

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Organofosfat

2.1.1. Definisi organofosfat

Senyawa Organofosfat merupakan penghambat yang kuat dari enzim kolinesterase (AChE) pada syaraf. Asetilkolin (Ach) berakumulasi pada persimpangan-persimpangan syaraf (*neural junction*) dan menghalangi penyampaian rangsangan syaraf kelenjar dan otot-otot (Yusniati, 2008).

Bahan tersebut digunakan untuk gas syaraf sesuai dengan tujuannya sebagai insektisida. Pada awal sintesisnya, diproduksi senyawa tetraethyl pyrophosphate (TEPP), parathion dan schordan yang sangat efektif sebagai insektisida tetapi juga toksik terhadap mamalia. Penelitian berkembang tersebut dan ditemukan komponen yang toksik terhadap serangga tetapi kurang toksik terhadap manusia (misalnya : malathion) (Yusniati, 2008).

Organofosfat adalah insektisida yang paling toksik diantara jenis pestisida lainnya dan sering menyebabkan keracunan pada orang. Termakan hanya dalam jumlah sedikit saja dapat menyebabkan kematian, tetapi diperlukan beberapa milligram untuk dapat menyebabkan kematian pada orang dewasa. Organofosfat menghambat aksi pseudokolinesterase dalam plasma dan kolinesterase dalam sel darah merah. Organofosfat dapat terurai di lingkungan dalam waktu ± 2 minggu (Yusniati, 2008).

2.1.2. Penggunaan, jenis dan toksisitas organofosfat

2.1.2.1. Penggunaan organofosfat

Pestisida sebagai alat membunuh atau mengedalikan organisme pengganggu, dibidang pertanian sudah digunakan sejak beberapa abad yang lalu. Sejak tahun 1942, penggunaan pestisida makin meningkat dan mendominasi cara pengendalian terhadap organisme pengganggu tanaman (OPT). Hal ini karena bahan tersebut sangat efektif, menghasilkan aktivitas penyembuhan dengan cepat, penggunaannya dapat disesuaikan dan diterima pada berbagai situasi, fleksibel dengan perubahan agronomis dan ekologis serta ekonomis. Pestisida merupakan salah satu cara yang memiliki pengaruh kuratif dan bekerja cepat, sehingga dapat digunakan untuk keadaan darurat dalam mengatasi masalah organisme pengganggu, yaitu ketika populasi telah mencapai ambang kendali. Penggunaan dilapangan dapat dilakukan sendiri oleh petani tanpa harus membutuhkan penanganan tenaga ahli. Atas dasar sifat-sifat tersebut berbagai jenis pestisida banyak diproduksi sehingga ratusan formulasi pestisida membanjiri pasaran dunia (Toto Himawan, 1999).

2.1.2.2. Jenis dan Toksisitas organofosfat

Tercatat 80 jenis bahan aktif pestisida dapat menjadi penyebab atau sebagai faktor "mutagenic agent" disebutkan dalam tabel 2.1 (Moriya, 1983: Weinstein, 1984: Simmon, 1980)

Tabel 2.1 Senyawa-senyawa pestisida yang telah terbukti dapat menjadi faktor penyebab mutasi genetik (Moriya, 1983; Weinstein, 1984; Sandhu, 1980; Simmon, 1980).

Acephate	Dicrotophos	NBT(2,4-
Allethrin	Diclorvos	dinitrophenylthiocyanate)
Aziphos-methyl	Dimethoate	NNN(5-nthro-1-
Benomyl	Dinocap	napthalonitrile)
Bromocil	Dinoseb	Nitofen
Butaclor	Disulfoton	Oxydemeton-methyl
Cocodylic	Echlomezel	Oxine copper
Captafol	Ethylnechlorohydrin	Parathion-methyl
Captan	Ethylenedibromide	Pentachlorophneol
Carbaryl	Ethylenedichloride	Phenazine oxide
Carbendazim	Ethylene oxide	Phosmer
Carbofuran	Ethylene thiourea	Pirimiphosmethyl
Clhormethoxynil	EMS	Polycarbamate
Clhorfenvinphos	ESP	Polyoxin D-Zn
Clhoropicrin	Fenaminosulf	Propanil
Clhorpyrifos	Fenitrition	Salithion
Cyclophosphamide	Ferbam	Simazine
2, 4- D acid	Folpet	2, 4, 5- T
2,4- BB acid	HEH(2-	thiometon
DBCP	hydroxyethylenehydrazin)	thiram
DD	Hemel	toxaphene
DDC	MAF	triallate

DDT	MCPA	triclorfon
Demeton	Malaeic hydrazide	TTCA(asomate)
	Metepa	Vamidotion
		Ziram

Tabel 2.2. Jenis pestisida dan mekanisme kerjanya (Sandhu, 1980).

Golongan Pestisida	Mekanisme kerja	Gejala keracunan yang timbul
Klor organik: endrim, aldrin, endosulfan(thidan), dieldrin, lindane(gamma BHC), DDT.	Mempengaruhi susunan syaraf pusat terutama otak.	Mual, sakit kepala, tak dapat berkonsentrasi. Pada dosis tinggi dapat terjadi kejang-kejang muntah dan dapat terjadi hambatan pernafasan.
Fosfat organik: mevinfos(fosdrin), paration, gution, monokrotofos(azodrin), dikrotofos, fosfamidon, diklorovos(DDVP), etion, efntion, diazinon.	Menghambat aktivitas enzim kholinestrace.	Sakit kepala, pusing-pusing, lemah, pupil mengecil, gangguan penglihatan dan sesak nafas, mual, muntah, kejang pada perut dan diare, sesak pada dada dan detak jantung menurun.

<p>Karbamat: aldikarb(temik), carbofuran(furadan), metomil(lannate), propoksur(baygon), karbaril(sevin).</p>	<p>Menghambat aktivitas enzim kholinestrerase, tetapi reaksinya revesible dan lebih banyak bekerja pada jaringan, bukan dalam darah/plasma. Dapat membentuk</p>	<p>Tanda-tanda keracunan umumnya lambat sekali baru terlihat.</p>
<p>Dipridil: paraquat, diquat, dan morfamquat.</p>	<p>ikatan dan merusak jaringan ephitel dari kulit, kuku, saluran pernafasan dan saluran pencernaan, sedangkan larutan yang pekat dapat menyebabkan peradangan.</p>	<p>Gejala keracunan selalu lambat diketahui, seperti perut, mual, muntah dan diare karena ada iritasi pada saluran pencernaan. 48-72 jam baru gejala kerusakan seperti ginjal seperti albumuria, proteinuria, hematuria, dan peningkatan kreatinin lever, 72 jam – 14 hari terlihat tanda-tanda kerusakan pada paru-paru.</p>

<p>Antikoagulan: tipe kumarin(warfarin), tipe 1,3 indantion: difasinon, difenadion(ramik).</p>	<p>Pestisida ini cepat diserap oleh pencernaan maakanan, penyerapan dapat terjadi sejak saat tertelan sampai 2-3 hari. Kumrain dapat diserap melalui kedua tipe pestisida ini menghambat pembentukan zat yang berguna untuk koagulasi/pembentukan darah antara lain protrombin.</p>	<p>Hematuria (kencing berdarah), hidung berdarah, sakit pada rongga perut, kurang darah dan kerusakan ginjal.</p>
<p>Arsen: arsen trioksid, kalium arsenat, asam arsenat dan arsin (gas).</p>	<p>Keracunan arsen pada umumnya melalui mulut walaupun bisa juga diserap melalui kulit dan saluran pernafasan.</p>	<p>Pada keracunan akut: nyeri pada perut, muntah dan diare. Pada keracunan sub akut akan timbul gejala seperti sakit kepala, pusing dan banyak keluar ludah.</p>

Pengikatan yang irreversibel pada kolinesterase dan kemudian menginaktivasinya, diyakini sebagai mekanisme utama toksisitas organofosfat (Shenouda et al., 2009). Apabila kolinesterase terikat, maka enzim tersebut tidak

dapat melaksanakan tugasnya sehingga syaraf dalam tubuh terus menerus mengirimkan perintah kepada otot-otot tertentu. Dalam keadaan demikian otot-otot tersebut senantiasa bergerak-gerak tanpa dapat dikendalikan. Disamping timbulnya gerakan-gerakan otot-otot tertentu, tanda dan gejala lain dari keracunan pestisida organofosfat adalah pupil atau celah iris mata menyempit sehingga penglihatan menjadi kabur, mata berair, mulut berbusa, atau mengeluarkan banyak air liur, sakit kepala, rasa pusing, berkeringat banyak, detak jantung yang cepat, mual, muntah-muntah, kejang pada perut, mencret, sukar bernapas dan pingsan (Gallo, 1991).

Senyawa organofosfat masuk melalui berbagai jalur (inhalasi, ingesti, dan absorpsi), terdistribusi dan bekerja menghambat aktivitas enzim kolinesterase dalam tubuh (*acetylcholinesterase* (AChE), yaitu enzim yang bertanggung jawab sebagai destruksi dan terminasi aktivitas biologis pada *neurotransmitter acetylcholine*. Penurunan aktivitas kolinesterase hingga di bawah 75% merupakan *biological marker* (biomarker) keracunan senyawa golongan organofosfat. Tingginya prevalensi keracunan yang dilihat dari hasil pengukuran aktivitas kolinesterase dalam darah ini dapat menjadi indikator tingginya pajanan pestisida golongan organofosfat pada petani (Klaassen CD, 2003).

Organofosfat merupakan antikolinesterase yang bersifat *irreversible* dalam penghambatan enzim melalui mekanisme yang disebut sebagai *aging*. Proses *aging* disebabkan oleh dealkilasi dari *dialkylphosphorylated enzyme intermediates*. Kolinesterase dalam plasma memerlukan waktu 3 minggu untuk kembali normal, sedangkan dalam sel darah merah membutuhkan waktu 2 minggu. (Prabowo K., 2002).

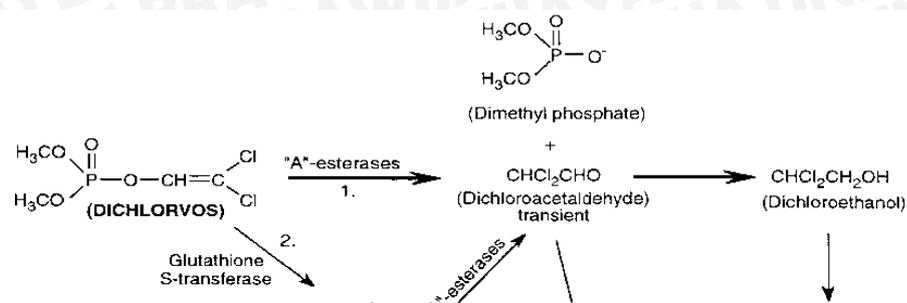
2.1.3. Diklorvos

2.1.3.1. Definisi diklorvos

Dichlorvos berukuran kecil (berat molekul = 221 dalton), merupakan molekul lipofilik dan diperkirakan akan diserap dengan cepat melintasi membran sel. Dichlorvos diserap melalui difusi pasif dari usus, paru-paru, dan kulit ke darah (Wright et al. 1979). Dichlorvos telah banyak dan efektif digunakan di seluruh dunia di bidang pertanian untuk mengendalikan serangga yang merusak tanaman. Untuk penanganan keracunan organofosfat, beberapa penangkal (*antidote*) telah dievaluasi dan yang saat ini direkomendasikan adalah atropin dan klorida pralidoxime. Pralidoxime klorida adalah suatu oksim, yang mengaktifkan kembali AChE yang dihambat dan mengembalikan fungsi pada sambungan neuromuscular (Taylor, 2001). Pralidoxime memiliki khasiat terapeutik terhadap toksisitas akut diklorvos (DDVP) (Zhu et al., 2005).

2.1.3.2. Metabolisme diklorvos

Secara *in vivo* dan *in vitro* telah ditetapkan bahwa hepar adalah organ utama yang mendetoksifikasi dichlorvos (Casida et al 1962;. Gaines et al 1966.). Dichlorvos juga dimetabolisme secara *in vitro* oleh darah, kelenjar adrenal, ginjal, paru-paru dan jaringan limpa sebagian besar untuk dimetil fosfat. Metabolit lain yang ditemukan adalah *desmethyl dichlorvos*, monometil fosfat, dan fosfat anorganik (Loeffler et al. 1976). Jalur metabolisme dichlorvos ditunjukkan pada Gambar 2.1.





Gambar 2.1 Jalur metabolisme diklorvos pada mamalia (Wright et al. 1979).

Studi tentang metabolisme dichlorvos telah dilakukan pada beberapa spesies hewan, termasuk manusia (Hutson dan Hoadley 1972b), tikus (Casida et al 1962; Hutson dan Hoadley 1972a, Hutson et al 1971), tikus (Hutson dan Hoadley 1972a, 1972b), hamster Suriah (Hutson dan Hoadley 1972b), babi (Loeffler et al 1976;.... Potter dkk 1973a, 1973b), kambing (Casida et al 1962), dan sapi (Casida et al 1962) menggunakan dichlorvos dengan berbagai rute

administrasi. Beberapa studi telah menunjukkan bahwa metabolisme dichlorvos umumnya sama pada spesies yang berbeda. Perbedaan antara spesies kebanyakan kuantitatif dan terkait dengan tingkat metabolisme.

Dichlorvos rusak melalui dua mekanisme enzimatik. Yang pertama adalah *glutathione-independent*, dikatalisasi oleh esterase tipe A, dan menghasilkan dimetil fosfat dan *dichloroacetaldehyde* (Wright et al. 1979). Yang kedua adalah *glutathione-dependent*, menghasilkan pembentukan *desmethyl dichlorvos* dan *S-methyl glutathione* (lihat Gambar 2.1). Degradasi selanjutnya dari *desmethyl dichlorvos* menjadi *dichloroacetaldehyde* dan monometil fosfat juga dikatalisis oleh esterase tipe A (Wright et al. 1979). *S-methyl-glutathione* dipecah menjadi *methylmercapturic acid* dan diekskresikan dalam urin hewan yang diobati dengan dichlorvos.

Beberapa penelitian *in vitro* telah meneliti metabolisme dichlorvos dalam darah. Aktivitas esterase tipe A berbeda dari *paraoxonase* telah ditandai dalam serum manusia (Traverso et al. 1989). Waktu paruh untuk degradasi dichlorvos dalam keseluruhan darah manusia adalah 8,1 menit untuk laki-laki dan 11,2 menit untuk perempuan (Blair et al. 1975).

2.1.3.3. Mekanisme Farmakokinetik diklorvos

Karakteristik utama dari farmakokinetik dichlorvos adalah penyerapan yang cepat dan metabolisme yang cepat. Toksisitas dosis dichlorvos yang diberikan tergantung pada seberapa cepat asetilkolinesterase saraf dihambat, jika hal ini terjadi sebelum proses metabolisme dapat mengurangi kadar dichlorvos

dalam darah, toksisitas yang signifikan akan terjadi (Pachecka et al 1977;. Reiner dan Plestina 1979).

Ketika diklorvos menghambat kerja asetilkolinesterase, sinyal yang dikirim antara sel-sel saraf dan otot-otot manusia terganggu. Gejala keracunan dichlorvos adalah mual, cemas, gelisah, *epiphora*, sangat berkeringat. Gejala lebih lanjut adalah termasuk kehilangan kontrol kandung kemih, tremor otot, dan sesak napas. Keracunan berat (5 ons atau lebih dari 5% solusi dichlorvos) dapat menyebabkan koma, ketidakmampuan untuk bernapas, dan kematian. Kebanyakan orang yang telah selamat dari keracunan dichlorvos dapat pulih sepenuhnya, meskipun terkadang membutuhkan waktu beberapa bulan. Keracunan dichlorvos tampaknya tidak menyebabkan kerusakan permanen pada saraf (suatu kondisi yang disebut "neuropati tertunda") (Reiner dan Plestina 1979).

Reaktivasi spontan dari asetilkolinesterase saraf yang dihambat telah dipelajari secara in vivo (Pachecka et al 1977;. Reiner dan Plestina 1979). Setelah dosis tunggal dichlorvos per oral 40 mg / kg pada tikus jantan, asetilkolinesterase otak terhambat 47% setelah 5 menit dan 83% setelah 15 menit (Pachecka et al. 1977). 60% asetilkolinesterase otak dihambat pada 2 jam, 36% dihambat pada 12 jam, dan tingkat kontrol dekat pada 48 jam. Setelah pemberian dichlorvos intravena pada tikus jantan, tingkat tertinggi penghambatan setelah dosis 2,5 mg / kg adalah 85% pada 30 menit. Penghambatan asetilkolinesterase otak kembali normal dalam waktu paruh 2 jam (Reiner dan Plestina 1979).

2.1.3.4. Mekanisme Toksisitas diklorvos

Mekanisme toksisitas dichlorvos adalah dengan menghambat asetilkolinesterase saraf. Kelompok *dichlorovinyloxy* dari molekul ini menarik kembali elektron dari atom fosfor, membuatnya rentan terhadap serangan nukleofilik (Wright et al. 1979). Salah satu nukleofil potensial adalah gugus hidroksil serin yang terletak di sisi aktif asetilkolinesterase. Produk dari reaksi ini adalah molekul *dimethoxy-phosphorylated acetylcholinesterase* dan *dichloroacetaldehyde*. Bentuk asetilkolinesterase terfosforilasi tidak mampu menghidrolisis asetilkolin.

Jika asetilkolinesterase dihambat, asetilkolin terakumulasi di sinaps dan dapat mengganggu fungsi neuron. Konsekuensi dari neurotransmisi kolinergik yang terganggu dalam sistem saraf parasimpatis mencakup lakrimasi, berkeringat, miosis, mual, muntah, diare, sekresi bronkial berlebihan, bradikardia, peningkatan air liur, dan peningkatan frekuensi kencing. Efek pada serabut saraf motorik di otot rangka dapat mencakup fasikulasi otot, kram, kelemahan otot, dan kekakuan. Efek pada sinaps kolinergik di sistem saraf pusat adalah mengantuk, kelelahan, kebingungan mental, sakit kepala, kejang dan koma. Ada juga bukti bahwa paparan berulang dichlorvos (5 mg / kg / hari secara injeksi intraperitoneal selama 30 hari berturut-turut) menurunkan tingkat oksidasi dan reduksi glutathione pada otak tikus. Penurunan kadar glutathione dapat menurunkan tingkat detoksifikasi dichlorvos oleh jalur metabolisme *glutathione-dependent* (Julka et al. 1992).

2.1.3.5. Produksi, penggunaan dan pembuangan diklorvos

Sebagai pestisida, dichlorvos sering disebut sebagai DDVP, yang merupakan singkatan dari 2,2-dimetil fosfat dichlorovinyl (*Farm Chemical*

Handbook, 1984). Formulasi komersial yang tersedia meliputi aerosol dan konsentrat larut. Secara historis, formulasi produk juga termasuk debu, butiran, konsentrat yang dapat diemulsikan, bubuk basah, kerah kutu, umpan, dan tablet (EPA 1990b; Pertanian Kimia Handbook 1984; IARC 1991; PIP-Dichlorvos 1993; The Agrokimia Buku Pegangan 1991). Dichlorvos juga diformulasikan dalam kombinasi dengan berbagai pestisida lainnya termasuk *dimethoate*, *dinocap*, *fenchlorphos*, *fenitrothion*, *iodofenphos*, *lindane*, *malathion*, *methoxychlor*, *phosalone*, *piperonil*, *pirimiphos-metil*, *propoxpur*, *tetrasul*, *pyrethrins*, dan *triklorfon* (IARC 1991; The Agrokimia Handbook 1991).

Dichlorvos telah digunakan secara luas sebagai insektisida dan mitisida sejak tahun 1961 untuk mengendalikan parasit internal dan eksternal pada ternak dan hewan domestik, untuk mengendalikan serangga di rumah-rumah, dan untuk perlindungan tanaman (IARC 1991). Karena dichlorvos adalah salah satu pestisida lebih tidak stabil di kelasnya, sehingga digunakan terutama untuk tindakan fumigannya (Cremllyn 1978). Dichlorvos efektif dalam mengendalikan hama pengganggu (misalnya, ulat, lalat, nyamuk, dan kecoak) di dalam dan sekitar tempat tinggal, tempat penyimpanan produk, kendaraan angkutan umum, dan kandang ternak. Pada tahun 1974, diklorvos menduduki peringkat sebagai salah satu dari tiga bahan aktif yang paling sering digunakan oleh operator pengendalian hama. formulasi dichlorvos aerosol dipandang sebagai yang paling populer (EPA 1976). Dichlorvos juga memiliki kegunaan terapi, telah dimasukkan dalam pakan ternak sebagai *antihelminthic* untuk mengobati berbagai parasit internal dan eksternal pada babi, kuda, dan anjing (Pertanian Chemical Handbook 1984; HSDB 1996; PIP-Dichlorvos 1993).

Dichlorvos didesain sebagai zat berbahaya berdasarkan *Federal Resource Conservation and Recovery Act*, dan pembuangan dichlorvos ke lingkungan diatur lebih lanjut oleh amandemen *Clean Water Act* (CWA) tahun 1977 dan 1987 dan *Comprehensive Environmental Response, Compensation, and liability Act* (CERCLA). Umumnya, metode pembuangan yang disarankan untuk dichlorvos termasuk hidrolisis alkali, penimbunan, dan pembakaran. Sebelum pembuangan, produk dari perlakuan dengan alkali dicampur dengan tanah yang kaya bahan organik. Teknologi pembuangan lain yang mungkin adalah menggabungkan residu diklorvos dengan serbuk gergaji diikuti dengan pembakaran pada suhu tinggi di unit yang dilengkapi dengan sikat gas buangan (IRPTC 1985).

2.2. Sistem Kardiovaskuler

2.2.1. Fisiologi kardiovaskuler

Jantung terdiri atas tiga tipe otot jantung, yang utama adalah : otot atrium, otot ventrikel, dan serabut otot eksitatorik dan konduksi khusus. Tipe otot atrium dan ventrikel berkontraksi dengan cara yang sama seperti otot rangka, hanya saja durasi kontraksi otot-otot tersebut lebih lama. Sebaliknya, serabut-serabut khusus eksitatorik dan konduksi berkontraksi dengan lemah sekali sebab serabut-serabut ini hanya mengandung sedikit serabut kontraktile; justru mereka memperlihatkan pelepasan muatan listrik berirama yang otomatis dalam bentuk potensial aksi atau konduksi potensial aksi yang melalui jantung, yang bekerja sebagai suatu sistem eksitatorik yang mengatur denyut jantung yang berirama (Guyton, 2008).

Transmisi rangsang saraf ke otot jantung terjadi melalui hubungan saraf-otot. Hubungan ini terdiri atas bagian ujung saraf motorik yang tidak berlapis myelin

dan membran otot yang dipisah oleh celah sinap. Di ujung saraf motorik terdapat gudang persediaan kalsium, vesikel atau gudang asetilkolin, mitokondria, dan retikulum endoplasmik. Reseptor dominan yang ada di jantung adalah reseptor muskarinik di bagian membran otot yang membutuhkan asetilkolin sebagai neurotransmitter utama. Asetilkolin merupakan bahan penghantar rangsang saraf (*neurotransmitter*) yang dibuat di dalam ujung serabut saraf motorik (Erwin, 2012).

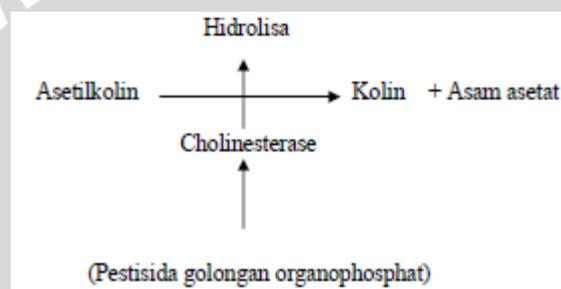
Potensial istirahat membran ujung saraf motorik (*resting membrane potential*) terjadi karena membran lebih mudah ditembus ion kalium ekstrasel daripada ion natrium. Potensial yang terukur umumnya 85-90 mV. Asetilkolin membuat membran tersebut lebih permeabel terhadap ion natrium sehingga terjadi depolarisasi. Influx ion kalsium memicu keluarnya asetilkolin sebagai transmitter saraf. Asetilkolin saraf akan menyeberang dan melekat pada reseptor nikotinik dan kolinergik di otot. Jika jumlahnya cukup banyak, akan terjadi depolarisasi dan lorong ion terbuka. Ion natrium dan kalsium masuk, sedangkan ion kalium keluar, terjadilah kontraksi otot. Asetilkolin cepat dihidrolisis oleh asetilkolin-esterase (kolin-esterase khusus atau murni) menjadi asetil dan kolin, sehingga lorong tertutup kembali maka terjadilah repolarisasi (Erwin, 2012).

2.3. Asetilkolinesterase (AChE)

2.3.1. Mekanisme kerja asetilkolinesterase

Akumulasi ACh di celah sinaps kolinergik menyebabkan stimulasi berlebihan di perifer serta pusat kolinergik sistem saraf yang mengakibatkan manifestasi klinis dalam bentuk krisis kolinergik akut (Taylor, 2001; Savolainen, 2001).

Acetylcholin (ACh) adalah suatu neuro hormon yang terdapat diantara ujung-ujung saraf, otot dan kelenjar. Ach berfungsi sebagai *neurotransmitter* yang meneruskan rangsangan saraf (impuls) ke reseptor sel otot dan kelenjer. Setelah rangsangan saraf ditransmisikan, *acetylcholine* dipecah menjadi cholin dan asam asetat oleh enzim *cholinesterase*. Masuknya organophospat kedalam tubuh, maka enzim *cholinesterase* yang tadinya berfungsi mengikat *acetylcholin* dan selanjutnya memecah menjadi cholin dan ion asetat, berubah fungsi mengikat organofosfat membentuk phosphorilated *cholinesterase*. Reaksinya adalah:



Gambar 2.2. Reaksi Pengikatan Kolinesterase Dengan Organofosfat (Mutschler, 1994).

Apabila rangsangan ini berlangsung terus menerus menyebabkan penimbunan asetilkolin. Cholinesterase yang terdapat di berbagai jaringan dan cairan tubuh dapat menghentikan rangsangan yang ditimbulkan asetilkolin di berbagai tempat dengan jalan menghidrolisis asetilkolin menjadi kolin dan asam asetat dalam waktu sangat cepat, sehingga penimbunan asetilkolin tidak terjadi. Organofosfat merupakan pestisida yang sangat berbahaya karena ikatan pestisida organofosfat dan cholinesterase hampir bersifat *irreversibel* (Mutschler, 1994).

Hambatan ini dapat terjadi beberapa jam hingga beberapa minggu tergantung dari jenis antikolinesterasenya. Hambatan oleh turunan karbamat hanya bekerja beberapa jam dan bersifat *reversibel*. Hambatan yang bersifat

irreversibel dapat disebabkan oleh turunan ester asam fosfat yang dapat merusak kolinesterase dan perbaikan baru timbul setelah tubuh mensintesis kembali kolinesterase (Mutschler,1994).

2.3.2. Hal-hal yang dapat mempengaruhi kadar asetilkolinesterase

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi proses sintesis dan/atau pelepasan asetilkolin, antara lain, adalah kalsium, magnesium, nutrisi, oksigenisasi, suhu, analgetik lokal, dan antibiotik golongan aminoglikosida (Erwin, 2012). Selain dari pestisida, ternyata umur dan status gizi juga berpengaruh terhadap kadar *cholinesterase*. Bayi yang baru lahir dan anak-anak serta orang tua (diatas 70 tahun) jika terpajan pestisida maka *cholinesterasenya* lebih cepat menurun bila dibandingkan dengan orang dewasa. Hasil penelitian yang dilakukan Achmadi tahun 1983 menyatakan ada hubungan antara *cholinesterase* dengan umur untuk jenis kelamin laki-laki, dimana yang berumur tua kadar *cholinesterasenya* cenderung lebih rendah (Munaf,1997).

2.3.3. Farmakologi klinis asetilkolin

Peningkatan jumlah asetilkolin yang disebabkan oleh inhibitor kolinesterase mempengaruhi bukan saja hanya reseptor nikotinic otot skelet, melainkan juga efek muskarinic beberapa sistem organ lain (Tabel 2.3) (Erwin, 2012).

Tabel 2.3 Efek penghambatan asetilkolinesterase (Erwin, 2012).

Kardiovaskular	Denyut jantung menurun, bradiaritmia
Pulmoner	Bronkospasme, sekresi bronkus meningkat
Serebral	Eksitasi difus
Gastrointestinal	Spasme intestinal, salivasi meningkat
Genitourinarius	Tonus kandung kemih meningkat
Oftalmologi	Konstriksi pupil

A. Efek Inhibisi Asetilkolinesterase terhadap sistem kardiovaskular

Efek muskarinik predominan pada jantung adalah bradikardi menyerupai refleks vagal yang dapat berlanjut menjadi henti sinus (*sinus arrest*). Efek ini telah dilaporkan pada jantung yang baru ditransplantasikan (denervasi), lebih sering pada jantung yang telah ditransplantasikan 6 bulan sebelumnya (reinervasi) (Erwin, 2012).

B. Efek Inhibisi Asetilkolinesterase terhadap sistem pulmoner

Stimulasi muskarinik dapat menyebabkan bronkospasme dan peningkatan sekresi saluran napas (Erwin, 2012).

C. Efek Inhibisi Asetilkolinesterase terhadap sistem serebral

Inaktivasi reseptor nikotinik-asetilkolin di susunan saraf pusat berperan penting pada mekanisme kerja anestesi umum (Erwin, 2012)..

D. Efek Inhibisi Asetilkolinesterase terhadap sistem gastrointestinal

Stimulasi muskarinik meningkatkan aktivitas peristaltik saluran cerna (esofagus, lambung dan usus) dan juga sekresi kelenjar (kelenjar ludah, dll.). Kebocoran perioperatif post anastomosis usus, mual dan muntah, juga inkontinensia feces merupakan beberapa komplikasi penggunaan inhibitor kolinesterase. Efek samping muskarinik yang tidak diinginkan dikurangi dengan penggunaan antikolinergik sebelum atau bersamaan dengan pemberian inhibitor asetilkolinesterase, seperti pemberian atropin bersama glikopirilat. Durasi kerja obat golongan inhibitor asetilkolinesterase berbeda-beda. Klirens tergantung pada metabolisme hepatic (25-50%) dan ekskresi renal (50-75%). Perpanjangan kerja pelumpuh otot non-depolarisasi akan diikuti oleh peningkatan durasi kerja obat inhibitor asetilkolinesterase (Erwin, 2012).

2.3.4. Hubungan antara Asetilkolinesterase (AChE) dan Paraoxonase-1 (PON 1)

Paraoxonase (PON-1) adalah enzim anggota dari keluarga protein yang juga mencakup PON2 dan PON3. Gen untuk pembentukannya terletak di lengan panjang kromosom 7 (q21.22) manusia dan kromosom 6 pada tikus. PON-1 disintesis terutama di hati dan sebagian disekresikan ke dalam plasma dimana PON-1 terkait dengan *high density lipoproteins* (HDL) (Costa, 2003). Kalsium diperlukan untuk aktivitas dan stabilitas PON-1 serta berperan dalam mekanisme katalitik (Bayrak et al., 2005). Penelitian yang dilakukan oleh Aldridge pada tahun 1951 menemukan bahwa PON-1 mampu menghidrolisis substrat paraoxon organofosfat, yang merupakan metabolit beracun dari insektisida parathion. Penelitian yang dilakukan oleh Costa dan Furlong tahun 2003 tentang toksikologi

pestisida organofosfat mengungkapkan bahwa, aktivitas serum PON-1 yang rendah akan meningkatkan sensitivitas terhadap efek akut senyawa organofosfat. Kadar PON-1 yang tinggi dalam plasma akan melindungi tubuh dari paparan senyawa organofosfat tertentu, termasuk dichlorvos (Costa et al.,1990).

Aktivitas PON-1 dalam serum dipengaruhi oleh diet, kehamilan, rokok, hormon, protein fase akut dan usia. Selain itu, aktivitas PON-1 juga dipengaruhi oleh adanya paparan pestisida organofosfat. Aktivitas PON-1 pada bayi baru lahir dan bayi prematur adalah setengah dari orang dewasa PON-1 kegiatan, hanya setelah satu tahun mencapai tingkat dewasanya. Aktivitas PON-1 menurun sesuai dengan usia (Biasioli et al, 2003;. Seres et al, 2004), tetapi aktivitas enzim tidak berbeda berdasarkan jenis kelamin (Azarsız dan Sözman, 2000; Ekmekçi et al, 2004).

Diet yang kaya lemak jenuh, mengurangi aktivitas PON / arylesterase dalam serum, dan diet yang kaya akan lemak tak jenuh, meningkatkan aktivitas PON / arylesterase aktivitas dalam serum (Laplaud et al., 1998). Selain itu, aktivitas PON-1 pada pria dewasa meningkat saat mengonsumsi alkohol dengan jumlah yang sedang (Azarsız dan Sözman, 2000). Anggur merah dan asupan polifenol meningkatkan aktivitas PON pada tikus yang kekurangan Apo E. Rokok juga menghambat aktivitas PON-1 (Azarsız dan Sözman, 2000). Studi terbaru meneliti tentang peran dari PON-1 pada penyakit kardiovaskular membuktikan bahwa status PON-1 (meliputi genotipe dan tingkat aktivitas) adalah prediksi yang jauh lebih baik dari penyakit kardiovaskular daripada genotipe PON-1 saja.

Mekanisme toksisitas dichlorvos adalah dengan menghambat asetilkolinesterase saraf (Wright et al. 1979). Penghambatan kerja asetilkolinesterase oleh diklorvos menyebabkan sinyal yang dikirim antara sel-sel

saraf dan otot-otot manusia terganggu (Reiner dan Plestina 1979). Dengan tingginya kadar PON-1 dalam plasma, seharusnya kadar asetilkolinesterase tidak menurun drastis meskipun terjadi paparan dichlorvos.

2.4. Xanthone dalam Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.)

2.4.1. *Garcinia mangostana* L.

Manggis merupakan tanaman buah berupa pohon yang berasal dari hutan tropis yang teduh di kawasan Asia Tenggara, yaitu hutan belantara Malaysia atau Indonesia. Dari Asia Tenggara, tanaman ini menyebar ke daerah Amerika Tengah dan daerah tropis lainnya seperti Srilanka, Malagasi, Karibia, Hawaii dan Australia Utara. Di Indonesia manggis disebut dengan berbagai macam nama lokal seperti manggu (Jawa Barat), Manggus (Lampung), Manggusto (Sulawesi Utara), Manggista (Sumatera Barat) (Rukmana, 1995)



Gambar 2.3. Daun dan buah manggis (Rukmana, 1995).

Klasifikasi botani pohon manggis adalah sebagai berikut (Rukmana, 1995):

Divisi : Spermatophyta

Sub divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledonae
Keluarga : Guttiferae
Genus : Garcinia
Spesies : Garcinia mangostana L.

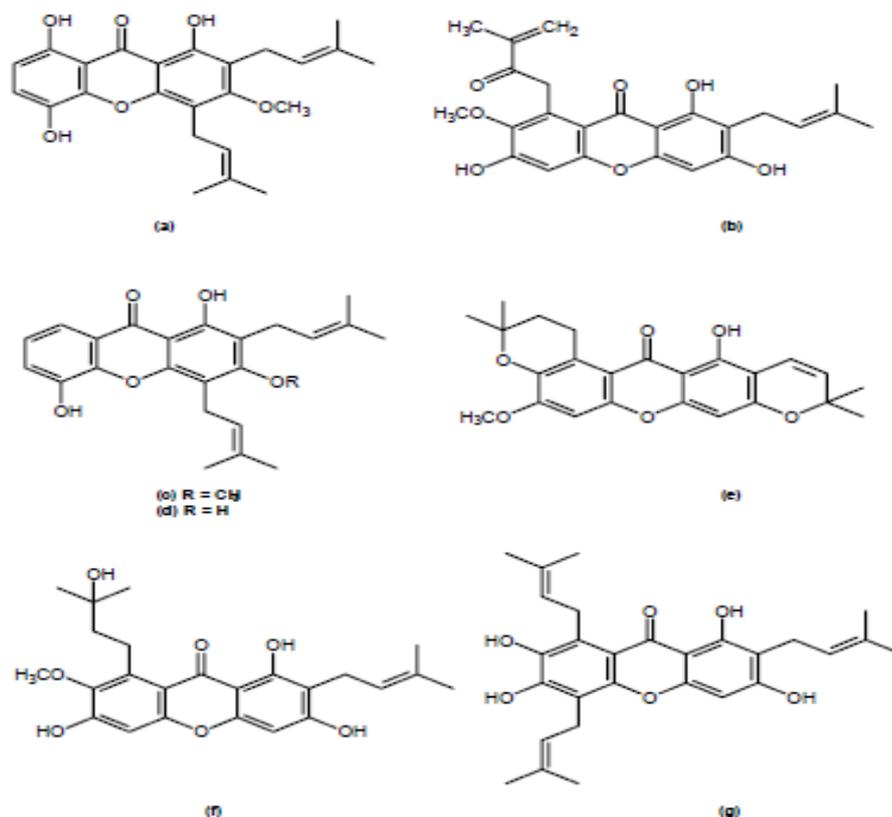
Secara tradisional buah manggis adalah obat sariawan, wasir dan luka. Batang pohon dipakai sebagai bahan bangunan, kayu bakar/ kerajinan (Rukmana, 1995). Bagian tanaman yang secara tradisional sering dipakai dalam pengobatan tradisional (diare, disentri, eksim dan penyakit kulit lainnya) adalah kulit buah (Nugroho, 2010).

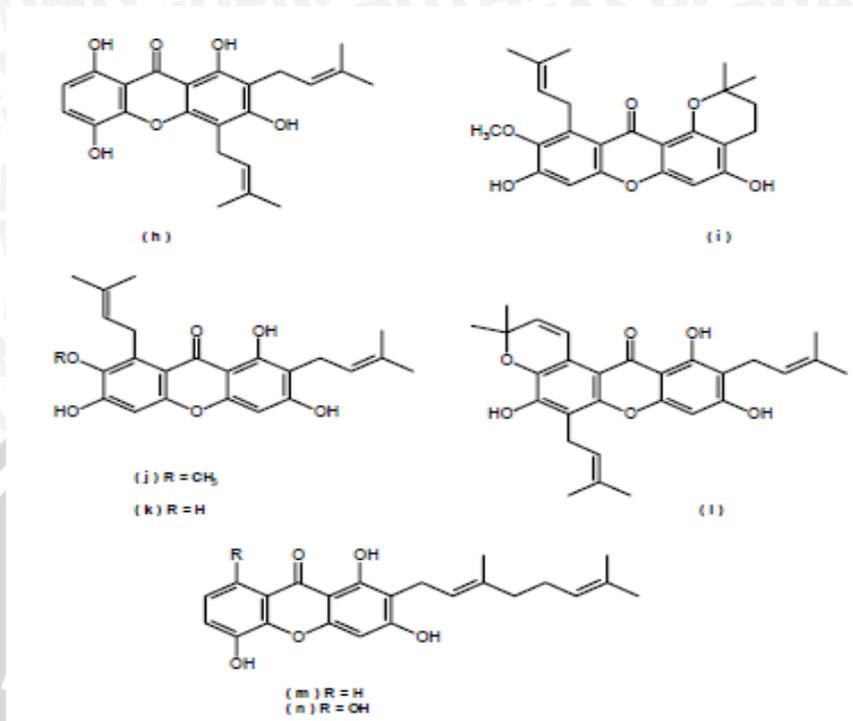
2.4.2. Zat-zat yang terkandung dalam kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.)

Kulit manggis yang dahulu hanya dibuang saja ternyata menyimpan sebuah harapan untuk dikembangkan sebagai kandidat obat. Kulit buah manggis setelah diteliti ternyata mengandung beberapa senyawa dengan aktivitas farmakologi misalnya antiinflamasi, antihistamin, pengobatan penyakit jantung, antibakteri, antijamur bahkan untuk pengobatan atau terapi penyakit HIV. Beberapa senyawa utama kandungan kulit buah manggis yang dilaporkan bertanggung jawab atas beberapa aktivitas farmakologi adalah golongan xanton. Senyawa xanton yang telah teridentifikasi, diantaranya adalah 1,3,6-trihidroksi-7-metoksi-2,8-bis(3-metil-2-butenil)- 9H-xanten-9-on and 1,3,6,7-tetrahidroksi-2,8-bis(3-metil-2-butenil)- 9Hxanten-9-on. Keduanya lebih dikenal dengan nama alfa mangostin dan gamma-mangostin (Jinsart, 1992). Ho *et al* (2002) melaporkan

senyawa xanton yang diisolasi dari kulit buah manggis, ternyata juga menunjukkan aktivitas farmakologi yaitu garcinon E. Lebih lanjut, Jung *et al* (2006) berhasil mengidentifikasi kandungan xanton dari ekstrak larut dalam diklorometana, yaitu 2 xanton terprenilasi teroksidasi dan 12 xanton lainnya. Dua senyawa xanton terprenilasi teroksidasi adalah 8-hidroksikudraksanton G, dan mangostingon [7-metoksi-2-(3-metil-2-butenil)-8-(3-metil-2-okso-3-butenil)-1,3,6-trihidroksisanton. Sedangkan keduabelas xanton lainnya adalah : kudraksanton G, 8-deoksigartanin, garsimangoson B, garsinon D, garsinon E, gartanin, 1-isomangostin, alfamangostin, gamma-mangostin, mangostinon, smeathxanthon A, dan tovofillin

A.





Gambar 2.4. Senyawa-senyawa yang terkandung dalam kulit manggis (Jinsart, 1992).

2.4.3. Xanthone dalam kulit buah manggis *Garcinia mangostana* L.

2.4.3.1. Definisi dan kegunaan xanthone

Kulit buah manggis dikenal sebagai salah satu sumber alami terbaik xanthones, yang merupakan metabolit sekunder tanaman (Deachathai, Mahabusarakam, Phongpaichit, & Taylor, 2005; Jung, Su, Keller, Mehta, & Kinghorn, 2006). Xanthone milik kelas senyawa polifenol yang biasa ditemukan dalam keluarga tanaman yang lebih tinggi (Peres, Nagem, & Oliveira, 2000; Zadernowski et al, 2009). Secara kimiawi, Xanthone (9H-xanthen-9-ones) adalah senyawa heterosiklik dengan kerangka Dibenzo-g-pyrone. Inti xanthone diberi nomor sesuai dengan konvensi biosintesis dengan karbon 1-4 yang diperuntukkan

untuk asetat yang diturunkan cincin A dan karbon 5-8 untuk cincin shikimate yang diturunkan untuk ring B.

Xanthone dan turunannya telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan tinggi (Jung et al, 2006), aktivitas anti-inflamasi (Chen, 2008), aktivitas antibakteri (Fang, 2008), aktivitas anti-aterosklerotik (Park et al., 2006b) dan aktivitas anti malaria (Hay et al., 2004). Oleh karena itu, xanthone dari kulit buah manggis baru-baru telah digunakan untuk menghasilkan berbagai produk suplemen makanan, minuman serta barang antiseptik, misalnya, sabun dan plester di banyak negara. (Ji et al. 2007). Walker pada tahun 2007 melaporkan penggunaan kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) dan detektor *array photodiode* untuk mendeteksi dan mengukur xanthone di kulit buah manggis. Peneliti ini melaporkan adanya enam xanthones, yang merupakan α -mangostin, β -mangostin, 9-hydroxycalabaxanthone, 3-isomangostin, gartanin, dan 8-desoxygartanin, di manggis kulit buah (Suvarnakuta, 2011).

2.4.3.2. Proses ekstraksi xanthone dalam kulit buah manggis *Garcinia mangostana* L.

Pericarp *G. Mangostana*, sebanyak 1 kg yang dikeringkan dan digiling, diekstraksi secara maserasi dengan MeOH (3x5 L) pada suhu kamar, selama 3 hari. Setelah penyaringan dan penguapan dari pelarut dibawah tekanan tereduksi, kombinasi ekstrak metanol mentah (324,3 g) disuspensikan dalam H₂O (700 mL) untuk menghasilkan larutan, kemudian dipartisi pada gilirannya dengan *n*-heksana (3x500 mL), CH₂Cl₂ (3x500 mL), EtOAc (3x500 mL), dan *n*-BuOH (3x500mL) untuk menghasilkan ekstrak *n*-heksana kering (36,9 g), CH₂Cl₂ (111,2 g), EtOAc (69,3

g), *n*-BuOH (141,7 g), dan H₂O larut (~7,3 g). Partisi larut CH₂Cl₂ ditemukan memiliki aktivitas antioksidan yang signifikan dalam *scavenging bioassay* ONOO⁻. Oleh karena itu, ekstrak ini terpilih untuk pemurnian rinci lebih lanjut.

Ekstrak CH₂Cl₂ larut dilakukan kromatografi pada kolom gel silika, dielusi dengan CHCl₃/MeOH (dari 100:1 sampai 1:1), untuk memberikan 21 fraksi (F01-21). F08 (200 mg) dikromatografi pada kolom gel silika dengan sistem pelarut *n*-hexane/EtOAc (20:1 hingga EtOAc murni) untuk memberikan sepuluh subfraksi (F0801-F0810). *Tovophyllin A* (14; 10 mg) diperoleh sebagai padatan kuning dari larutan (CHCl₃/MeOH, ~10: 1) dari F0807. Subfraksi F0804-F0806 digabungkan dan berturut-turut dikromatografikan pada kolom HPLC fase terbalik, dengan H₂O/CH₃CN (15:85) pada laju alir 7,0 mL/menit untuk mendapatkan *cludaxanthone G* (3; 5 mg; *t_R*=34,0 menit) dan *8-hydroxycuderaxanthone G* (1; 6 mg; *t_R*=42,5 menit). Sebagian fraksi F10 (600 mg dari 3,4 g) dikromatografikan pada kolom gel silika dengan *n*-heksana/sistem pelarut EtOAc (20:1 hingga EtOAc murni) untuk menghasilkan senyawa *8-deoxygartanin* murni (4; 30 mg) dan *gartanin* (8; 340 mg). *Garcinone E* (7; 30 mg) diisolasi dari F11 dengan kromatografi kolom gel silika dengan *n*-hexane/CH₂Cl₂/EtOAc (65:30:5) sebagai elusi campuran pelarut. α -Mangostin (10; 13 g) diisolasi sebagai komponen utama dari gabungan fraksi F12 (4,8 g) dan F13 (20 g) dengan kromatografi gel silika yang dielusi dengan *n*-hexane/EtOAc (6:1) dan kromatografi kolom Sephadex LH-20 dengan MeOH murni sebagai pelarut.

Subfraksi dari F13 kemudian digabungkan dan dikromatografikan pada kolom gel silika dielusi dengan *n*-hexane/EtOAc (5:1 sampai EtOAc) untuk memberikan jumlah tambahan dari α -mangostin (10, 650 mg) dan subfraksi selanjutnya, F1301-F1305. Subfraksi F1303 akhirnya dimurnikan dengan

semipreparative reversed-phase HPLC [H₂O/CH₃CN (30:70); tingkat aliran=6,0 mL / menit] untuk mendapatkan senyawa baru kecil, *mangostingone* (2; 1,2 mg; t_R=15,8 menit). Fraksi F17 (3.8 g) dikromatografikan pada kolom Sephadex LH-20 menggunakan MeOH sebagai eluen, menghasilkan tujuh subfraksi (F1701-F1707). F1702 (200 mg) dimurnikan pada kolom gel silica dengan *n*-hexane/EtOAc (4:1) sebagai sistem pelarut untuk mendapatkan *1-isomangostin* (9, 35 mg) dan *garcimangosone* B (5, 3 mg), untuk polaritas. F1705 dipisahkan menggunakan *semipreparative reversed-phase* kolom HPLC dengan H₂O/CH₃CN (15:85) pada laju alir 7,0 mL / menit untuk menghasilkan *mangostinone* (12; 6 mg; t_R=28,0 menit) dan *smeathxanthone* A (13; 8 mg; t_R=45,0 menit). F1706 dimurnikan dengan sebuah kolom Sephadex LH-20 menggunakan MeOH murni sebagai pelarut, untuk memberikan *γ-mangostin* (11, 600 mg). Fraksi F18 difraksinasi pada kolom gel silica dengan CHCl₃/acetone (40:1) sebagai pelarut, menghasilkan 12 subfraksi (F1801-F1812). Subfraksi utama, F1805 (6 g), dikromatografikan pada kolom Sephadex LH-20, dielusi dengan murni MeOH, untuk menghasilkan mengisolasi yang lain, *γ-mangostin* (11, 2 g), dan tujuh subfraksi (F180501-F180507). F180502 (100 mg) dimurnikan pada kolom gel silica dengan CHCl₃/acetone (35:1) sebagai pelarut, untuk mendapatkan tambahan sejumlah *1-isomangostin* (9; 20 mg). F180504 (90 mg) dikromatografi pada kolom gel silica fase terbalik yang dielusi dengan MeOH/H₂O (7:3), untuk menghasilkan *garcinone* D (6; 10 mg) (Jung, 2006).

2.4.3.3. Mekanisme kerja antioksidan xanthone terhadap sistem kardiovaskuler

Antioksidan adalah zat yang dapat menunda atau mencegah terbentuknya reaksi radikal bebas (peroksida) dalam oksidasi lipid. Berdasarkan sumber perolehannya ada 2 macam antioksidan, yaitu antioksidan alami dan antioksidan buatan (sintetik) (Dalimartha dan Soedibyo, 1999). Antioksidan alami mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan yang disebabkan spesies oksigen reaktif, mampu menghambat terjadinya penyakit degeneratif serta mampu menghambat peroksidasi lipid pada makanan. Antioksidan alami umumnya mempunyai gugus hidroksi dalam struktur molekulnya (Sunarni, 2005). Xanthone termasuk senyawa polifenol yang merupakan antioksidan alami, telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan tinggi (Okonogi, 2007).

Penggunaan senyawa antioksidan juga anti radikal saat ini semakin meluas seiring dengan semakin besarnya pemahaman masyarakat tentang peranannya dalam menghambat penyakit degeneratif seperti penyakit jantung, arteriosclerosis, kanker, serta gejala penuaan. Masalah-masalah ini berkaitan dengan kemampuan antioksidan untuk bekerja sebagai inhibitor (penghambat) reaksi oksidasi oleh radikal bebas reaktif yang menjadi salah satu pencetus penyakit-penyakit di atas (Tahir dkk, 2003). Fungsi utama antioksidan digunakan sebagai upaya untuk memperkecil terjadinya proses oksidasi dari lemak dan minyak, memperkecil terjadinya proses kerusakan dalam makanan, memperpanjang masa pemakaian dalam industri makanan, meningkatkan stabilitas lemak yang terkandung dalam makanan serta mencegah hilangnya kualitas sensori dan nutrisi. Lipid peroksidasi merupakan salah satu faktor yang cukup berperan dalam kerusakan selama dalam penyimpanan dan pengolahan makanan (Hernani dan Raharjo, 2005).

2.4.3.4. Toksisitas xanthone

Senyawa-senyawa utama yang dominan menunjukkan aktivitas farmakologi adalah alfa-mangostin, gamma-mangostin dan garsinon-E. Jujun *et al.* (2006) melakukan uji toksisitas aku maupun subkronis terhadap ekstrak etanol kulit buah manggis yang mengandung senyawa-senyawa aktif pentingnya. Pada percobaan toksistas akut, ekstrak (10-25 %) tersebut tidak menunjukkan efek toksis (kematian dan perubahan fisik ataupun aktivitas) pada tikus. Secara histopatologi, juga tidak ditemukan perubahan yang berarti pada organ-organ vital tikus (hati, jantung, paru-paru, adrenal, ovarium, ginjal, testis). Pada percobaan toksisitas sub-kronis, pemakaian ekstrak etanol kulit buah manggis (dosis 50-1000 mg/kg BB) selama 28 hari juga tidak menunjukkan efek toksik yang berarti, yang meliputi pengamatan gejala efek toksis, perubahan pertumbuhan, bobot organ-organ vital, analisa hematologi, kimia darah maupun gross histopatologinya.

2.5. Mekanisme reduksi efek toksik diklorvos pada tikus wistar oleh xanthone dalam kulit manggis

Mekanisme toksisitas dichlorvos adalah dengan menghambat asetilkolinesterase saraf. Jika asetilkolinesterase dihambat, asetilkolin terakumulasi di sinaps dan dapat mengganggu fungsi neuron. Konsekuensi dari neurotransmisi kolinergik yang terganggu dalam sistem saraf parasimpatis mencakup lakrimasi, berkeringat, miosis, mual, muntah, diare, sekresi bronkial berlebihan, bradikardia, peningkatan air liur, dan peningkatan frekuensi kencing. Efek pada serabut saraf motorik di otot rangka dapat mencakup fasikulasi otot,

kram, kelemahan otot, dan kekakuan. Efek pada sinaps kolinergik di sistem saraf pusat adalah mengantuk, kelelahan, kebingungan mental, sakit kepala, kejang dan koma.

Diklorvos dalam tubuh manusia dan mamalia lainnya dapat direduksi oleh enzim PON-1 dan *glutathione* melalui mekanisme yang berbeda. Penelitian yang dilakukan oleh Aldridge pada tahun 1951 menemukan bahwa enzim PON-1 mampu menghidrolisis substrat paraoxon organofosfat, yang merupakan metabolit beracun dari insektisida parathion. Kadar PON-1 yang tinggi dalam plasma akan melindungi terhadap paparan senyawa organofosfat tertentu, termasuk dichlorvos (Costa et al., 1990).

Dichlorvos juga dapat dirusak oleh tubuh melalui dua mekanisme enzimatik selain melalui PON-1. Yang pertama adalah *glutathione-independent*, dikatalisasi oleh esterase tipe A, dan menghasilkan dimetil fosfat dan *dichloroacetaldehyde* (Wright et al. 1979). Yang kedua adalah *glutathione-dependent*, menghasilkan pembentukan *desmethyl dichlorvos* dan *S-methyl glutathione*. Ada bukti bahwa paparan berulang dichlorvos (5 mg / kg / hari secara injeksi intraperitoneal selama 30 hari berturut-turut) menurunkan tingkat oksidasi dan reduksi *glutathione* pada otak tikus. Penurunan kadar *glutathione* dapat menurunkan tingkat detoksifikasi dichlorvos oleh jalur metabolisme *glutathione-dependent*. (Julka et al. 1992).

Tubuh manusia menghasilkan *glutathione* yang merupakan senyawa antioksidan, tetapi jumlahnya sering kali tidak cukup untuk menetralkan radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh (Sofia, 2006). *Glutathione* (GSH) adalah tripeptida larut air, yang terdiri dari asam amino glutamin, sistein dan glisin, serta dibentuk di dalam tubuh. *Glutathione* berfungsi sebagai antioksidan baik secara langsung melalui interaksi dengan spesies oksigen reaktif atau *reactive oxygen*

species (ROS) dan elektrofil, atau secara tidak langsung dengan berperan sebagai kofaktor untuk berbagai enzim. Glutathione merupakan salah satu antioksidan yang sangat kuat, hanya tubuh memerlukan tambahan antioksidan lain dari luar tubuh untuk memicu tubuh menghasilkan *glutathione* ini.

Berdasarkan sumber perolehannya ada 2 macam antioksidan, yaitu antioksidan alami dan antioksidan buatan (sintetik) (Dalimartha dan Soediby, 1999). Antioksidan alami terbagi menjadi antioksidan enzim, vitamin dan polifenol. Antioksidan enzim meliputi *superoksida dismutase* (SOD), katalase dan glutathion peroksidase (GSH.Prx). Antioksidan vitamin mencakup α -tokoferol (vitamin E), β -karoten dan asam askorbat (vitamin C) yang banyak didapatkan dari tanaman dan hewan (Sofia, 2006). Pada penelitian yang dilakukan oleh Calla tahun 2006, vitamin C dapat memicu tubuh menghasilkan *glutathione* yang mempertahankan aktivitas enzim PON-1. Xanthone termasuk senyawa polifenol yang merupakan antioksidan alami, telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan tinggi (Okonogi, 2007).

Oleh karena itu, pemberian xanthone yang juga merupakan antioksidan alami dapat mensubstitusi vitamin C sebagai antioksidan tambahan yang membantu aktivitas enzim PON-1 untuk melindungi tubuh dari paparan dichlorvos. Sehingga, kadar asetilkolinesterase yang berkurang akibat paparan berulang dichlorvos dapat meningkat lagi.