

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pengaruh terhadap Denyut Jantung

Pada hasil penelitian, menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun kelor dapat meningkatkan denyut jantung embrio ikan zebra baik pada kelompok kontrol negatif, maupun pada kelompok kontrol positif (Grafik 5.1). Dari hasil penghitungan denyut jantung, pada kelompok kontrol negatif didapatkan rerata 204,63 denyut per menit, pada kelompok 2,24 ppm 211,15 denyut per menit, pada kelompok 4,48 ppm 216,46 denyut per menit, dan pada kelompok 8,96 ppm 205,28 denyut per menit. Sedangkan pada kelompok kontrol positif didapatkan rerata 204,85 denyut per menit, pada kelompok etanol + 2,24 ppm 215,77 denyut per menit, pada kelompok etanol + 4,48 ppm 226,13 denyut per menit, dan pada kelompok etanol + 8,96 ppm 237,75 denyut per menit. Dari hasil tersebut, dapat diduga peningkatan denyut jantung pada embrio ikan zebra (*Danio rerio*) disebabkan oleh pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*).

Jantung ikan zebra mulai berdetak pertama kali pada usia 22 *hpf* (Stainier et. al., 1993). Secara fisiologis, regulasi denyut jantung ikan zebra pada masa embrionik berbeda dengan usia dewasa. Denyut jantung dipengaruhi oleh genetik, kadar oksigen, ketebalan miokardium, penyimpanan kalsium dan pelepasan kalsium (Warren et. al., 2001). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Fritsche (2000), senyawa nitrit oksida (NO) berperan dalam regulasi denyut jantung pada masa embrionik. NO memiliki fungsi dalam berbagai proses fisiologis seperti mengontrol tonus vaskuler, aktifitas makrofag, dan

angiogenesis. NO diketahui memiliki efek kronotropik positif, yang mana dapat meningkatkan frekuensi denyut jantung (Rastaldo et. al., 2007).

Kandungan vitamin E (77 mg/ 100 g) dan C (14 mg / 100 g) yang tinggi pada daun kelor (Moya et. al., 2011; Siddhuraju dan Becker, 2003) mampu meningkatkan bioavailabilitas NO lokal pada sistem kardiovaskuler ikan zebra (Lakhanpal dan Rai, 2008). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian dimana peningkatan rerata denyut jantung yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok yang mendapat pemberian dosis daun kelor. Kadar NO yang tinggi dalam sistem kardiovaskuler embrio ikan zebra akibat pemberian ekstrak daun kelor akan meningkatkan denyut jantung akibat efek kronotropik positif. Hal ini juga didukung oleh penelitian yang dilakukan Rastaldo et. al., (2007) dimana inhibisi pada *NOS (Nitric Oxide Synthase)* berdampak berupa penurunan denyut jantung pada beberapa hewan.

Pemberian etanol dapat menyebabkan perubahan embrionik pada ikan zebra. Etanol dapat menghambat perambatan impuls pada nodus AV (Antkiewicz et. al., 2005) sehingga dapat berdampak pada penurunan denyut jantung. Ibrahim et. al., (2014) melaporkan bahwa terdapat penurunan denyut jantung yang signifikan pada embrio ikan zebra berusia 72 *hpf* yang diberi paparan etanol 3% *v/v*. Hal yang sama juga ditemukan oleh Bilotta (2004) dengan memberikan paparan berupa etanol 1,5% *v/v* pada embrio ikan zebra. Mekanisme yang mendasari temuan ini adalah terjadinya stres oksidatif karena tingginya tingkat radikal bebas yang berbahaya dari pemberian etanol.

Pada penelitian ini dilakukan pemberian etanol 0,8% *v/v* untuk mendapatkan 50% malformasi pada populasi, mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Reimers (2004). Dari hasil penelitian didapatkan bahwa tidak

terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok yang dipapar dengan etanol (kontrol positif) dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh dosis etanol yang diberikan tidak adekuat untuk menyebabkan penurunan denyut jantung pada embrio ikan zebra yang signifikan.

Pada kelompok yang diberikan paparan etanol bersamaan dengan ekstrak daun kelor, terdapat peningkatan denyut jantung yang signifikan. Etanol dapat menurunkan kadar *glutathione* (GSH). GSH merupakan antioksidan yang penting. GSH dalam mitokondria merupakan senyawa utama yang berperan dalam metabolisme hidrogen peroksida (Das, 2007). Etanol menekan kadar GSH dengan cara menghasilkan senyawa prooksidan dan menghambat *mitochondrial glutathione transporter* (Wheeler et al., 2003). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Boadi et. al., (2015), pemberian flavonoid seperti *kaempferol* dan *quercetin* pada sel preadiposit dapat meningkatkan kadar GSH. Hal ini berkebalikan dengan penurunan GSH yang diakibatkan oleh paparan etanol. Pada hasil penelitian didapatkan bahwa kelompok yang mendapat paparan etanol bersamaan dengan ekstrak daun kelor mengalami peningkatan denyut jantung yang signifikan kemungkinan terjadi akibat respon stres pada perkembangan jantung oleh karena penurunan radikal bebas yang berlebih dan peningkatan kadar GSH.

6.2 Pengaruh terhadap Edema Perikardium

Untuk mengetahui adanya edema perikardium dilakukan pengamatan dengan membandingkan ukuran perikardium dan *yolk sac* pada kelompok yang mendapat perlakuan dengan kelompok kontrol. Edema perikardium dikatakan positif apabila ukuran perikardium melebihi ukuran *yolk sac*. Pada penelitian ini,

terjadi edema perikardium yang signifikan pada kelompok yang diberikan paparan etanol dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (Grafik 5.2).

Pada ikan zebra (*Danio rerio*) normal, perkembangan kardiovaskuler diawali dengan mulai terlihatnya tabung jantung kemudian mulai terdapat denyut jantung mulai usia 22 *hpf* dan pada usia dan mencapai sirkulasi yang sempurna pada usia 24 *hpf*. Morfogenesis jantung ini akan berlangsung terus hingga sempurna pada usai 60 *hpf* (Kimmel, 1995). Edema perikardium diamati pada usia 96 *hpf* setelah morfogenesis jantung selesai dan sebelum muncul pigmentasi pada kulit ikan zebra, sehingga pengamatan dapat dilakukan dengan lebih jelas. Edema perikardium merupakan tanda awal yang muncul pada embrio ikan zebra dengan intoksikasi etanol (Reimers, 2006; Reimers 2004; Ibrahim et. al., 2014; Bilotta, 2004). Perkembangan embrionik ikan zebra sangat sensitif terhadap paparan etanol. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Reimers (2004), kemampuan ikan zebra dalam memetabolisme etanol dalam 24 jam pertama masa perkembangannya sangatlah terbatas. Periode awal ini merupakan tahap perkembangan yang sangat sensitif terhadap etanol.

Etanol akan dimetabolisme menjadi acetaldehyde, senyawa toksik bagi perkembangan embrio ikan zebra. Pemberian etanol pada masa perkembangan ikan zebra akan menyebabkan peningkatan kadar *acetaldehyde* dan radikal bebas lain seperti hidrogen peroksida dan superoksida. Senyawa-senyawa ini merupakan *reactive oxygen species (ROS)* yang dapat menimbulkan efek teratogenik dan mutasi pada ikan zebra. Edema perikardium merupakan tanda awal yang paling mudah diamati pada kasus kejadian intoksikasi etanol pada embrio ikan zebra. Pada penelitian ini didapatkan hasil berupa edema perikardium yang signifikan antara kelompok tanpa pemberian etanol dengan

kelompok dengan pemberian etanol, hal ini diduga karena efek pemberian etanol pada masa perkembangan awal ikan zebra.

Pada kelompok yang diberikan paparan etanol bersamaan dengan peningkatan dosis ekstrak daun kelor terdapat penurunan kejadian edema perikardium meskipun tidak signifikan (Grafik 5.2). Peningkatan dosis ekstrak daun kelor akan meningkatkan kadar antioksidan yang dapat melawan ROS sehingga mengurangi stres oksidatif yang tinggi pada ikan zebra. Menurut Sreelatha et. al, (2011), setiap gram daun kelor mengandung 795 µg *quercetin* dan 216 µg *kaempferol*. Kandungan antioksidan seperti *quercetin* dan *kaempferol* yang tinggi dalam daun kelor diduga mampu menghambat proses mutasi genetik dan teratogenesis yang terjadi pada ikan zebra yang terpapar etanol meskipun tidak signifikan.

6.3 Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini merupakan awal merupakan penelitian awal yang bertujuan untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap ikan zebra (*Danio rerio*) yang terpapar etanol. Pada penelitian ini tentu masih terdapat beberapa keterbatasan sehingga diperlukan penelitian lanjutan untuk dapat melengkapi kekurangan penelitian. Penelitian ini menggunakan senyawa yang bukan merupakan isolasi suatu zat aktif, melainkan ekstrak daun kelor dan terdapat berbagai macam zat selain yang telah dibahas sebelumnya, sehingga dapat mempengaruhi hasil uji coba penelitian ini.

Dosis etanol dan daun kelor yang dimetabolisme oleh ikan zebra juga tidak dapat diukur secara kuantitatif dalam penelitian ini. Hal ini penting karena jumlah dosis yang dimetabolisme menentukan pengaruh yang timbul pada

kelompok populasi. Dalam penelitian ini juga tidak terdapat pemberian perlakuan yang diketahui mekanismenya terhadap proses morfogenesis jantung ikan zebra, sehingga mekanisme ekstrak daun kelor dan etanol dalam mempengaruhi denyut jantung dan perikardium ikan zebra belum dapat diketahui secara pasti.