

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan beberapa uji statistik, yaitu One way ANOVA, korelasi regresi, serta analisis *Post Hoc*. Hasil uji One Way ANOVA menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0.031 ($p < 0.05$) sehingga bisa disimpulkan bahwa dosis ekstrak beserta kafein mempunyai pengaruh terhadap munculnya malformasi celah palatum janin tikus. Hasil analisis korelasi 0.006 ($p < 0.05$) menunjukkan bahwa ada hubungan antara peningkatan dosis ekstrak brokoli beserta kafein dengan malformasi celah palatum. Namun bersifat negatif terhadap hipotesis, dimana seharusnya ekstrak brokoli yang dosisnya semakin tinggi akan semakin mengurangi malformasi celah palatum. Hasil uji regresi menunjukkan adanya *Adjusted R Square* 0.310 yang artinya malformasi celah palatum janin tikus pada penelitian ini 31% disebabkan oleh pemberian kafein dan ekstrak brokoli dosis III (kafein 80 mg/kgBB + ekstrak brokoli 800 mg/kgBB), sedangkan 69% disebabkan oleh variabel lain yang tidak diteliti.

Berdasarkan hasil penelitian ini, menunjukkan bahwa untuk kelompok kontrol negatif tidak ditemukan adanya celah palatum dari jumlah janin tikus sebanyak 34 ekor. Kemudian untuk kelompok kontrol positif yang hanya diberikan kafein 80 mg/kgBB, ditemukan adanya celah palatum pada 1 ekor janin dari jumlah total janin sebanyak 34 ekor, berarti sekitar 2.94% kejadian celah palatum yang disebabkan oleh kafein. Presentase ini bukanlah angka yang kecil dan menunjukkan bahwa penggunaan kafein harus diwaspadai, karena walaupun hanya 1 ekor yang terkena celah, tapi tetap saja merupakan suatu kecacatan. Hasil ini didukung oleh penelitian sebelumnya

yang melaporkan bahwa kafein (dosis 80 mg/kgBB) menghasilkan kasus celah palatum (33,3% pada janin) (Rashidi *et al.*, 2014). Terdapat juga penelitian lain yang melaporkan bahwa kafein dengan konsentrasi tinggi, menyebabkan anomali kongenital, seperti celah palatum dan malformasi kardiovaskular (Jahanfar *et al.*, 2013). Kafein dapat mendukung produksi radikal bebas (radikal hidroksil) yang dapat menyebabkan peroksidasi lipid serta memiliki satu potensi untuk mengacaukan proses yang terlibat dalam proliferasi sel, mudah melintasi plasenta dan mencapai janin, menginduksi vasokonstriksi maternofetal, terjadi iskemia sehingga dapat menyebabkan malformasi janin (Rashidi *et al.*, 2014). Kafein juga memiliki jenis metabolit yaitu paraxhantine yang merupakan derivat xanthine, dimana terdapat XO (*xanthine oksidase*) yang merupakan sumber penting terjadinya OFR (*Oxygene Free Radical*) (Valko *et al.*, 2004). Dikarenakan pemberian perlakuan pada penelitian ini dilakukan pada hari ke 9-11 kehamilan, dimana pada waktu tersebut sedang berlangsungnya pembentukan tulang palatum pada janin tikus yang dipengaruhi oleh peranan gen LOXL3, maka jika adanya mutasi DNA pada waktu ini dapat mempengaruhi pembentukan dari tulang palatum, sehingga dapat menimbulkan malformasi (Zhang *et al.*, 2015). Banyaknya celah palatum yang dihasilkan pada kelompok kontrol positif ini jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya oleh Rashidi *et al* memang jauh berbeda, penelitian ini hanya menyebabkan 2.94% dari total janin 31 ekor, sementara Rashidi *et al* yaitu 33.3% dari total janin 65 ekor. Diduga terdapat faktor yang mempengaruhi seperti, perbedaan berat badan serta usia tikus yang digunakan, dalam penelitian ini digunakan tikus dengan berat badan 130-150 gram dan usia 2-2.5 bulan yang di aklimatisasi hanya 1

minggu , sementara Rashidi *et al* menggunakan tikus dengan berat badan 200-250 gram dan usianya 3-4 bulan, di aklimatisasi selama 2 minggu sebelum dikawinkan. Usia dan berat badan mungkin mempengaruhi hasil penelitian

Untuk kelompok perlakuan I (kafein 80 mg/kgBB + ekstrak brokoli 200 mg/kgBB), didapatkan hasil tidak adanya celah palatum pada janin tikus. Dalam hal ini, diduga bahwa adanya efek dari brokoli dengan dosis sebesar 200 mg/kgBB, yang bertindak sebagai antioksidan karena mengandung flavonoid yang mencegah peningkatan radikal bebas serta menghambat proses stres oksidatif dalam tubuh sehingga mutasi DNA yang berakibat pada rusaknya gen LOXL3 pada hari ke 9-11 kehamilan yang berperan dalam pembentukan tulang palatum tidak terjadi (Zhang *et al.*, 2015). Fakta ini didukung oleh penelitian sebelumnya, dimana minyak galbanum (200 mg/kgBB) yang mengandung antioksidan berupa flavonoid dapat menurunkan malformasi celah palatum yang disebabkan kafein pada janin tikus dari 33.3% menjadi 8.3% (Rashidi *et al.*, 2014). Penelitian lain juga melaporkan bahwa quercetin yang merupakan jenis dari flavonoid dapat menurunkan angka kejadian celah palatum pada janin tikus yang disebabkan oleh kafein (Mahabady *et al.*, 2012). Dapat disimpulkan bahwa, dosis ekstrak brokoli sebesar 200 mg/kgBB yang pemberiannya bersamaan dengan kafein, diduga merupakan peran brokoli yang bertindak sebagai antioksidan untuk menangkal pro oksidan yang disebabkan oleh kafein.

Untuk kelompok perlakuan II (kafein 80 mg/kgBB + ekstrak brokoli 400 mg/kgBB) dan kelompok perlakuan III (kafein 80 mg/kgBB + ekstrak brokoli 800 mg/kgBB), didapatkan hasil bahwa ditemukannya celah palatum

pada masing-masing kelompok. Peningkatan dosis ekstrak brokoli yang pemberiannya bersamaan dengan kafein menunjukkan arah yang positif dengan peningkatan kejadian celah palatum. Semakin tinggi dosis brokoli, maka semakin banyak juga celah palatum yang terjadi. Pada kelompok perlakuan II, terdapat celah palatum pada 4 ekor janin (12.5%) dari total janin sebanyak 32 ekor, sementara pada kelompok perlakuan III terdapat celah palatum pada 19 ekor janin (54.2 %) dari total janin sebanyak 35 ekor. Dari fakta ini, dapat diasumsikan bahwa peningkatan celah palatum dapat dikarenakan dosis brokoli yang tinggi (400 mg/kgBB dan 800 mg/kgBB), karena untuk dosis kafeinnya tetap (80 mg/kgBB). Berhubung pada penelitian ini ekstrak brokoli dan kafein diberikan secara bersamaan pada hari ke 9-11 kehamilan, maka dapat diasumsikan juga terdapat interaksi antara kafein dan brokoli sehingga memicu terjadinya malformasi celah palatum.

Menurut teori, penggunaan antioksidan yang melebihi batas maka dapat menyebabkan racun dalam tubuh dan bersifat karsinogenik (Jin *et al.*, 2012). Dalam brokoli terkandung flavonoid dan termasuk dalam golongan asam fenolik. Flavonoid dapat bertindak sebagai pro oksidan jika dalam tubuh terdapat sistem yang mengalami proses *redox-active metals*. Kehadiran O₂, logam transisi seperti besi (Fe) dan tembaga (Cu) dapat menyebabkan peningkatan formasi ROS yang merusak DNA, lipid dan molekul biologis lainnya (Carocho *et al.*, 2012). Dalam hal ini, ternyata didukung oleh teori yang menyatakan bahwa kafein, theobromin, dan xanthine dalam tubuh dapat bertindak sebagai pengikat Cu yang menyebabkan terjadinya proses *redox-active metals* (Anesini *et al.*, 2011),

yaitu Cu(I) akan teroksidasi menjadi Cu(II) dan akan menghasilkan radikal hidroksi (OH) pada superoksida yang didukung oleh reaksi fenton, dan proses ini menyebabkan kerusakan DNA (Chattopadhyay *et al.*, 2014).

Dalam penelitian ini, pemberian kafein bersama dengan brokoli dosis 400 dan 800 mg/kgBB, dapat bekerja sama meningkatkan kerusakan DNA melalui proses *redox-active metals*. Adanya kafein yang dapat menyebabkan *redox-active metals* ditambah dengan flavonoid berlebihan yang dapat berubah menjadi pro oksidan, menyebabkan peningkatan terjadinya kerusakan pada DNA, dimana berpengaruh pada gen LOXL3 yang berperan dalam pembentukan tulang palatum yang terbentuk pada hari ke 9-11 kehamilan, sehingga memicu adanya celah palatum pada penelitian ini.

Sayuran hijau salah satunya seperti brokoli banyak mengandung vitamin A. Dalam 100 gram brokoli terdapat vitamin A sekitar 1542 IU (Nugraha, 2010). Dalam sebuah penelitian oleh Ritchie *et al.*, 2013 telah dilaporkan bahwa keadaan hipervitaminosis A atau kelebihan vitamin A di dalam tubuh yang terjadi saat kehamilan, dapat menyebabkan abnormalitas pada perkembangan mamalia. Dampak yang paling mungkin adalah menyebabkan malformasi pada seluruh sistem tubuh mencakup ekstremitas, telinga dan wajah, serta kardiovaskular, urogenital, sistem respirasi dan gastrointestinal (Defo *et al.*, 2014). Vitamin A yang terkandung dalam brokoli, pada penelitian ini, diduga dapat berperan menyebabkan efek teratogenik pada janin tikus.

Dari fakta yang diperoleh pada penelitian ini, disertai dengan kajian teori, maka dapat disimpulkan bahwa celah palatum terjadi pada kelompok kontrol positif yaitu hanya kafein 80 mg/kgBB serta kelompok perlakuan II

dan III yaitu kafein 80 mg/kgBB dengan ekstrak brokoli dosis 400 dan 800 mg/kgBB. Kemungkinan brokoli yang dapat meningkatkan malformasi celah palatum tanpa adanya kafein membutuhkan penelitian lebih lanjut dengan ditambahkannya kelompok perlakuan hanya ekstrak brokoli saja, serta penelitian mengenai rentang dosis ekstrak brokoli minimal yang dapat memberikan efek sebagai antioksidan.

