunan kapasitas mentralisir radikal plasma (Mehdi and Rizvi, 2012).

- b. Merokok

Merokok dapat menurunkan aktivitas PON1 pada Manusia. Asap rokok memiliki kandungan oksidan yang tinggi dan dapat meningkatkan efek prooksidan (Radikal bebas) dalam plasma darah



dan jaringan. Zat-zat dalam rokok berkontribusi pada peningkatan insiden penyakit kardiovaskular di antara perokok (Haj Mouhamed *et al.*, 2012).

Mekanisme zat-zat dalam rokok menurunkan aktivitas PON1, diantaranya: Pertama, Nikotin merangsang pelepasan adrenalin dari korteks adrenal, yang menyebabkan peningkatan konsentrasi serum asam lemak bebas, yang selanjutnya merangsang sintesis hati dan sekresi kolesterol serta sekresi hati dari *very low-density lipoprotein* (VLDL) dan karenanya meningkatkan trigliserida (Meenakshisundaram, Rajendiran, and Thirumalaikolundusubramanian, 2010).

Kedua, merokok menurunkan kadar estrogen dan selanjutnya menyebabkan penurunan konsentrasi HDL. Selain itu, konsentrasi HDL berbanding terbalik dengan konsentrasi VLDL dalam serum. Akhirnya, merokok meningkatkan resistensi insulin dan dengan demikian menyebabkan hiperinsulinemia. LDL dan trigliserida meningkat pada kondisi hiperinsulinemik karena penurunan aktivitas lipoprotein lipase.

c. Diet / Gizi Makanan

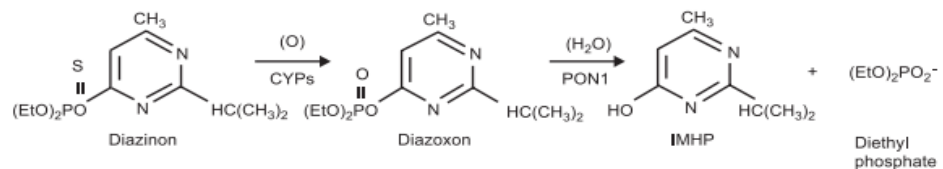
Makanan yang mengandung senyawa fenolik dan karotenoid, menunjukkan bahwa beberapa di antaranya sangat efektif dan hal ini dapat meningkatkan penggunaan nutraceuticals yang mampu meningkatkan aktivitas PON1 (Sigales *et al.*, 2019).

d. Paparan Pestisida Organofosfat

Paparan pestisida organofosfat yang berlebihan dan terjadi secara terus menerus dapat menurunkan aktivitas PON1. Paparan organofosfat mengurangi tingkat enzim PON1 serum yang berhubungan dengan stres oksidatif (Mahshid Alimihamadi and Soodi, 2019).

### 2.1.18 Mekanisme PON1 menghidrolisis Pestisida

*Paraoxonase* 1 mampu untuk menghidrolisis pestisida jenis Insektisida, akan tetapi tidak semua jenis insektisida mampu untuk dihidrolisis. Jenis insektisida yang mampu untuk dihidrolisis oleh PON1 adalah jenis Organofosfat (misalnya *parathion*, *chlorpyrifos*, *diazinon*). Berikut mekanisme PON1 menghidrolisis organofosfat jenis *diazinon*.



Gambar 2.3

Mekanisme metabolisme *Diazinon* dan hidrolisis *paraoxon* oleh PON1

Berdasarkan gambar 2.3 PON1 tidak menghidrolisis secara langsung senyawa induk dari insektisida tersebut, melainkan melalui proses metabolisme *polimorfisme sitokrom P450* (CYP). CYP mengkatalisis desulfurasi oksidatif organotiofosfat menjadi oxon dan juga memediasi detoksikasi beberapa organofosfat.

Senyawa Diazinon teroksidasi menjadi Diaxozon. Ketika seseorang terpapar pestisida organophosfat maka PON1 akan menghidrolisis oxon dari *diazinon* tersebut dan menghasilkan *isopropyl-4-methyl-6-hydroxypyrimidine* dan *Diethyl Phosphate* sehingga senyawa pestisida tidak membahayakan lagi bagi tubuh

### **2.1.19 Radikal Bebas**

Radikal bebas dan spesies oksigen reaktif (ROS) merupakan implikasi dalam sejumlah kondisi patologik dari penyakit tertentu seperti inflamasi, gangguan metabolik, penuaan selular, atherosclerosis dan karcinogenesis. ROS termasuk radikal hidroksil ( $\text{OH}^\cdot$ ), radikal anion superoksida ( $\text{O}_2^\cdot$ ), hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) dan oksigen singlet. Radikal bebas dan ROS tersebut mampu memberikan efek kerusakan pada komponen biologi seperti protein, DNA dan lipida. Kerusakan makromolekul tersebut bisa menimbulkan katarak, kanker dan penyakit pembuluh darah (Suryanti and Wehantouw, 2009).

Radikal bebas dapat berada di dalam tubuh karena adanya hasil samping dari proses oksidasi dan pembakaran sel yang berlangsung pada waktu bernafas, metabolisme sel, olahraga atau aktivitas fisik yang berlebihan atau maksimal, peradangan, dan terpapar polusi dari luar tubuh seperti asap kendaraan, asap rokok, makanan, logam berat, industri dan radiasi matahari (Parwata, 2015).

Reaksi oksidasi terjadi setiap saat di dalam tubuh. Segala aktifitas tubuh kita, termasuk latihan fisik, bahkan ketika kita bernafas, pun terjadi reaksi oksidasi. Namun walaupun sangat dibutuhkan, oksigen dapat pula bersifat toksik yang memicu terbentuknya *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang bersifat sangat reaktif terhadap sel dan komponen sel. Sekitar 2-5% dari oksigen yang dikonsumsi selama metabolisme mitokondria pada organisme aerobik akan menjadi radikal bebas (Berzosa C et al., 2011 dalam Anggiane Putri, 2019).

ROS adalah senyawa pengoksidasi turunan oksigen yang bersifat sangat reaktif yang terdiri atas kelompok radikal bebas dan kelompok non radikal. Kelompok radikal bebas antara lain *superoxide anion* ( $O_2^-$ ) dan *hydroxyl radical* (OH $\cdot$ ), dan non radikal misalnya *hydrogen peroxide* ( $H_2O_2$ ). Senyawa oksigen reaktif ini dihasilkan dalam proses metabolisme oksidatif dalam tubuh, misalnya pada proses oksidasi katabolisme makanan menjadi energi (Puspita, Susanto and Widiastuti, 2016).

### **2.1.20 Stres oksidatif**

Stres oksidatif adalah keadaan dimana terjadi ketidakseimbangan jumlah radikal yang ada di dalam tubuh dengan antioksidan yang dihasilkan oleh tubuh sendiri. Ketidakseimbangan inilah yang menyebabkan tubuh tidak bisa menangkap atau menetralkan keseluruhan radikal bebas tersebut. Kelebihan radikal bebas ini mengakibatkan intensitas reaksi oksidasi sel-sel normal semakin tinggi dan mengakibatkan kerusakan jaringan sel akan semakin parah (Pizzino et

*al.*, 2017).

Kelebihan radikal bebas akan menyebabkan terjadinya stres oksidatif yang berdampak negatif pada beberapa seluler struktur, seperti membran, lipid, protein, lipoprotein, dan asam deoksiribonukleat (DNA). Stres oksidatif juga terjadi akibat menurunnya jumlah oksigen dan nutrisi, sehingga menimbulkan proses iskemik dan kerusakan mikrovaskular. Keadaan ini disebut dengan *Reperfusion Injury*. Hal ini juga dapat memicu terjadinya kerusakan jaringan karena produksi radikal bebas yang berlebih (Pizzino *et al.*, 2017).

#### **2.1.21 Malondialdehid (MDA)**

*Malondialdehid* (MDA) adalah senyawa dialdehid yang merupakan produk akhir peroksidasi lipid dalam tubuh, melalui proses enzimatik atau non-enzimatik (Ayuningati, Murtiastutik and Hoetomo, 2018).

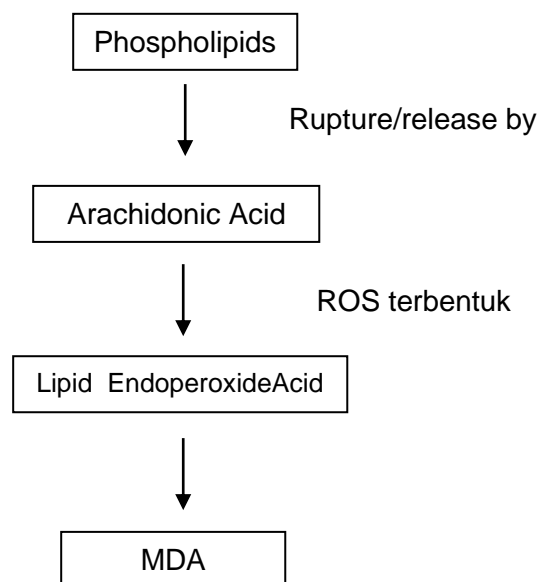
*Malondialdehid* (MDA) terbentuk dari peroksidasi lipid (lipid peroxidation) pada membran sel, yaitu reaksi antara radikal bebas (radikal hidroksi) dengan Poly Unsaturated Fatty Acid (PUFA). Reaksi tersebut terjadi secara berantai, hasil akhir reaksi tersebut adalah hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida menyebabkan dekomposisi beberapa produk aldehid yang bersifat toksik terhadap sel. MDA merupakan salah satu aldehid utama yang terbentuk. MDA merupakan senyawa reaktif yang terbentuk secara alami dan merupakan penanda stres oksidatif.

### 2.1.22 Struktur dan Sintesis MDA

Malondialdehid umumnya berada dalam bentuk enol. Struktur kimia dari *Malondialdehid* dapat dilihat dari reaksi dibawah ini :



*Malondialdehid* dihasilkan dari peroksidasi lipid asam lemak tak jenuh ganda. MDA terbentuk dari degradasi membran seluler fosfolipid. Adapun proses terbentuknya MDA dapat dilihat pada gambar dibawah ini :



Gambar 2.4 Proses terbentuknya MDA  
Sumber (Lorente *et al.*, 2013)

Asam arakidonat (AA) dilepaskan karena aksi fosfolipase (PLA<sub>2</sub>). Selanjutnya, AA adalah diserang oleh spesies oksigen reaktif (ROS) (terutama radikal hidroksil OH<sup>·</sup>) dari mitokondria melalui reaksi non-enzimatik dan endoperoksida lipid terbentuk. MDA kemudian dilepaskan ke ruang ekstraseluler dan masuk ke dalam darah (Lorente *et al.*, 2013).

### 2.1.23 *Malondialdehid* sebagai Biomarker Stres oksidatif

Peningkatan radikal bebas menstimulasi proses terjadinya peroksidasi lipid dan terhadap asam lemak tak jenuh berantai panjang (*Polyunsaturated Fatty Acid*) yang menghasilkan senyawa *malondialdehid* (MDA). Senyawa ini merupakan aldehida yang sangat reaktif dan merupakan salah satu dari banyak spesies *reaktif elektrofil* yang menyebabkan stres dalam sel dan membentuk ikatan kovalen dengan protein yang disebut sebagai *advanced lipoxidation end-products* (ALE), dalam analogi dengan *advanced glycation end-products* (AGE). Produksi aldehida ini digunakan sebagai biomarker untuk mengukur tingkat stres oksidatif dalam suatu organisme (Del Rio, Stewart and Pellegrini, 2005).

Tingginya kadar radikal bebas dalam tubuh dapat ditunjukkan oleh rendahnya aktifitas dari enzim antioksidan dan tingginya kadar *malondialdehid* (MDA). Penilaian kadar MDA dapat menggunakan metode metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) dan TBARS (*Thiobarbituric acid reactive substance*), yang menggunakan dasar reaksi MDA terhadap asam tiobarbiturat.

Adapun kadar MDA dengan menggunakan metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) adalah sebagai berikut :

Normal : (31.25-2000 ng/ml)

Stres Oksidatif : (>2000 ng/ml)

Apabila kadar MDA diatas nilai 2000 ng/ml menandakan terjadi stres oksidatif di dalam tubuh (Bachtiar, Bukhari and Hadju, 2020).

#### **2.1.24 Faktor-faktor yang Mempengaruhi malondialdehid**

Faktor-faktor yang mempengaruhi Malondialdehid

a. Usia

usia tua dikaitkan dengan peningkatan stres oksidatif sistemik. Semakin bertambahnya usia, maka terjadi peningkatan kadar MDA di dalam darah dan penurunan kadar glutathione peroksidase (GPx) (Fidianingsih and Ahsani, 2018; Mutlu-Türkoğlu *et al.*, 2003).

b. Meningkatnya Radikal bebas

*Malondialdehid* (MDA) terbentuk dari peroksidasi lipid (lipid peroxidation) pada membran sel, yaitu reaksi antara radikal bebas (radikal hidroksi) dengan Poly Unsaturated Fatty Acid (PUFA). Reaksi tersebut terjadi secara berantai, hasil akhir reaksi tersebut adalah hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida menyebabkan dekomposisi beberapa produk aldehid yang bersifat toksik terhadap sel. MDA merupakan salah satu aldehid utama yang terbentuk. MDA merupakan senyawa reaktif yang terbentuk secara alami dan merupakan penanda stres oksidatif.

c. Merokok

Rokok adalah pemicu utama peningkatan MDA dan merupakan biomarker umum dari proses peroksidasi lipid (Jaggi and Yadav, 2015).



d. Stress

Faktor emosi sendiri dapat mempengaruhi perubahan kadar MDA. Penelitian menunjukkan kadar MDA meningkat pada kelompok yang mengalami peningkatan stress (Ayuningati, Murtiastutik and Hoetomo, 2018).

e. Aktivitas Fisik/Olahraga

Radikal bebas juga bisa dihasilkan saat kita bernafas, namun dalam jumlah yang masih bisa ditolerir. Salah satu bagian dari pola hidup sehat adalah dengan rutin berolahraga. Jika olahraga dilakukan dengan cara yang tepat, Anda bisa menangkal radikal bebas masuk ke dalam tubuh dan menyebabkan penyakit. Namun jika dilakukan dengan cara yang salah, olahraga justru akan menyebabkan timbulnya penyakit dalam jangka panjang, Olahraga berlebihan akan membuat tubuh membutuhkan suplai oksigen yang sangat banyak, sehingga peningkatan ini akan memicu timbulnya radikal bebas dalam tubuh (Shadab *et al.*, 2014).

### **2.1.25 Antioksidan**

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menyerap atau menetralsir radikal bebas sehingga mampu mencegah penyakit-penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, karsinogenesis, dan penyakit lainnya. Senyawa antioksidan merupakan substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralsir radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Senyawa ini

memiliki struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Parwata, 2015).

#### **2.1.26 Jenis-jenis antioksidan**

Dalam melawan bahaya radikal bebas baik radikal bebas eksogen maupun endogen, tubuh manusia telah mempersiapkan penangkal berupa sistem antioksidan yang terdiri dari 3 golongan yaitu : (Parwata, 2015)

- a. Antioksidan Primer yaitu antioksidan yang berfungsi mencegah pembentukan radikal bebas selanjutnya (propagasi), antioksidan tersebut adalah transferin, feritin, albumin.
- b. Antioksidan Sekunder yaitu antioksidan yang berfungsi menangkap radikal bebas dan menghentikan pembentukan radikal bebas, antioksidan tersebut adalah *Superoxide Dismutase (SOD)*, *Glutathion Peroxidase (GPx)* dan katalase.
- c. Antioksidan Tersier atau *repair enzyme* yaitu antioksidan yang berfungsi memperbaiki jaringan tubuh yang rusak oleh radikal bebas, antioksidan tersebut adalah *Metionin sulfosida reduktase*, *Metionin sulfosida reduktase*, *DNA repair enzymes*, *protease*, *transferase* dan *lipase*.

Berdasarkan sumbernya antioksidan yang dapat dimanfaatkan oleh manusia dikelompokkan menjadi tiga yaitu :

- a. Antioksidan yang sudah diproduksi di dalam tubuh manusia yang dikenal dengan antioksidan endogen atau enzim antioksidan

(enzim *Superoksida Dismutase* (SOD), *Glutation Peroksidase* (GPx), dan *Katalase* (CAT).

- b. Antioksidan sintetis yang banyak digunakan pada produk pangan seperti *Butil Hidroksi Anisol* (BHA), *Butil Hidroksi Toluena* (BHT), *propil galat* dan *Tert-Butil Hidroksi Quinon* (TBHQ).
- c. Antioksidan alami yang diperoleh dari bagian-bagian tanaman seperti kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, biji dan serbuk sari seperti vitamin A, vitamin C, vitamin E dan senyawa fenolik (flavonoid).

Antioksidan sintetis sudah banyak digunakan di masyarakat baik pada minuman maupun makanan kemasan yang dijual di pasaran seperti *Butil Hidroksi Anisol* (BHA), *Butil Hidroksi Toluena* (BHT), *Propil Galat* (PG) dan *Tert-Butil Hidrosi Quinon* (TBHQ). Menurut hasil penelitian *Amarowicz et al.* (2000) menyatakan bahwa penggunaan bahan sintetis ini dapat meningkatkan risiko penyakit kanker. Studi epidemiologi menunjukkan bahwa adanya peningkatan konsumsi antioksidan alami yang terdapat dalam buah, sayur, bunga dan bagian-bagian lain dari tumbuhan dapat mencegah penyakit-penyakit akibat stres oksidatif seperti kanker, jantung, peradangan ginjal dan hati.

Mikronutrien yang terkandung dalam tumbuhan seperti vitamin A, C, E, asam folat, karotenoid, antosianin, dan polifenol memiliki kemampuan menangkap radikal bebas sehingga dapat dijadikan pengganti konsumsi antioksidan sintetis.

### 2.1.27 Enzim Antioksidan

Enzim antioksidan atau antioksidan endogenous enzimatik adalah antioksidan yang diproduksi oleh tubuh manusia sebagai penangkal radikal bebas eksogen maupun radikal bebas endogen seperti: *superoksida dismutase* (SOD), *katalase* (CAT) dan *glutathion peroksidase* (GPx). Antioksidan enzimatik disebut juga antioksidan sekunder yaitu antioksidan yang berfungsi menangkap radikal bebas dan menghentikan pembentukan radikal bebas (Parwata, 2015)

#### a. Superoksida Dismutase (SOD)

*Superoksida dismutase* adalah metaloenzim yang mengkatalis reaksi reduksi radikal *anion superoksida* ( $O_2^*$ ) menjadi *hidrogen peroksida* ( $H_2O_2$ ) dan *oksigen* ( $O_2$ ). Enzim ini bersifat tidak stabil terhadap panas, cukup stabil pada kondisi basa, dan masih mempunyai aktivitas walaupun disimpan sampai 5 tahun pada suhu  $5^\circ C$ . Aktivitas SOD tertinggi ditemukan di hati, kelenjar adrenalin, ginjal, darah, limfa, pankreas, otak, paru-paru, lambung, usus, ovarium dan timus (Murray 2009). Adapun reaksinya adalah:



*Superoxide Dismutase* (SOD) merupakan salah satu antioksidan enzimatik dan metaloenzim dalam tubuh karena aktivitasnya tergantung pada kofaktor logam Cu, Fe, Zn dan Mn. Berdasarkan hal ini SOD dikelompokkan menjadi Cu/Zn-SOD, Mn-SOD, Fe-SOD dan ada juga namanya EC-SOD. Cu/Zn-SOD ditemukan dalam *sitosol*, *kloroplas*

tanaman tingkat tinggi dan kemungkinan juga di ekstraseluler, Mn-SOD ditemukan dalam mitokondria sel eukariot dan peroksisom, Fe-SOD ditemukan berikatan dengan kloroplas, dan EC-SOD pada cairan ekstraseluler mamalia (Parwata, 2015).

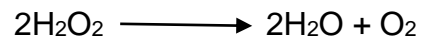
Secara fisiologis tubuh menghasilkan senyawa radikal bebas melalui proses *fosforilasi oksidatif*. Selama proses ini,  $O_2$  akan tereduksi menjadi  $H_2O$  dengan penambahan 4 elektron, sehingga terbentuk radikal *anion superoksida* yang kemudian diubah menjadi hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) oleh enzim SOD. Proses fosforilasi dalam mitokondria menyebabkan 1 molekul  $O_2$  tereduksi oleh 4 elektron bersama-sama dengan ion  $H^+$  membentuk 2 molekul  $H_2O$ . Jika jumlah elektron yang mereduksi  $O_2$  kurang dari 4, proses fosforilasi berlangsung tidak sempurna sehingga akan terbentuk senyawa radikal bebas (Parwata, 2015).

Aterosklerosis dapat terjadi melalui proses inflamasi kronik dan stres oksidatif. Pada dinding pembuluh darah arteri terdapat sel endotel yang melepaskan nitric oxide dan mengatur kelenturan pembuluh darah, menjaga komposisi otot tetap seimbang, dan mencegah pembekuan darah sehingga tidak terjadi inflamasi dan stres oksidatif (Grasi, 2010).

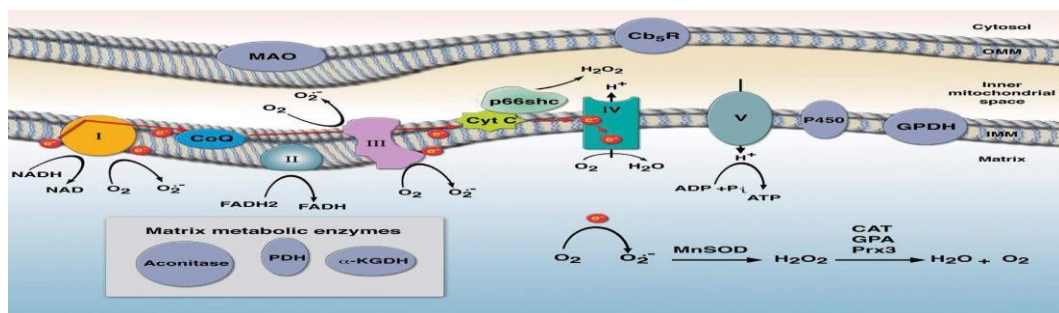
#### **b. Katalase**

*Katalase* adalah enzim yang disusun oleh lebih dari 500 asam amino dan memiliki gugus forfirin. Enzim ini mengkatalis reaksi reduksi senyawa *hidrogen peroksida* ( $H_2O_2$ ) menjadi oksigen ( $O_2$ ) dan air ( $H_2O$ ).

Aktivitas katalase optimal pada pH 7 dan dapat meningkat dengan meningkatnya akumulasi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Katalase dengan konsentrasi yang tinggi ditemukan pada hati, darah, ginjal, otak, paru-paru, jaringan adiposa dan kelenjar adrenal. Adapun reaksinya adalah :



Mekanisme kerja antioksidan enzimatik di atas dapat dilihat dalam gambar berikut ini :



Gambar 2.5 Mekanisme Kerja Antioksidan enzimatik  
Sumber (Parwata, 2015)

Dalam gambar di atas terlihat O<sub>2</sub><sup>\*</sup> (*radikal superoksida*) yang dihasilkan dalam perubahan NADH menjadi NAD, PADH<sub>2</sub> menjadi PADH dirubah menjadi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oleh MnSOD dan selanjutnya produk H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dirubah menjadi H<sub>2</sub>O dan O<sub>2</sub> oleh Katalase (Parwata, 2015).

### c. Glutation Peroksidase

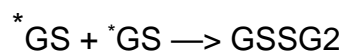
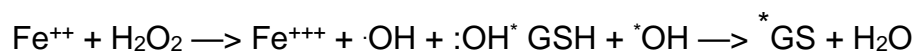
*Glutation peroksidase* adalah protein yang terdiri atas empat sub unit protein yang mengkatalis reaksi reduksi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> menjadi senyawa organik *hidroperoksida* (ROOH). Glutation banyak ditemukan dalam sitosol hati.

*Glutathione* ( $\gamma$ -glutamylcysteinylglycine, GSH) adalah antioksidan *sulfhydryl* (-SH), antotoksin dan kofaktor enzim. GSH ada dimana-mana

termasuk hewan, tumbuhan, tanaman dan mikroorganisme, larut dalam air dan berada di dalam cytosol dari sel atau substrat larut dalam air lainnya. Glutathione eksis di dalam sel dalam bentuk antioksidan tereduksi yang dikenal dengan istilah GSH, dan dalam bentuk teroksidasi yang dikenal dengan istilah Glutathione Disulfida (GSSG). Rasio antara GSH/GSSG merupakan indikator sensitif untuk stress oksidasi. GSH dengan enzim glutathione peroksidase (GPx) dapat mengkatalisis proses reduksi Hidroperoksida lemak menjadi alkohol dan hidrogen peroksida menjadi air.

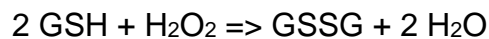
Pada saat mengkatalisis ikatan disulfida dari 2 GSH akan berikatan membentuk *Glutathione* teroksidasi (GSSG), dan *enzym glutathione reduktase* dapat mendaur ulang GSSG menjadi GSH kembali dengan cara mengoksidasi NADPH. Ketika sel terekspos dengan stres oksidasi maka akan terjadi penumpukan GSSG dan rasio GSH/GSSG akan menurun (Parwata, 2015).

Mekanisme kerja dari GSH didalam proses peredaman radikal bebas yaitu dalam segi kemampuannya mereduksi hidroksil radikal ( $\cdot\text{OH}$ ) yang berasal dari reaksi Fenton. (Parwata, 2015)



Disamping itu *enzym Glutathione peroxidase* menetralkan *Hidrogen Peroksida* ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) dengan cara mengambil hydrogen untuk

membentuk 2 H<sub>2</sub>O dan satu GSSG, sedangkan *enzyme glutathione reduktase* akan menjadikan GSSG, dengan menggunakan *enzyme* NADPH sebagai sumber hydrogen, menjadi GSH kembali:



Dengan kata lain glutathione di sini mencegah hidroksil radikal yang dapat merubah molekul lemak menjadi lemak radikal ( $\cdot\text{L}$ ) atau peroksida lemak ( $\text{LOO}\cdot$ ) melalui dua sisi yaitu mencegah terbentuknya hidroksil radikal ( $\cdot\text{OH}$ ) bereaksi dengan molekul lemak atau mencegah terbentuknya hidroksil radikal dengan merubah *Hidrogen Peroksida* ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) menjadi molekul air.

Meningkatnya peroksidasi lemak dalam dinding pembuluh darah yang mengalami aterosklerosis akan menurunkan kadar GSH peroksidase dan kadar *protector eicosanoid prostacyclin* ( $\text{PGI}_2$ ) mengakibatkan *balance prostaglandin* menjadi lebih bersifat proinflamasi. Untuk itu diperlukan *enzym GSH-S transferase* yang bekerja di sel endotel untuk meningkatkan produksi dari protektor eicosanoid (Parwata, 2015).

#### **d. Senyawa Antioksidan Alami**

Senyawa antioksidan alami pada umumnya berupa vitamin C, vitamin E, karotenoid, senyawa fenolik, dan polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kuomarin, tokoferol



dan asam-asam organik polifungsional. Golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, katekin, flavonol, dan kalkon. Turunan asam sinamat meliputi asam kafeat, asam ferulat, asam klorogenat, dan lain-lain. Hal ini disebabkan karena gugus -OH dan ikatan rangkap dua ( $>C=C<$ ) yang dimiliki oleh senyawa – senyawa di atas (Parwata, 2015).

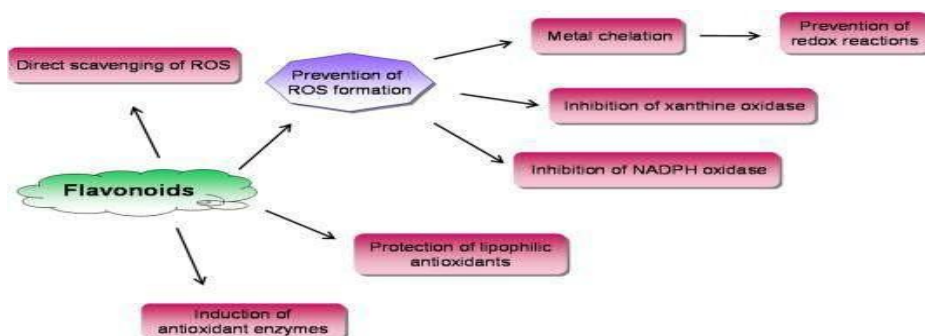
Mikronutrien yang terkandung dalam tumbuhan seperti vitamin A, C, E, asam folat, karotenoid, antosianin, dan polifenol memiliki kemampuan menangkap radikal bebas sehingga dapat dijadikan pengganti konsumsi antioksidan sintetis.

Gugus aktif yang umum berfungsi sebagai penangkap dan penghambat reaksi radikal bebas selanjutnya adalah gugus-gugus  $-OH$  dan ikatan rangkap dua  $>C=C<$  karena gugus- gugus ini dapat memberikan 1 molekul hidrogennya sehingga ROS menjadi stabil dan terbentuk radikal bebas baru yang kurang reaktif (Parwata, 2015).

#### **2.1.28 Peran Senyawa Metabolit Sekunder dalam Mencegah Stres Oksidatif.**

Senyawa-senyawa metabolit sekunder polifenol seperti flavonoid, poliena dan senyawa yang banyak mengandung gugus  $-OH$  ini adalah multifungsional dan dapat beraksi dengan radikal bebas sebagai (a) pereduksi, (b) penangkap radikal bebas, (c) pengkelat logam, dan (d) peredam terbentuknya singlet (Parwata, 2015).

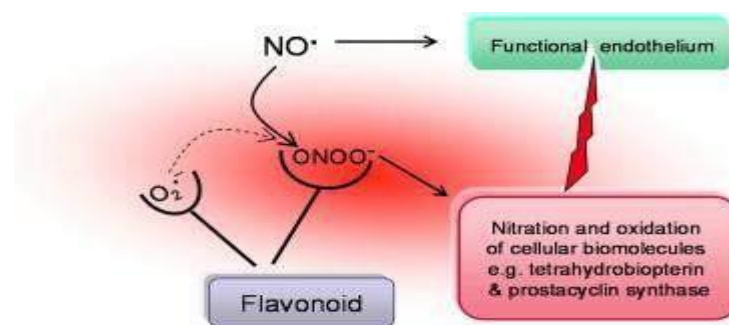
Senyawa antioksidan yang terdapat dalam ekstrak suatu tanaman diduga fungsinya dapat menghambat dan menetralkan terjadinya reaksi oksidasi yang melibatkan radikal-radikal bebas, baik yang eksogen maupun endogen. Reaksi oksidasi yang melibatkan radikal bebas khususnya radikal bebas  $\cdot\text{OH}$  dapat merusak membran sel normal di sekitarnya dan merusak komposisi DNA sehingga dapat menyebabkan terjadinya suatu mutasi. Mutasi atau kerusakan komposisi suatu DNA dapat menyebabkan terjadinya beberapa penyakit degeneratif seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini dan lain-lain (Muraay, 2009). 8-*hidroksi-deoksiganosin* (8-OHdG) merupakan marker yang menunjukkan terjadinya kerusakan DNA akibat radikal bebas yang berlebih. Flavonoid dapat memberi efek antioksidan dengan mencegah generasi ROS, langsung menangkap ROS atau secara tidak langsung terjadi peningkatan enzim (Parwata, 2015).



Gambar 2.6 Mekanisme pengaruh Flavonoid terhadap ROS  
 Sumber : (Parwata, 2015)

Flavonoid dapat menangkap secara langsung superoksida dan *peroxynitrite*. Melalui penangkapan superoksida, flavonoid meningkatkan

*bioavailabilitas* NO dan menghambat pembentukan *peroxynitrite*. Flavonoid juga dapat menangkap *peroxynitrite* yang merusak *vasorelaxation* endotelium dan mengganggu endotelium, sehingga pada akhirnya sirkulasi darah yang lebih baik dalam arteri koroner (Akhlaghi, 2009) seperti dalam gambar berikut ini :



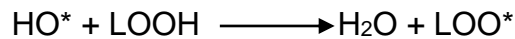
Gambar 2.7 Pengaruh flavonoid terhadap Radikal NO\*  
Sumber: (Parwata, 2015)

Pengaruh flavonoid pada *endothelium* tergantung *vasorelaxation*. Pengaruh ringan Flavonoid pada O<sub>2</sub><sup>-</sup> mungkin bertanggung jawab pada induksi eNOS serta peningkatan ringan sitosolik Ca<sup>2+</sup> sebagai kofaktor untuk aktivasi eNOS. Selain itu, melalui penangkapan superoksida dalam cairan interstisial, flavonoid melindungi ·NO.

Flavonoid dapat menghambat terjadinya kerusakan DNA akibat reaksi HO<sup>-</sup> dengan basa-basa nitrogen dari DNA dan merangsang terbentuknya antioksidan enzimatik seperti SOD, *katalase* dan GPx.

Flavonoid, Vitamin C dan Vitamin E yang diisolasi dari alam dapat melindungi membran phospholipid FUPA dengan menyumbangkan atau memberikan salah satu ion Hidrogennya (H<sup>+</sup>) kepada peroksil lipid radikal ( LOO<sup>\*</sup>). LOO<sup>\*</sup> merupakan hasil reaksi HO<sup>-</sup> pada proses peroksidasi lipid

reaksi serangan HO<sup>•</sup> terhadap PUFA (Poly Unsaturated Fatty Acid / asam lemak tak jenuh jamak rantai panjang) Pemberian H<sup>+</sup> oleh suatu antioksidan dapat menghentikan reaksi-reaksi radikal selanjutnya, seperti reaksi-reaksi berikut ini :

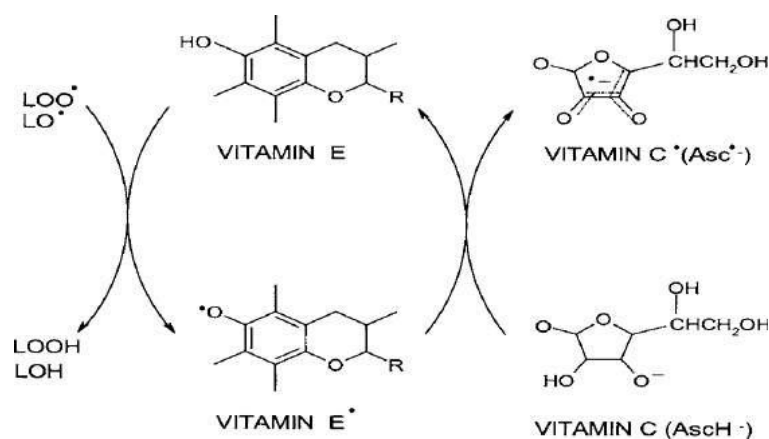


FL-OH = flavonoid

FL-O<sup>•</sup> = radikal flavonoid yang kurang reaktif

Contoh reaksi flavonoid yang sudah terbukti sebagai radikal bebas adalah pinocembrin (*5,7-dihidroksiflavanon*) dan pinostrobin (*5-hidroksi-7-metoksiflavanon*) yang diekstraksi pada rimpang temu kunci (*Kaempferia pandurata* Roxb). Reaksi ini dipergunakan dalam mengukur kapasitas antioksidan suatu flavonoid hasil isolasi dengan DPPH (radikal bebas yang stabil).

Reaksi-reaksi di atas dapat dikatakan bahwa flavonoid dapat melindungi tubuh kita dari reaksi-reaksi lanjutan dari ROS dan RNS dengan menangkap ROS, memblokir reaksi propagasi dan merangsang terbentuknya antioksidan endogen seperti GPx, SOD dan *Katalase* serta menurunkan kadar MDA karena tidak terjadinya peroksidasi lemak (PUFA) dan menurunkan kadar 8-OHdG karena HO<sup>•</sup> yang biasanya masuk bereaksi ke dalam DNA sudah ditangkap oleh flavonoid seperti yang ditunjukkan oleh gambar berikut ini :



Gambar 2.8

Kapasitas antioksidan suatu flavonoid hasil isolasi dengan DPPH

Sumber : (Parwata, 2015)

Flavonoid dapat berfungsi sebagai antiinflamasi karena flavonoid dapat menghambat terbentuknya sitokin proinflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  dan interferon- $\gamma$ . Flavonoid dapat berfungsi sebagai zat pengkelat dari logam-logam Cu dan Fe yang berfungsi sebagai katalis dalam reaksi Fenton. Reaksi ini termasuk reaksi perubahan Hidrogen Peroksida menjadi  $^*\text{OH}$ . Proses khelat ini akan menurunkan aktivitas katalitik dari logam Cu dan Fe sehingga akan mengurangi terbentuknya radikal  $^*\text{OH}$  dan secara otomatis akan menurunkan proses kerusakan DNA dan proses peroksidasi lemak (PUFA) (Parwata, 2015).

### 2.1.29 Kapasitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan menggambarkan kemampuan suatu senyawa antioksidan untuk menghambat laju reaksi pembentukan radikal bebas. Penentuan kapasitas antioksidan secara *in vitro* ditentukan secara spektroskopi UV-Vis. Eksplorasi senyawa fitokimia terutama senyawa bioaktif yang terdapat pada tanaman obat atau bukan tanaman obat secara terus menerus diteliti untuk mendapatkan senyawa antioksidan

yang berfungsi untuk menjaga kesehatan tubuh manusia dari serangan suatu penyakit (Prakash, 2001).

Pengujian aktivitas antioksidan harus didasari atas efek farmakologis dari zat tersebut diantaranya adalah

- a. Menyerupai aktivitas antioksidan endogen seperti SOD sintesis, katalase rekombinan.
- b. Menangkap ion logam yang diperlukan untuk tujuan katalisis reaksi oksidasi oleh radikal bebas seperti deferoxamin.
- c. Menangkap (*scavenging*) atau memutus reaksi rantai (*chainbreaking*) dari radikal bebas seperti Vitamin C, E,  $\beta$ -karoten dan senyawa fenol (flavonoid)
- d. Menghambat aktivitas enzim-enzim yang terlibat dalam pembentukan radikal bebas seperti allopurinol.

Ketika jumlah radikal bebas melebihi kondisi normal, maka tubuh memerlukan konsumsi bahan makanan yang mengandung antioksidan. Kebutuhan akan antioksidan tambahan tersebut bisa dipenuhi dengan mengonsumsi makanan sumber flavonoid, vitamin C, vitamin E, dan karotin. Asupan flavonoid sejumlah 5–50 mg/hari diperlukan setiap orang guna mempertahankan kesehatan yang optimal. Sedangkan untuk pencegahan PTM membutuhkan minimal asupan flavonoid 199,6 mg/ hari (Maulida and Adi, 2018).

## **2.2 *Diplazium esculentum***

Paku sayur (*Diplazium esculentum*) merupakan sejenis paku/pakis yang biasa dimakan ental mudanya sebagai sayuran oleh penduduk Asia Tenggara dan Kepulauan di Samudera Pasifik. Paku ini termasuk kedalam golongan paku *homospora*.

Paku sayur adalah salah satu dari 20.000 jenis spesies tumbuhan yang di klasifikasikan ke dalam divisi *pteridophyta* dan juga lebih dikenal sebagai *filidophyta*. *Pteridophyta* merupakan tumbuhan *kormofita* karena sudah berupa akar, batang dan daun yang sesungguhnya. Berikut dibawah ini keberadaan Keberadaan Jenis Paku sayur di Indonesia :

Tabel 2.4 Keberadaan Jenis Paku sayur di Indonesia


No	Family	Nama Spesies	Nama daerah
1	Adiantaceae	1. <i>Syngamma alismifolia</i> (Pr.)	1. Paku Arjuna
2	Aspleniaceae	1. <i>Asplenium belangeri</i> Bory. 2. <i>Asplenium dicranurum</i> C.Chr. 3. <i>Asplenium nidus</i> L. 4. <i>Asplenium pellucidum</i> Lam. 5. <i>Asplenium spathulinum</i> J.Sm 6. <i>Asplenium unilateral</i> Lam.	1. Paku Tamaga 2. Paku Raja 3. Paku Sarang 4. Paku Tambang 5. Paku Tapak 6. Paku Sepihak
No	Family	Nama Spesies	Nama daerah
3	Athyriaceae	1. <i>Diplazium accendens</i> Blume./ <i>Diplazium esculentum</i> 2. <i>Diplazium cordifolium</i> Blume. 3. <i>Diplazium sorzgonense</i> C.Presl.	1. Paku Sayur 2. Pakis Kuning 3. Raku Rasam
4	Blechnaceae	1. <i>Blechnum capense</i> (L.) Schltdl	1. Paku Merayap
5	Davalliaceae	1. <i>Davallia denticulate</i> (Burm.f.) 2. <i>Davallia pentaphylla</i> Blume	1. Paku Tertutup 2. Paku enam
6	Dipteridaceae	1. <i>Dipteris conjugata</i> Reinw.	1. Paku Rotan
7	Dryopteridaceae	1. <i>Didymochlaena lunuata</i> Desv	1. Paku
8	Gleichenidaceae	1. <i>Gleichenia hispida</i> Mett.ex Kuhn	1. Paku Pedang
9	Grammitidaceae	1. <i>Ctenopteris barathrophylla</i> (Baker) Parris. 2. <i>Ctenopteris</i>	1. Paku Barak 2. Paku Rumput
10	Hymenophyllaceae	1. <i>Hymenophyllum</i> sp.	1. Paku Tutul
11	Lindsacaceae	1. <i>Lindsaea repens</i> (Bory.)	1. Paku Sandal

		2. <i>Lindsaea</i> sp.	2. Paku Spantula
12	Lomariopsidaceae	1. <i>Elaphoglossum blumeum</i> (Fee) J.Sm.	1. Paku Aren
13	Marattiaceae	1. <i>Angiopteris evecta</i> (Forst.) Hoffm.	1. Paku Ate
14	Neprolepidaceae	1. <i>Nephrolepis hirsutula</i> (G.Fobt.) C.Presl	1. Paku Sepat
15	Polypodiaceae	1. <i>Belvisia spicata</i> (L.f) 2. <i>Drynaria quercifolia</i> (L.) 3. <i>Drynaria rigidula</i> Bedd. 4. <i>Lecanopteris carnososa</i> (R.) 5. <i>Loxogramme avenia</i> (B) 6. <i>Phymatodes commutate</i> (B). 7. <i>Selliguea albidosquamata</i> (B) 8. <i>Selliguea taeniata</i> (Sw.)	1. Semanggi 2. Paku Simbar 3. Sisik Naga 4. Paku Layangan 5. Paku Ginjal 6. Picians 7. Paku Pasilan 8. Paku Pasilan Kelapa
16	Pteridaceae	1. <i>Pteris mertensioides</i> Willd. 2. <i>Pteris biaurita</i> L.	1. Paku Tupai 2. Paku Cawan
17	Selaginellaceae	1. <i>Selaginella intermedia</i> (Blume) 2. <i>Selaginella involvens</i> (Sw.) 3. <i>Selaginella latupana</i> Alderw. 4. <i>Selaginella plana</i> (Desv.ex Poir)	1. Paku Rane 2. Paku Rande 3. Paku Hispida 4. Paku Cakar Ayam
18	Tectaria Group	1. <i>Tectaria crenata</i> Cav.	Suplir
19	Thelypteridaceae	1. <i>Sphaerostephanos cf. appendiculatus</i> 2. <i>Sphaerostephanos</i> sp.	1. Paku Hati 2. Paku Mangga


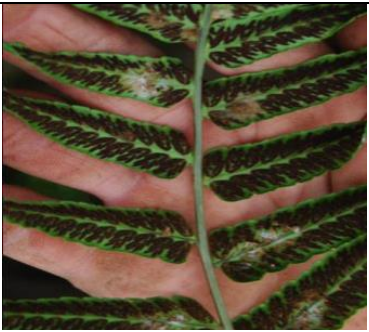


Sumber : (Musriadi, Jailani and Armi, 2017)






Berdasarkan hasil observasi paku sayur yang terdapat di Kecamatan tinggi moncong dan Tombolopao, dapat dilihat pada tabel dibawah ini :


Tabel 2.5 Jenis Paku-pakuan

Gambar	Spesies	Family	Klasifikasi		Keterangan
	<i>Syngamma</i>	<i>Adiantaceae</i>	Kingdom Subphylum Infraphylum Class Order Family Genus	: <i>Plantae</i> : <i>Pteridophytina</i> : <i>Filices</i> : <i>Filicopsida</i> : <i>Filicales</i> : <i>Adiantaceae</i> : <i>Syngamma</i>	Tidak bisa dikonsumsi (Tanaman Hias)



	<i>Asplenium</i> <i>sp.</i>	<i>Aspleniaceae</i>	Kerajaan : Divisio : Kelas : Bangsa : Suku : Marga : Jenis :	: <i>Plantae</i> : <i>Pteridophyta</i> : <i>Pteropsida</i> : <i>Filicinae</i> : <i>Aspleniaceae</i> : <i>Asplenium</i> : <i>Asplenium sp.</i>	Tidak bisa dikonsumsi (Tanaman hias)
	<i>Diplazium</i> <i>esculentum,</i> <i>sp</i>	<i>Athyriaceae</i>	Kerajaan : Divisio : Kelas : Bangsa : Suku : Marga : Jenis :	: <i>Plantae</i> : <i>Pteridophyta</i> : <i>Pteridopsida</i> : <i>Athyriales</i> : <i>Athyriaceae</i> : <i>Diplazium</i> : <i>Diplazium Esculentum</i>	Dapat dikonsumsi (Tanaman obat dan sayur)
	<i>Blechnun</i> <i>capences(L</i> <i>)</i>	<i>Blechnaceae</i>	Kerajaan Divisi Kelas Ordo Famili Genus Spesies	: <i>Plantae</i> : <i>Pteridophyta</i> : <i>Pteridopsida</i> : <i>Polypodiales</i> : <i>Blechnaceae</i> : <i>Blechnun</i> : <i>Blechnun Capences</i>	Tidak bisa di konsumsi (Tanaman Hias)
Gambar	Spesies	Family	Klasifikasi		Keterangan
	<i>Davalia</i> <i>denculata</i>	<i>Davalliaceae</i>	Kerajaan Divisi Kelas Ordo Famili Genus Spesies	: <i>Plantae</i> : <i>Pteridophyta</i> : <i>Pteridopsida</i> : <i>Polypodiales</i> : <i>Davaliacea</i> : <i>Davalia</i> : <i>Davalia Denculata</i>	Tidak bisa dikonsumsi (Tanaman Hias)

	<i>Dipteris conjugata</i> Reinw	Dipteridaceae	Kingdom Subphylum Infraphylum Class Order Family Genus Spesies	: <i>Plantae</i> : <i>Pteridophytina</i> : <i>Filices</i> : <i>Filicopsida</i> : <i>Filicales</i> : <i>Dipteridaceae</i> : <i>Dipteris</i> : <i>Dipteris sp</i> <i>Conjugata</i>	Tidak bisa dikonsumsi (Tanaman Hias)
	<i>Didymochlaena lunuata</i> Desv	Dryopteridaceae	Kerajaan Divisi Kelas Bangsa Suku Marga Jenis	: <i>Plantae</i> : <i>Pteridophyta</i> : <i>Pteropsida</i> : <i>Filicinae</i> : <i>Dryopteridaceae</i> : <i>Didymochlaena</i> : <i>Didymochlaena Lunuata</i>	Tidak bisa dikonsumsi (Tanaman hias)
	<i>Gleichenia hispida</i> Mett.ex Kuhn	<i>Gleicheniaceae</i>	Kerajaan Divisi Kelas Ordo Famili Genus Spesies	: <i>Plantae</i> : <i>Pteridophyta</i> : <i>Pteridopsida</i> : <i>Filicales</i> : <i>Gleicheniaceae</i> : <i>Gleichenia</i> : <i>Gleichenia Hispida</i>	Dapat dikonsumsi (Tanaman obat)
	<i>Ctenopteris barathrophylla</i>	<i>Grammitidaceae</i>	Kerajaan Divisi Kelas Ordo Famili Genus Spesies	: <i>Plantae</i> : <i>Pteridophyta</i> : <i>Pteridopsida</i> : <i>Polypodiales</i> : <i>Grammitidaceae</i> : <i>Ctenopteris</i> : <i>Ctenopteris Barathrophylla</i>	Tidak bisa dikonsumsi
Gambar	Spesies	Family	Klasifikasi		Keterangan
	<i>Hymenophyllum</i> sp	<i>Hymenophyllaceae</i>	Kerajaan Divisi Kelas Ordo Famili Genus Spesies	: <i>Plantae</i> : <i>Pteridophyta</i> : <i>Pteridopsida</i> : <i>Polypodiales</i> : <i>Hymenophyllaceae</i> : <i>Hymenophyllum</i> : <i>Hymenophyllum</i>	Dapat dikonsumsi (Tanaman obat)

	<i>Lindsaea repens</i> (Bory.)	<i>Lindsacaceae</i>	Kingdom Subphylum Infraphylum Class Order Family Genus	: <i>Plantae</i> : <i>Pteridophytina</i> : <i>Filices</i> : <i>Filicopsida</i> : <i>Filicales</i> : <i>Lindsacaceae</i> : <i>Lindsaea repens</i>	Tidak bisa dikonsumsi (Tanaman Hias)
---	--------------------------------	---------------------	--	--	--------------------------------------

Sumber : (Musriadi, Jailani and Armi, 2017) , (Arini and Kinho, 2012) dan (Marsusi et al., 2006)

### 2.2.1 Taksonomi Paku sayur (*Diplazium esculentum*)

Sinonim dari paku sayur adalah *Anisogonium esculentum* Presl, *Diplazium malabaricum*, *Athyrium esculentum* Copel. Nama umum Indonesia: paku sayur, pakis sayur, paku tanjung

Klasifikasi

Kingdom : *Plantae* (tumbuhan)  
 Subkingdom : *Tracheobionta*  
 Divisi : *pteridophyta* (paku-pakuan)  
 Kelas : *pteridopsida*  
 Subkelas : *polypodiales*  
 Family : *polypodiaceae*  
 Genus : *polypodiaceae* Spesies



Gambar 2.9 *Diplazium esculentum*

Sumber :(Zainol, 2015)

### 2.2.2 Deskripsi *Diplazium esculentum*

Paku sayur (*Diplazium esculentum*) sebagian besar merupakan genus tropis, di America Utara hanya tiga spesies seperti *Diplazium pycnocarpon*. *Diplazium* salah satu termasuk dalam atrium dan asplenium.

Umumnya alternatif nama dimasukkan berasal dari sebelum asplenium (Boughton, 2005). *Diplazium esculentum* tumbuh di daerah pegunungan yang ketinggiannya sekitar 1.350 m. Oleh karenanya banyak terdapat di gunung arjuna dan gunung patuha (Setijati Sastrapradja,1985:113). *Diplazium esculentum* hidup di seluruh kepulauan Macaronesia: Canary Islands, Azores, Madeira dan Cape Verde dan di wilayah Algeciras di provinsi Cadiz, termasuk di Taman Alam Los Alcornocales, yang berlangsung sebuah habitat yang sama ke hutan salam, hangat dan lembab sepanjang tahun (Joan Bibiloni, 2011). Rhizoma merambat, bersisik: rimpang-sisik bergigi. Daun paku sayur sederhana untuk *pinnately* gabungan menyirip urat, atau melapisi dengan gambaran yang mirip untuk membentuk *areoles* persegi empat agak penuh pada setiap samping *veinlets* (seperti *venasi goniopteroid*) biasanya berbulu atau bersisik pada sumbu. Sori memanjang di sepanjang vena indusia bulan sabit, sering berdekatan dengan bukaan sebelahnya dan sebaliknya, batangnya tegak (Tagawa, 1979).

Daun paku sayur: tinggi 100 cm sebesar 20 cm, agak dimorfik, daun subur lebih tinggi, tegak, steril melengkung, S tipe: cokelat kemerahan pada pangkal, ke atas hijau, sangat beralur, beberapa sisik dekat pangkalan, bersatu untuk bentuk-v di atas. Pinnae: 20 sampai 40 pasangan, *costae* beralur terus menerus dari malai ke *costae* Sori: linier sedikit melengkung, lurus dari tengah midvein atau hampir ke margin dalam pola herringbone, indusiumnya linier, gigih, tembus, sinus, sedang

sporangia hitam, biasanya jatuh akhir musim panas. Sepanjang pinnae veinlets itu lateral, seperti indusia flap, bukaan di tepi tipper, tersebar di tempat lembab, *glades* berhutan dan semak *aluvial, throughout* (Rhoads, 2007:94).

### **2.2.3 Kandungan Gizi dan Manfaat Paku sayur (*Diplazium esculentum*)**

Saat ini Paku sayur banyak diteliti pada bidang farmasi, fitokimia, dan bidang kesehatan lainnya. Para ahli melihat potensi dari Paku sayur karena masyarakat sering menggunakannya sebagai tanaman obat tradisonal. Menurut Benniamin (2011) menyatakan bahwa pada masyarakat adat di sebelah utara India menggunakan tumbuhan pakis untuk mengobati berbagai penyakit seperti; diare, disentri, sakit perut, sakit kepala, dan penyakit kulit.

Lense (2011) mengemukakan daun Paku sayur berkhasiat untuk menyembuhkan sakit kepala dan luka karena mengandung alkaloid. Amit dan Singh (2012) menemukan bahwa masyarakat Garhwali memanfaatkan Paku sayur untuk tujuan medis, daun muda yang melingkar digunakan sebagai sayuran sedangkan akarnya digunakan untuk mengobati haemoptysis, asma, penyakit paru-paru, dispesia atau gangguan pencernaan, sakit perut, diare, dan anti disentri. Akar rhizome tersebut mengandung antibakterial, *piperazine citrate, aqueous extract, petroleum extract, dan ethanolic extract*. Depkes RI (2004) menerangkan bahwa daun tumbuhan Paku sayurbanyak mengandung vitamin C. Fungsi

vitamin C banyak berkaitan dengan pembentukan kolagen. Vitamin C diperlukan untuk hidroksilasi prolin dan lisin menjadi hidroksiprolin dan hidroksilisin, yang merupakan bahan penting dalam pembentukan kolagen.

Kolagen merupakan senyawa protein yang mempengaruhi integritas struktural sel di semua jaringan ikat, seperti pada tulang rawan, membran kapiler, dan kulit. Dengan demikian, vitamin C berperan besar dalam penyembuhan luka. Daun paku sayur yang berwarna hijau gelap kaya akan betakaroten. Didalam tubuh, betakaroten akan dimetabolisme menjadi vitamin A. Kandungan betakaroten dalam daun Paku sayur setara dengan 432 RE vitamin A. Betakaroten ini berperan dalam mengatur proses metabolisme di beberapa jaringan tubuh. Selain itu, betakaroten juga mengatur kerja gen-gen yang terlibat dalam sistem imunitas, sehingga dapat membantu meningkatkan kekebalan tubuh terhadap berbagai penyakit, khususnya penyakit infeksi. Daun Paku sayur juga dipercaya berkhasiat mencegah penyakit rematik. Hal itu dikarenakan adanya kandungan kalsium dan fosfor yang cukup tinggi, yaitu masing-masing 42 mg dan 172 mg per 100 gram daun pakis sayur. Kalsium dan fosfor merupakan mineral makro yang diperlukan untuk pertumbuhan, pembentukan, dan pemeliharaan kesehatan tulang.

Berikut kadar kandungan tumbuhan Paku sayur selengkapnya pada tabel berikut.

Tabel 2.6  
Kadar Kandungan Paku sayur Daun *Diplazium esculentum*

Zat gizi	Satuan	Kadar/100 grm
Energi	Kkal	35
Protein	G	4
Lemak	G	0.3
Karbohidrat	G	6.4
Kalsium	Mg	42
Fosfor	Mg	172
Besi	Mg	1.3
Vitamin A	RE	432
Vitamin B	Mg	0
Vitamin C	Mg	30
Air	G	88

Sumber : (Lukas Pawera, Khomsan and Zuhud, 2019)

Khasiat Paku sayur (*Diplazium esculentum*) disebabkan oleh adanya sejumlah senyawa aktif yang dikandungnya. Kandungan kimia yang terkandung dalam *Diplazium esculentum* meliputi steroid, triterpenoid, fenol, flavon, dan flavonoid (Kaushik et al., 2011: 1252).

Salah satu metode pengujian untuk menentukan aktivitas antioksidan adalah metode peredam radikal bebas DPPH (*1,1 diphenil-2-picrylhidrazyl*). Metode ini memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil yaitu DPPH (Sunarni, 2005:2). Penapisan fitokimia pada *Diplazium esculentum* merupakan tahapan untuk mengetahui secara kualitatif kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam bahan berupa simplisia. Hasil pengujian penapisan fitokimia simplisia dapat dilihat pada Tabel 2.7

Tabel 2. 7 Hasil Penapisan Fitokimia Paku sayur (*Diplazium esculentum*)

Golongan Senyawa	Identifikasi
Alkaloid	-
Flavonoid	+
Tanin	-
Saponin	-
Polifenolat	-
Monoterpen dan Sesquiterpen	+
Steroid dan triterpenoid	+
Kuinon	+

**Keterangan :**

+ : terdeteksi

- : tidak terdeteksi

Berdasarkan data yang diperoleh dari Tabel 2.7 simplisia daun Paku sayur mengandung senyawa flavonoid, *monoterpen* dan *sesquiterpen*, steroid dan triterpenoid dan kuinon (Syafitri, Purwanti and Sadiyah, 2007) dan (Tongco *et al.*, 2014)

### **2.3 Keterkaitan Antara Keracunan Pestisida dan Mekanisme *Diplazium esculentum* Sebagai Antioksidan**

#### **a. *Port of the Entry* Pestisida ke dalam tubuh**

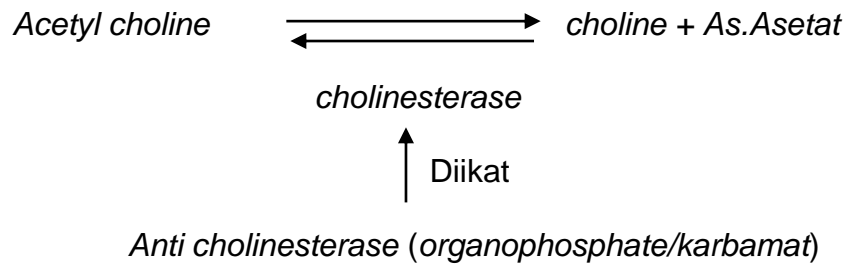
Rute penyerapan pestisida atau "*port of the entry*" dalam tubuh melalui tiga cara yaitu kulit, saluran pernapasan, dan saluran pencernaan. Pestisida yang telah diabsorpsi masuk ke dalam tubuh melalui proses metabolisme dan didistribusikan kedalam jaringan dan dikeluarkan dari dalam tubuh melalui urin. Setelah diserap usus, maka substansi *lipophilicya* akan dieksresikan ke dalam empedu



sebagai akibat resirkulasi *enteropatik*. Pada sistem saraf (*the nervous system*) terdapat neurotransmitter yaitu Asetilkolin (ACh) yang berfungsi sebagai penghantar saraf yang berada pada seluruh sistem saraf pusat (SSP), saraf otonom (simpatik dan parasimpatik), dan sistem saraf somatik. Asetilkolin bekerja pada ganglion simpatik dan parasimpatik, reseptor parasimpatik, simpangan saraf otot, penghantar sel-sel saraf dan medula kelenjar suprarenal. Setelah pestisida masuk dalam tubuh, golongan organofosfat dan karbamat akan mengikat enzim asetilkolinesterase (AChE), sehingga AChE menjadi inaktif dan terjadi akumulasi asetilkolin. Reaksi antara pestisida organofosfat dan enzim *cholinesterase* akan menghasilkan senyawa "*Phosphorylated Cholinesterase*", pengikatan antara organofosfat dan *Cholinesterase* yang hampir *irreversible*. Enzim *Cholinesterase* secara normal menghidrolisis asetilkolin menjadi asetat dan kolin. Pada saat enzim dihambat, mengakibatkan jumlah asetilkolin meningkat dan berikatan dengan reseptor muskarinik dan nikotinik pada system saraf pusat dan perifer. Hal tersebut menyebabkan timbulnya gejala keracunan yang berpengaruh pada seluruh bagian tubuh Karena *cholinesterase* tidak dapat memecahkan *acetylcholine*, maka impuls syaraf mengalir terus (konstan) menyebabkan suatu kontraksi otot yang cepat dan akhirnya mengarah kepada kelumpuhan. Depresi dari aktivitas *cholinesterase* kenyataan

yang paling jelas adanya penyerapan yang berlebihan dari pestisida *organophosphate* dan *karbamat* secara sederhana (Raini, 2007).

Skema reaksi dapat dilihat sebagai berikut:

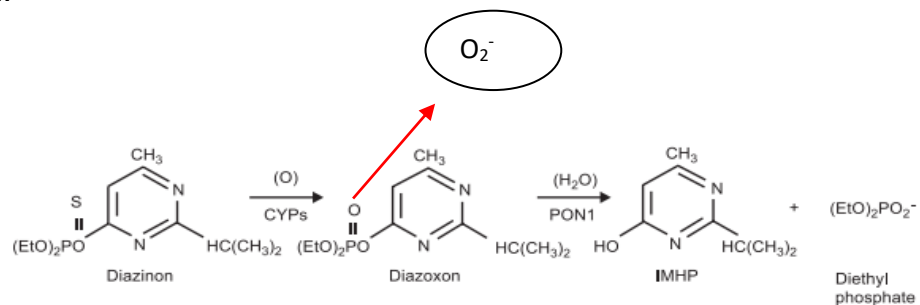


Bagan 2.1. Skema reaksi *cholinesterase* dengan pestisida *organophosphate* dan *karbamat*

- b. Tubuh menghasilkan PON1 sebagai reaksi adanya oxon toksik pestisida yang mengikat *Cholinesterase*

*Paraoxonase* 1 adalah enzim serum yang mampu untuk menghidrolisis pestisida jenis Insektisida, akan tetapi tidak semua jenis insektisida mampu untuk dihidrolisis. Jenis insektisida yang mampu untuk dihidrolisis oleh PON1 adalah jenis Organofosfat (misalnya *parathion*, *chlorpyrifos*, *diazinon*).

Berikut mekanisme PON1 menghidrolisis organofosfat jenis *diazinon*.



Gambar 2.10 Mekanisme metabolisme *Diazinon* dan hidrolisis *paraoxon* oleh PON1

Berdasarkan gambar 2.10 PON1 tidak menghidrolisis secara langsung senyawa induk dari insektisida tersebut, melainkan melalui proses metabolisme *polimorfisme sitokrom P450 (CYP)*. CYP mengkatalisasi desulfurasi oksidatif organotiofosfat menjadi oxon dan juga memediasi detoksikasi beberapa organofosfat.

Senyawa Diazinon teroksidasi menjadi Diaxozon. Ketika seseorang terpapar pestisida organophosfat maka PON1 akan menghidrolisis oxon dari *diazinon* tersebut dan menghasilkan *isopropyl-4-methyl-6-hydroxypyrimidine* dan *Diethyl Phosphate* sehingga senyawa pestisida tidak membahayakan lagi bagi tubuh.

Apabila pajanan pestisida terjadi secara terus-menerus dalam jumlah yang banyak, maka PON1 tidak mampu menghidrolisis keseluruhan oxon toksik pestisida sehingga oxon toksik ( $O_2^-$ ) tersebut akan berubah menjadi radikal bebas di dalam tubuh.

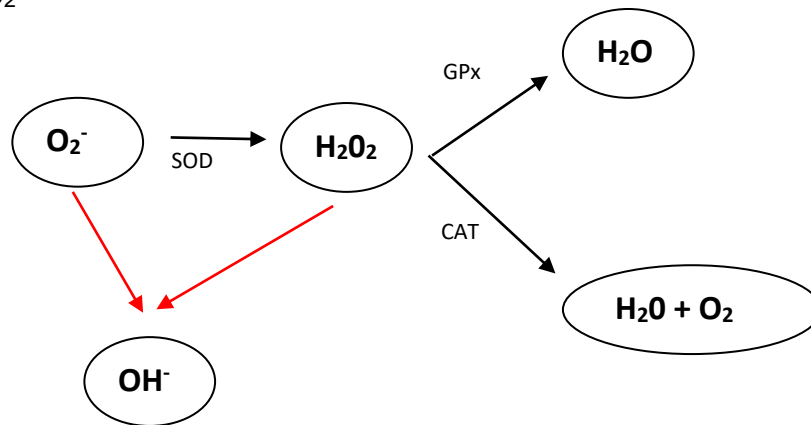
Radikal bebas yang terbentuk akibat ketidakmampuan PON1 menghidrolisis pestisida adalah radikal anion superoksida ( $O_2^-$ ) yang merupakan radikal bebas yang berbahaya bagi tubuh.

c. Terbentuknya Radikal bebas

Radikal bebas dan spesies oksigen reaktif (ROS) merupakan implikasi dalam sejumlah kondisi patologik dari penyakit tertentu seperti inflamasi, gangguan metabolik, penuaan selular, atherosclerosis dan

karcinogenesis. ROS termasuk radikal hidroksil ( $\text{OH}^\cdot$ ), radikal anion superoksida ( $\text{O}_2^\cdot$ ), hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) dan oksigen singlet.

Dalam sistem biologis, tubuh dapat memproduksi sendiri antioksidan yang berupa enzim seperti superoksida dismutase (SOD, *katalase* (CAT), dan *glutation peroksidase* (GPx) yang merupakan antioksidan endogen untuk menetralkan radikal bebas ( $\text{O}_2^\cdot$ ) Berikut dibawah ini mekanisme SOD, CAT dan GPx menetralkan radikal bebas ( $\text{O}_2^\cdot$



Gambar 2.11 Mekanisme SOD, CAT dan GPx mengubah radikal bebas menjadi non radikal

Apabila pajanan pestisida yang masuk ke dalam tubuh jumlahnya banyak dan tidak mampu diimbangi oleh enzim endogen di dalam tubuh, maka akan terbentuk *Radical Oxygen Species* (ROS) yaitu Radikal Hidroksil ( $\text{OH}^\cdot$ )

d. Terbentuknya *Malondialdehid* (MDA)

Peningkatan radikal bebas menstimulasi proses terjadinya peroksidasi lipid dan terhadap asam lemak tak jenuh berantai panjang (*Polyunsaturated Fatty Acid*) yang menghasilkan senyawa *malondialdehid* (MDA).

Peroksidasi lipid merupakan proses ketika radikal bebas berinteraksi dengan *polyunsaturated fatty acids* (PUFA) membran sel dan lipoprotein plasma. Peningkatan produksi radikal bebas akan meningkatkan peroksidasi lipid. Proses ini dapat berlangsung terus-menerus, menyebabkan terbentuknya serangkaian oksidasi lipid. Peroksidasi lipid terjadi melalui reaksi enzimatik ataupun non-enzimatik melibatkan spesies kimia aktif yang dikenal sebagai spesies oksigen reaktif.

*Malondialdehid* merupakan produk peroksidasi lipid yang merupakan aldehid reaktif, merupakan spesies elektrofil reaktif yang menyebabkan stres toksik pada sel dan membentuk produk protein kovalen yang dikenal sebagai *advance lipoxidation end products* (ALE)

Produksi aldehida ini digunakan sebagai biomarker untuk mengukur tingkat stres oksidatif dalam suatu organisme (Del Rio, Stewart and Pellegrini, 2005). Terjadinya stres oksidatif karena produksi ROS berlebihan maka antioksidan endogen harus mendapat tambahan antioksidan dari luar tubuh (antioksidan eksogen) yang dapat berasal dari asupan makanan dan minuman yang dikonsumsi tiap hari (Parwata, 2015).

e. Antioksidan *Diplazium esculentum*

*Diplazium esculentum* telah terbukti memiliki kandungan senyawa antioksidan, dapat menjadi anti inflamasi, anti bakteri, anti diabetes, mengurangi risiko hiperlipidemia dan hepatoprotektif (Junejo *et al.*, 2015a). Sebagai antioksidan Paku sayur (*Diplazium esculentum*) mengandung senyawa flavonoid, *monoterpen* dan *sesquiterpen*, steroid dan triterpenoid dan kuinon. (Syafitri, Purwanti and Sadiyah, 2007) dan (Tongco *et al.*, 2014).

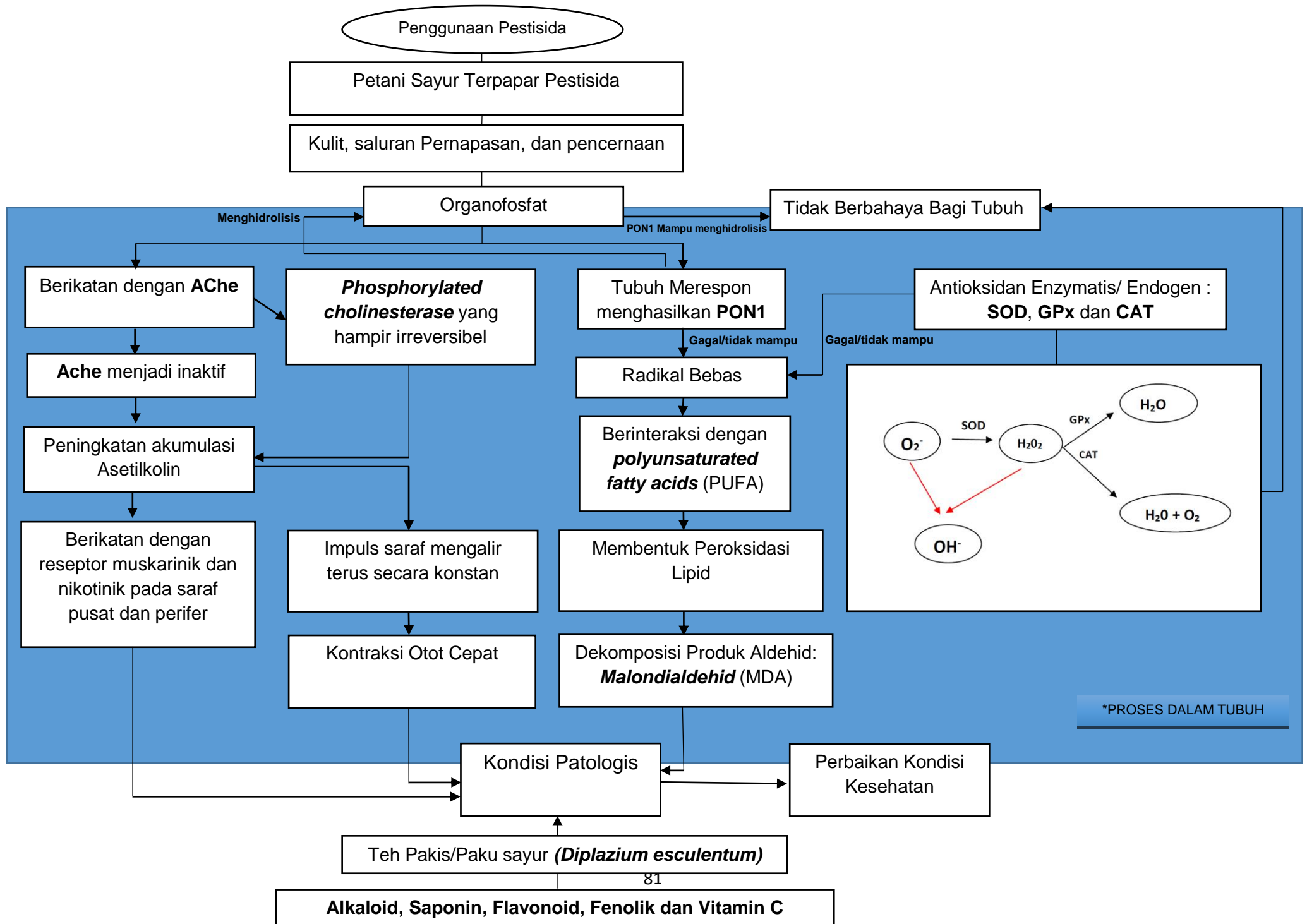
*Diplazium esculentum* merupakan antioksidan eksogen yang diperlukan tubuh untuk meningkatkan kadar PON1. Beberapa studi

epidemiologi telah melaporkan bahwa konsumsi flavonoid yang merupakan senyawa polifenol dalam makanan nabati dapat meningkatkan aktivitas PON1 pada hewan dan manusia (Tawali *et al.*, 2018) dan (Lou-Bonafonte *et al.*, 2017). Mengonsumsi flavonoid sebanyak (10 mg / L) pada mencit selama 4 minggu meningkatkan produksi PON1 oleh hati sebesar 35%, meningkatkan aktivitas serum PON1 serum sebesar 29% dan serum homosistein tiolaktonase (HCTL) sebanyak 23% (Gong *et al.*, 2009).

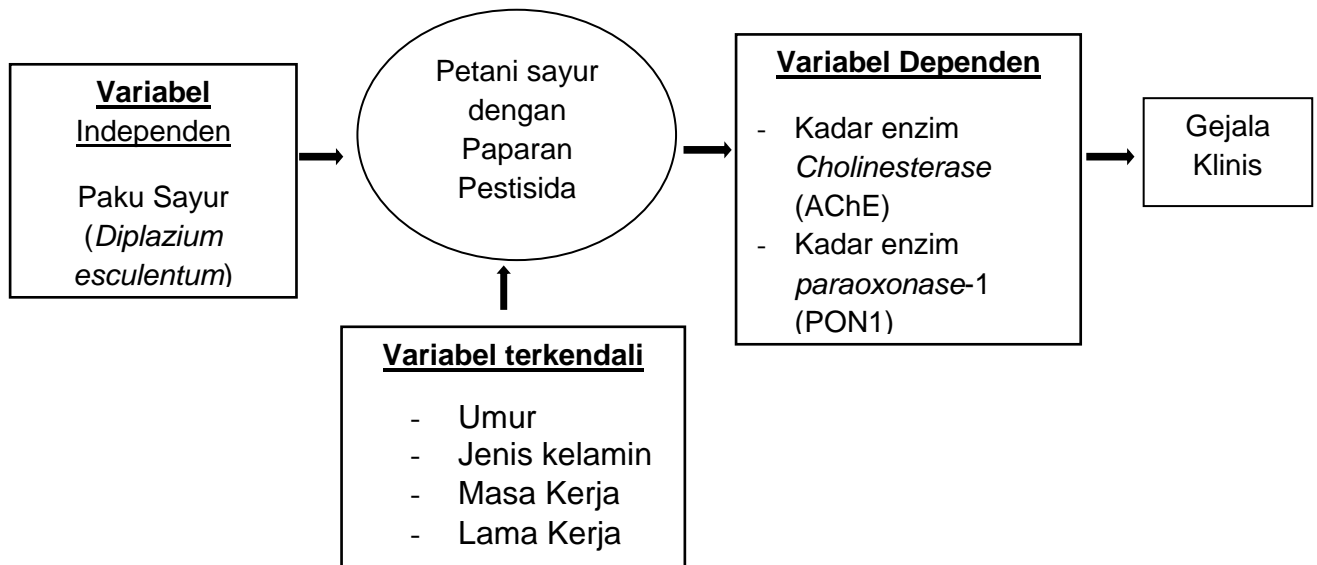
Flavonoid merupakan salah satu kandungan metabolit sekunder terbanyak yang dikonsumsi manusia sebagai antioksidan yang bersifat melawan radikal bebas, dan terbukti mampu menurunkan risiko penyakit tidak menular (PTM). Penelitian pada subjek berusia  $\geq 19$  tahun menunjukkan asupan flavonoid mampu menurunkan risiko kanker 41%, PJK 18%, hipertensi 9%, DM 8%, gagal jantung 19%, dan stroke 10% (McCullough *et al.*, 2012).

Apabila kadar PON1 meningkat maka oxon toksik dari pestisida yang berikatan dengan enzim *Cholinesterase* dapat di hidrolisis sehingga enzim *Cholinesterase* mampu untuk berfungsi normal dan zat sisa yang tidak berbahaya lagi dapat dikeluarkan tubuh melalui urin. Manifestasi dari meningkatnya kadar PON1 dalam menghidrolisis oxon toksik pestisida, maka tidak akan terbentuk radikal bebas di dalam tubuh sehingga tidak terjadi stress oksidatif.

# Kerangka Teori



## 2.5 Kerangka Konsep



Bagan 2.3 Kerangka Konsep

## 2.6 Definisi Operasional

### 1) *Diplazium esculentum*

#### a. Definisi operasional :

*Diplazium esculentum* yang digunakan untuk memenuhi kebutuhan antioksidan yang berbentuk serbuk yang dimasukkan ke dalam kantung teh (kemasan kecil, berpori dan tersegel) dengan kandungan dosis yang telah ditentukan, dikonsumsi dengan cara di seduh/*infuse* oleh petani pengguna pestisida. Waktu terbaik untuk mengonsumsi makanan mengandung antioksidan adalah pada pagi dan malam hari (Beaulieu and Schaefer, 2014).

#### b. Kriteria Objektif:

1) Baik : bila diminum sesuai jumlah dan waktu yang



ditentukan

2) Kurang : bila minimum tidak sesuai jumlah dan waktu yang ditentukan

c. Alat ukur : lembar check list (wawancara)

## 2) Enzim *Cholinesterase*

### a. Definisi Operasional

Enzim yang terdapat pada cairan seluler, yang fungsinya menghidrolisis asetikolin menjadi kolin dan asam asetat.

Pengukuran dilakukan pada serum darah dengan metode ELISA Kit.

### b. Kriteria Objektif:

1) Normal : Nilai 5,32-12,92 mU/ml

2) Tidak Normal : Nilai < 5,32 mU/ml

c. Alat ukur : Elisa

## 3) Aktivitas Enzim Serum *Paraoxonase-1* (PON1)

### a. Definisi Operasional

Suatu enzim yang disandi oleh gen mamalia yang bertanggungjawab menghidrolisis pestisida organofosfat. Pengukuran dilakukan pada serum darah dengan metode ELISA Kit.

### b. Kriteria Objektif

1) Normal : Nilai >2,2 ng/ml

2) Tidak Normal : Nilai < 2,2 ng/ml

c. Alat ukur : Elisa

#### 4) *Malondialdehid* (MDA)

##### a. Definisi Operasional

Senyawa toksik yang berasal dari reaksi ROS dan Lipid yang terbentuk stres oksidatif.

##### b. Kriteria Objektif:

- 1) Rendah <0,12 nmol/mL
- 2) Normal 0,12-1,71 nmol/mL
- 3) Tinggi >1,71 nmol/mL

##### c. Alat ukur : Elisa

#### 5) Gejala Klinis

##### a. Definisi Operasional

Gejala klinis adalah keluhan subjektif yang dirasakan oleh petani sayur pengguna pestisida meliputi : sakit kepala, pusing, sesak napas, pandangan kabur, mual, gemetar, sakit perut, iritasi kulit, mata berair, kejang

##### b. Kriteria Objektif

- 1) Mengalami: Apabila ada gejala yang dirasakan petani
- 2) Tidak mengalami: Apabila tidak ada gejala yang dirasakan petani

##### c. Alat ukur : Lembar Check list dan pemeriksaan fisik.

### **2.7 Hipotesis Penelitian**

- 1) Ada perbedaan kadar enzim *Cholinesterase* sebelum dan sesudah pemberian *Diplazium esculentum* pada petani sayur pengguna

pestisida di Desa kanreapia Kecamatan Tombolopao, Kabupaten Gowa.

- 2) Ada perbedaan kadar *Paraoxonase-1* (PON1) sebelum dan sesudah pemberian *Diplazium esculentum* pada petani sayur pengguna pestisida di Desa kanreapia Kecamatan Tombolopao, Kabupaten Gowa.
- 3) Ada perbedaan kadar *Malondialdehid* (MDA) sebelum dan sesudah pemberian *Diplazium esculentum* pada petani sayur pengguna pestisida di Desa kanreapia Kecamatan Tombolopao, Kabupaten Gowa.
- 4) Ada pengaruh *Diplazium esculentum* terhadap peningkatan kadar enzim *cholinesterase* pada petani pengguna pestisida di Desa kanreapia Kecamatan Tombolopao, Kabupaten Gowa.
- 5) Ada pengaruh *Diplazium esculentum* terhadap peningkatan kadar *Paraoxonase-1* (PON1) pada petani pengguna pestisida di Desa kanreapia Kecamatan Tombolopao, Kabupaten Gowa.
- 6) Ada pengaruh *Diplazium esculentum* terhadap penurunan kadar *Malondialdehid* (MDA) pada petani pengguna pestisida di Desa kanreapia Kecamatan Tombolopao, Kabupaten Gowa.
- 7) Ada perubahan gejala klinis setelah diberikan *Diplazium esculentum* pada petani pengguna pestisida di Desa kanreapia Kecamatan Tombolopao, Kabupaten Gowa.