

BAB VI

PEMBAHASAN

6.1 Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Teh Hijau terhadap Malformasi Jantung Larva Ikan Zebra

Dalam penelitian ini, perlakuan yang diberikan pada telur ikan zebra 2 *hpf* hingga 72 *hpf* berupa paparan ekstrak etanol daun teh hijau dalam 3 konsentrasi, yaitu konsentrasi pertama 125 *ppm* (P1), konsentrasi kedua 250 *ppm* (P2), dan konsentrasi ketiga 500 *ppm* (P3). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Chen *dkk.* (1996) terdapat 40 mutasi yang dapat mempengaruhi pembentukan pola jantung dan pemeliharaan fungsi jantung yang dikategorikan dalam 2 subkelas, yaitu morfologi dan fungsional. Oleh karena itu, malformasi jantung yang diamati dalam penelitian ini adalah abnormalitas fungsional dengan ditandai adanya penurunan frekuensi denyut jantung dan abnormalitas morfologi dengan membandingkan perubahan morfologi jantung antara kelompok perlakuan dengan kontrol. Frekuensi denyut jantung dan abnormalitas morfologi jantung diamati pada larva yang sama agar bisa mengetahui hubungan antar keduanya.

Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan terjadinya penurunan frekuensi denyut jantung yang signifikan pada kelompok P2 dan P3 apabila dibandingkan dengan kontrol ($p=0,019$ vs $p=0,002$). Begitu pula dengan abnormalitas morfologi jantung, terdapat hasil yang signifikan antara kelompok P2 dan P3 dibandingkan dengan kontrol ($p=0,001$ vs $p=0,000$), kelompok P2 dan P3 dibandingkan dengan P1 ($p=0,010$ vs $p=0,000$), serta kelompok P2 dibandingkan dengan P3 ($p=0,044$). Oleh karena itu, malformasi jantung terjadi pada larva ikan zebra yang dipapar ekstrak etanol daun teh hijau dengan

konsentrasi 250 ppm dan 500 ppm sejak 2 hpf. Menurut Stainier dkk., (1996) abnormalitas fungsional jantung akan teridentifikasi lebih dahulu daripada terjadinya abnormalitas secara morfologi. Namun, pada penelitian kali ini lebih banyak mengidentifikasi abnormalitas morfologi daripada abnormalitas fungsional. Hal ini dibuktikan perbandingan abnormalitas morfologi jantung kelompok P1 dengan P2 dan P3 sudah signifikan, sedangkan pada abnormalitas fungsional tidak. Ditambah lagi adanya abnormalitas morfologi belum tentu akan terjadi penurunan frekuensi denyut jantung.

Terjadinya malformasi jantung yang signifikan, disebabkan karena adanya paparan ekstrak etanol daun teh hijau pada kelompok perlakuan. Pada penelitian ini, daun teh hijau dipilih karena kandungan *epigallocatechin gallate* (EGCG) yang sangat tinggi hingga lima kali lebih banyak dibandingkan dengan teh biasa (Oliveira, 2012; Syah, 2006). *Epigallocatechin gallate* daun teh adalah komponen aktif yang paling signifikan dan bersifat antioksidan tinggi (Pastore dan Fratellone, 2006).

Dalam kaitannya dengan terjadinya malformasi jantung, struktur EGCG mirip dengan struktur methotrexat (MTX) yang dikenal sebagai obat kanker (Syah, 2006). *Epigallocatechin gallate* mampu berikatan dengan enzim *dehydrofolate reductase* (DHFR) manusia pada tempat yang sama dan membentuk kompleks inhibitor DHFR. *Dihydrofolate reductase* adalah salah satu enzim kunci dalam *folate-mediated one-carbon metabolism* (FOCM) (Kao dkk., 2008). Pada FOCM, DHFR bertugas mengatalisis asam folat dan mereduksi 7,8-*dihydrofolate* (DHF) menjadi 5,6,7,8-*tetrahydrofolate* (THF) yang bertugas sebagai koenzim pada reaksi transfer grup karbon tunggal ini termasuk di dalamnya adalah biosintesis nukleotida (Navarro-Peran dkk., 2005). Proses

reduksi tersebut merupakan satu-satunya *pathway* yang mengaktivasi bentuk oksidasi dari koenzim folat. Perubahan atau penghambatan aktivitas DHFR sering menyebabkan efek yang sangat besar pada stabilitas DNA, ekspresi gen, proliferasi sel yang abnormal, abnormalitas embriogenesis termasuk NTD dan penyakit lainnya (Kao *dkk.*, 2008). Oleh karena itu, EGCG yang membentuk kompleks inhibitor DHFR sehingga menghambat kinerja dari enzim DHFR sendiri dan pada akhirnya mengakibatkan kekacauan biosintesis DNA (Navarro-Peran *dkk.*, 2005).

Konsumsi teh hijau pada wanita hamil secara berlebihan dikenal dapat mengakibatkan kerusakan saraf janin (Syah, 2006). Hal ini disebabkan oleh kandungan katekin teh menghambat aktivitas enzim DHFR yang mengatalisis bentuk folat, yaitu 7,8-*dihydrofolate* (DHF) menjadi folat yang aktif 5,6,7,8-*tetrahydrofolate* (THF). Mekanisme inhibisi ini memicu terganggunya *pathway* metabolisme folat dan rendahnya bioavailabilitas folat pada sel. Oleh karena itu, hal tersebut meningkatkan risiko terjadinya *neural tube defect* (NTD) (Ye *dkk.*, 2011).

Berdasarkan penelitian Ye *dkk.* (2011) peningkatan risiko NTD berkaitan dengan konsumsi teh selama periode perikonsepsi setiap hari dan disesuaikan dengan usia ibu dan suplementasi asam folat selama periode perikonsepsi. Terdapat 3 subtipe mayor NTD yang tampak, yaitu anensefali, spina bifida, dan ensefalokel. Dalam studi *case-control* tersebut, minum teh setiap hari selama periode perikonsepsi dikaitkan dengan peningkatan risiko NTD sebanyak 3 kali lipat.

Pada penelitian Sun *dkk.* (2011), ekspresi DHFR diblok untuk mengetahui fungsi dari DHFR itu sendiri. Malformasi jantung disebabkan oleh *knockdown*

DHFR pada embrio. Pada penelitian tersebut penurunan proliferasi sel dan peningkatan apoptosis terdeteksi pada embrio yang mengalami *knockdown* DHFR. Sedangkan overekspresi DHFR menunjukkan peningkatan proliferasi sel. Oleh karena itu, DHFR dapat menaikkan proliferasi sel. Multipel malformasi pada jantung juga ditemukan pada embrio dengan *knockdown* DHFR. Atrium dan ventrikel memiliki bentuk dan posisi yang abnormal, tekanan sistolik yang lemah, frekuensi jantung dan *ventricular shortening fraction* (VSF) yang berkurang (Sundkk., 2011).

Proliferasi dan apoptosis berperan penting dalam perkembangan jantung. Ketidakseimbangan proses tersebut dapat memicu berbagai malformasi jantung, seperti *ventricular septal defect* (VSD), defek jantung kongenital sering kali akibat dari insufisiensi proliferasi atau peningkatan apoptosis dari septum atau jaringan sekitarnya. Hipoplasia miokardium dapat disebabkan oleh terganggunya fungsi proliferasi dan apoptosis miokardium. Terdapat beberapa mekanisme yang dapat menjelaskan folat berefek pada proliferasi. Derivat folat terlibat dalam berbagai reaksi seluler yang sangat penting, meliputi sintesa nukleotida, sintesis asam amino, dan reaksi metilasi (Li dan Rozen, 2006)

6.2 Keterbatasan Penelitian

Adanya faktor-faktor yang tidak bisa dikendalikan oleh peneliti juga dapat mempengaruhi hasil penelitian, yaitu kualitas telur setiap kali pengulangan bisa jadi berbeda-beda sehingga mempengaruhi juga pada kejadian malformasi atau defek tubuh lain termasuk jantung. Selain itu, keterbatasan penelitian yang lain adalah jumlah telur yang dihasilkan oleh induk ikan zebra berbeda-beda setiap pengulangan sehingga tiap pengulangan tidak menggunakan jumlah telur yang sama. Pengamatan abnormalitas jantung yang sangat subyektif karena belum

ada standar baku untuk menentukannya. Selain itu, keterbatasan alat pengamatan berupa mikroskop dengan perbesaran maksimalnya masih belum mampu untuk melihat secara jelas abnormalitas bentuk dan fungsi organ jantung (atrium, ventrikel, *outflow tract*, dan katup jantung). Oleh karena itu, peneliti hanya membandingkan morfologi jantung antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol meliputi adanya pembesaran jantung dan perikardium, elongasi jantung dan perikardium, denyut jantung, kekuatan kontraktilitas jantung, pendesakan jantung ke arah *yolc sac*, dan defek lain yang dapat diamati. Selain itu, ekstrak etanol daun teh hijau tidak dapat homogen ketika diencerkan dengan medium embrio sehingga perlu diendapkan selama satu malam. Belum ada metode yang cocok untuk homogenisasi ekstrak.

