

Efek pemberian madu terhadap lesi hepar maternal mencit (*mus musculus*) dan gangguan perkembangan fetus yang dipapari monosodium glutamate (MSG) selama masa kehamilan

Sufitni¹, Delyuzar¹, Emita Sabri²

Departemen Patologi Anatomi¹ Fakultas Kedokteran dan Departemen Biologi² Fakultas FMIPA Universitas Sumatera Utara

Abstrak

Pendahuluan : Monosodium glutamat (MSG), merupakan zat aditif makanan yang sekarang masih menjadi kontroversial, di mana sebagian menyatakan aman, tetapi sebagian lagi menyatakan berbahaya bagi kesehatan. Konsumsi MSG yang tinggi akan meningkatkan metabolisme glutamat, yang juga akan meningkatkan radikal bebas, yang berbahaya bagi tubuh. Salah satu antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas adalah madu. Pemberian madu pada mencit hamil yang dipapari MSG kemungkinan, akan mengurangi dampak negatif MSG.

Penelitian ini adalah untuk melihat efek terapi madu terhadap gangguan lesi hepar induk mencit dan perkembangan fetus mencit yang dipicu oleh pemberian MSG pada saat kehamilan.

Metode : Penelitian bersifat eksperimental murni dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL), yang terdiri dari lima kelompok, yaitu satu kelompok kontrol dan empat kelompok perlakuan. Kelompok kontrol hanya diberi akuades selama kehamilan 0-18 hari. Kelompok perlakuan ke-1 diberi MSG 4mg/gBB/hari, kelompok ke-2 diberi madu 0.15g/20gBB/hari, dan kelompok ke-4 diberi MSG 4mg/gBB/hari dan madu 0.15g/20gBB/hari, selama kehamilan 0-18 hari. Kelompok perlakuan ke-3 diberikan MSG 4mg/gBB/hari pada kehamilan 0-7 hari, dan dilanjutkan pemberian madu 0.15g/20gBB/hari pada kehamilan 8-18 hari. Pada usia kehamilan 18 hari, mencit setiap perlakuan dan kontrol diterminasi dengan cara dislokasi leher dan kemudian dibedah, untuk pengambilan hepar dan fetus.

Hasil : Pemberian MSG dengan dosis 4 mg/gBB bersifat embriotoksik, ditandai oleh penurunan jumlah fetus hidup 54.9% ($P = 0.003$) dan peningkatan embrio resorp 58.86% ($P = 0.02$) dan juga bersifat hepatotoksik dibanding kontrol dengan nilai $P = 0.041$. Pemberian madu mampu mengurangi efek hepatotoksik dan embriotoksik MSG, terutama jika diberi secara bersamaan dapat meningkatkan jumlah fetus hidup menjadi 100%, dan mengurangi jumlah embrio resorp menjadi 0%.

Kata kunci : *monosodium glutamat (MSG); gangguan perkembangan; fetus; mencit (mus musculus); lesi hepar; kehamilan*

Abstract

Introduction : Monosodium glutamate (MSG), a food additive that is still a controversial, where some states are safe, but partly it's harmful to health. High consumption of MSG will increase glutamate metabolism. It will increase free radical, which harmful to body. Honey as antioxidant can remove free radical. Giving honey in pregnant mice after giving MSG, will reduce the negative impact of MSG.

The purpose of study was to determine the effects of honey therapy against fetal development disorder of mice and hepatic lesions induced by giving of MSG during pregnancy

Methods : The study is purely experimental with a *completely randomized design* (CRD), which consists of five groups, there are one control group and four treatment groups. The control group was given distilled water only during gestation days 0-18. The first treatment were given MSG 4mg/g body weight/day, the second treatment were given honey 0.15g/20g body weight /day, and the fourth treatment were given MSG 0.15 g/20g body weight/day and honey 4mg/g body weight/day, as long as 0-18 days of gestation. The third treatment groups were given MSG 4mg/g body weight/day on days 0-7 of pregnancy, and continued provision of honey 0.15g/20g body weight/day on days 8-18 of pregnancy. At gestational age 18 days, each treatment and control mice were killed by cervical dislocation and then dissected for liver and fetuses removal

Result : Giving of high doses of MSG to mice during pregnancy, give embriotoxic effect, characterized by decreased the number of live fetuses up to 54.9% ($P = 0.003$) and increased the number of embrio resorption up to 58.86% ($P = 0.02$), and hepatotoxic effect compare control with P value = 0.041. Giving honey can reduce hepatotoxic and embriotoxic of MSG effect, particularly they are giving together will increase the number of live fetuses up to 100% and decrease the number of embrio resorption up to 0%.

Key words : *monosodium glutamate (MSG); fetal; development disorder; mice; pregnancy; hepatic lesion*

PENDAHULUAN

Penyedap makanan atau monosodium glutamat (MSG), sudah beredar hampir di seluruh dunia, dan setiap orang mungkin sudah pernah merasakan atau mencicipinya. Sebagian orang meyakini, bahwa masakan tidak akan terasa lezat apabila belum dibubuhi MSG. Namun, dari sisi kesehatan, produk ini masih menimbulkan kontroversi.¹

Hal ini bermula pada tahun 1968, ketika Dr Ho Man Kwok mengirim surat kepada *The New England Journal of Medicine*, yang menyatakan bahwa dia selalu mengalami sindroma yang aneh setelah menyantap makanan di restoran Cina. Hal inilah yang disebut sebagai *Chinese Restaurant Syndrome* (CRS), dan dari sinilah muncul isu keamanan kesehatan MSG.

Sindroma ini mempunyai gejala antara lain, merasakan mati rasa di daerah belakang leher yang menjalar hingga lengan dan punggung. Namun, biasanya gejalanya akan hilang sendiri setelah dua jam. Setelah muncul istilah CRS ini barulah MSG menjadi isu kesehatan yang mengglobal.²

Konsumsi MSG dalam jumlah besar akan menghasilkan radikal bebas yang akan dilawan oleh tubuh, dengan meningkatkan aktivitas tiga enzim yang utama, yaitu: *super oxide dismutase* (SOD), *catalase* dan *glutheparone peroxidase*, yang berfungsi untuk meningkatkan produksi *glutathione* yang merupakan antioksidan. Radikal bebas yang terbentuk juga menimbulkan terjadinya proses peroksidasi lipid yang ditandai dengan peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA).^{3,4}

Pada saat ini sudah banyak bahan herbal yang berperan sebagai penangkal radikal bebas (antioksidan). Penelitian di bidang gizi pada tingkat sel membuktikan bahwa antioksidan mampu melindungi jaringan tubuh dari efek negatif radikal bebas.⁵ Senyawa antioksidan diantaranya adalah asam fenolik, flavonoid, karoten, vitamin E, vitamin C, dan zat-zat mineral seperti mangan, seng, tembaga dan selenium (Se) juga berperan sebagai antioksidan. Selain dalam makanan, ternyata sebagian zat-zat tersebut juga terdapat dalam madu.⁶

METODE

Hewan percobaan, dipilih 30 ekor mencit betina, yang kemudian dikawinkan dengan mencit jantan, dengan cara meletakkan 1-4 ekor mencit betina dan 1 ekor mencit jantan pada kandang yang sama. Pada hari berikutnya, jika dijumpai sumbat vagina, maka kopulasi sudah terjadi, dan dinyatakan sebagai kehamilan 0 hari.⁷ Bahan perlakuan, seperti akuades, MSG dan madu diberikan secara oral dengan menggunakan jarum *gavage* pada induk mencit dengan usia kehamilan 0-18 hari.

Mencit hamil dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol (K), kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan 2 (P2), kelompok perlakuan 3 (P3) dan kelompok perlakuan 4 (P4). Selama kehamilan 0-18 hari, kelompok K diberi akuades 0.1 ml/10gBB/hari, kelompok P1 diberi MSG 4mg/gBB/hari, kelompok P2 diberi madu 0.15g/20gBB/hari, dan kelompok P4 diberi MSG 4mg/gBB/hari dan madu 0.15g/20gBB/hari. Kelompok P3 diberikan MSG 4mg/gBB/hari pada kehamilan 0-7 hari, dan dilanjutkan pemberian madu 0.15g/20gBB/hari pada kehamilan 8-18 hari.

Volume pemberian akuades, MSG dan madu adalah 0.1ml/10gBB, dan sebelum pemberian perlakuan, setiap induk mencit akan ditimbang terlebih dahulu. Terminasi mencit hamil dengan cara dislokasi leher dilakukan pada hari ke 18 kehamilan. Mencit tersebut kemudian diletakkan di atas bak bedah dan dilakukan pembedahan dengan menggunakan *dissecting set*.

Pengamatan yang dilakukan meliputi lesi hepar induk mencit dan gangguan perkembangan fetus. Pengamatan terhadap lesi hepar induk mencit meliputi pengamatan makroskopik dan mikroskopik hepar. Pengamatan terhadap gangguan perkembangan fetus meliputi jumlah fetus hidup, berat badan fetus hidup, jumlah fetus mati, jumlah embrio resorp, jumlah implantasi, dan jumlah korpus luteum.

HASIL

Pengamatan makroskopik hepar

Pengamatan makroskopik hepar meliputi berat hepar dan derajat makroskopik hepar. Pengamatan rata-rata berat hepar kelompok kontrol dan kelompok perlakuan induk mencit dapat dilihat pada tabel 1. Pengamatan derajat makroskopik hepar induk mencit terdapat pada gambar 1 dan tabel 2.

Tabel 1. Data rata-rata berat hepar induk mencit

Kelompok	Rerata berat hepar (g)
K	2.64
P1	2.68
P2	2.45
P3	2.44
P4	1.94

Tabel 2. Data derajat makroskopik hepar induk mencit

Kelompok	Derajat makroskopik dalam persentase				Total
	0 (normal)	+1 (ringan)	+2 (sedang)	+3 (berat)	
K	50	33.3	16.7	-	100
P1	33.3	33.3	33.3	-	100
P2	-	83.3	16.7	-	100
P3	50	50	-	-	100
P4	-	66.7	33.3	-	100

Keterangan :

0 = tidak terjadi perubahan

+1 = bila ditemukan 1 kriteria (perubahan warna, struktur permukaan, konsistensi)

+2 = bila ditemukan 2 kriteria (perubahan warna, struktur permukaan, konsistensi)

+3 = bila ditemukan 3 kriteria (perubahan warna, struktur permukaan, konsistensi)

Pada tabel 2, dapat dilihat bahwa makroskopik hepar normal, terbanyak pada kelompok K (50%) dan P3 (50%), hepar dengan lesi ringan terbanyak pada kelompok P2 dan P4, sedangkan lesi hepar sedang terbanyak pada P1 dan P4. Pada uji statistik dengan Kruskal Wallis, didapat nilai P = 0.086.

Pengamatan mikroskopik hepar berdasarkan klasifikasi Roenigk yang telah dimodifikasi, yang dapat dilihat pada gambar 2 dan tabel 3.

Tabel 3. Data derajat mikroskopik hepar induk mencit

Kelompok	Derajat mikroskopik dalam jumlah dan %				Total
	0 (normal)	+1 (ringan)	+2 (sedang)	+3 (berat)	
K	50	33.3	-	-	100
P1	16.7	-	16.7	-	100
P2	-	66.7	16.7	-	100
P3	66.7	-	-	-	100
P4	16.7	50	16.7	-	100

Pada uji statistik dengan Kruskal Wallis yang dilakukan pada data tabel 3, didapat hasil $P = 0.109$, tetapi pada uji perbedaan antar kelompok dengan Mann Whitney, didapat hasil yang berbeda secara signifikan antara kelompok K dengan kelompok P1, dengan nilai $P = 0.041$.

Perkembangan fetus mencit

Hasil penelitian mengenai perkembangan fetus, disajikan dalam bentuk tabel, yaitu mengenai data rata-rata perkembangan fetus mencit dapat dilihat pada tabel 4. dan data persentase perkembangan fetus mencit dapat dilihat pada tabel 5. Gambar fetus hidup dan fetus mati dapat dilihat pada gambar 3, sedangkan embrio resorp dapat dilihat pada gambar 4.

Tabel 4. Data rata-rata perkembangan fetus mencit

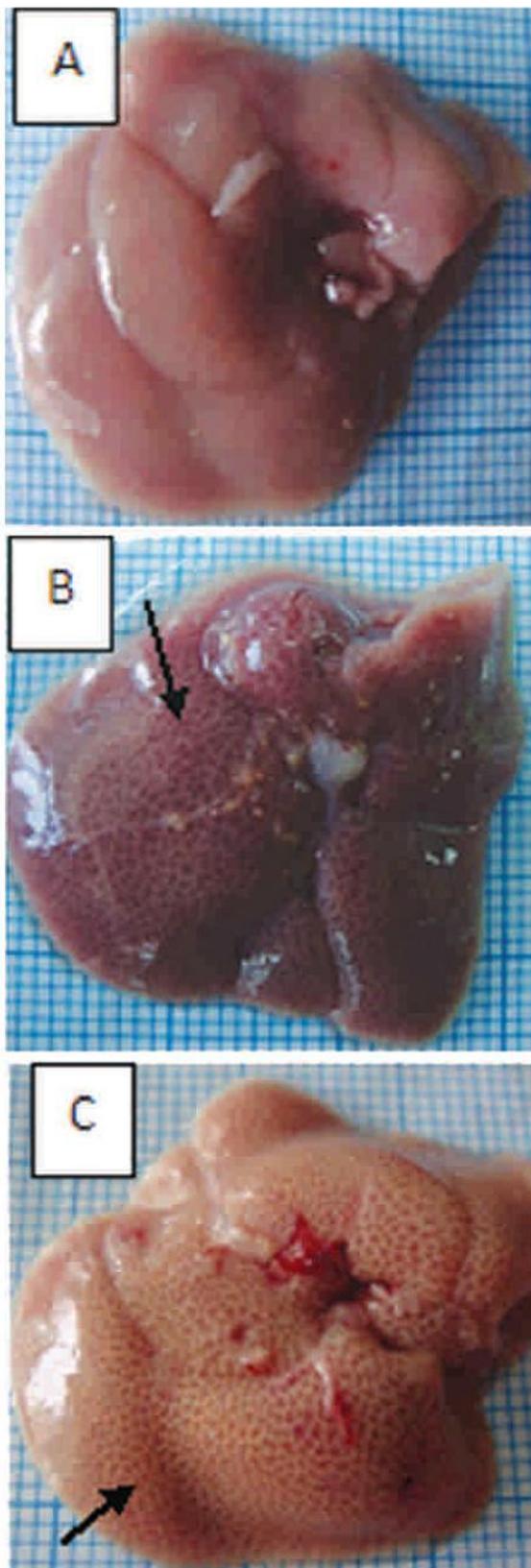
Perlakuan	% jumlah fetus hidup	% jumlah fetus mati	% jumlah embrio resorp	% jumlah kehilangan praimplantasi
K	92.1	1.5	6.25	20.9
P1	54.9	0	58.86	30.13
P2	96.7	1.6	3.27	22.78
P3	80	0	20	28.57
P4	100	0	0	26.25

Pada uji statistik, dengan Anova, data yang berbeda secara signifikan hanya pada jumlah fetus hidup dengan nilai $P = 0.001$ dan pada data embrio resorp dengan nilai $P = 0.049$.

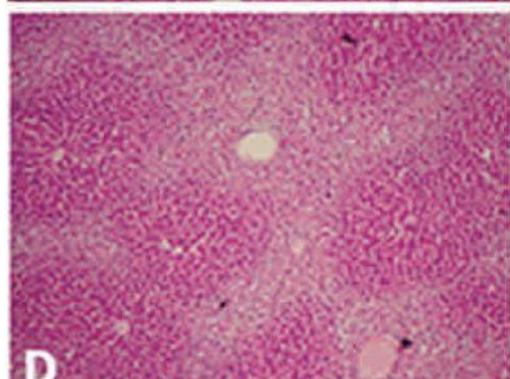
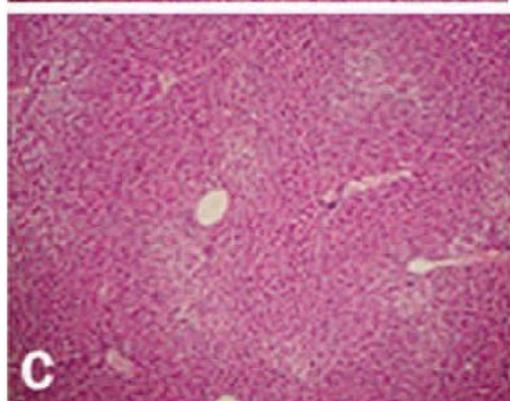
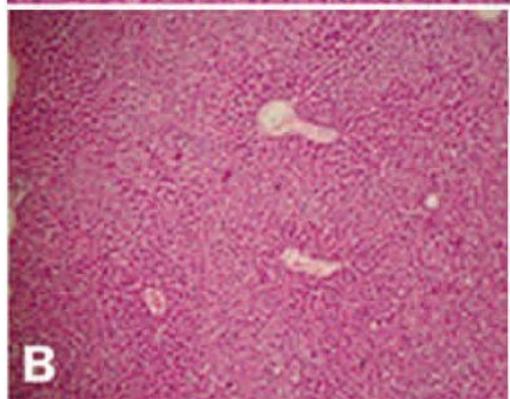
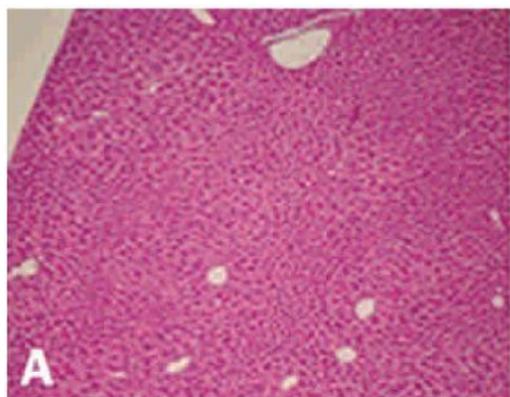
Tabel 5. Persentase perkembangan fetus mencit

Perlakuan	% Persentase jumlah fetus hidup	% jumlah fetus mati	% jumlah embrio resorp	% jumlah kehilangan praimplantasi
K	92.1	1.5	6.25	20.9
P1	54.9	0	58.86	30.13
P2	96.7	1.6	3.27	22.78
P3	80	0	20	28.57
P4	100	0	0	26.25

Pada uji statistik, dengan Anova, data yang signifikan terdapat pada data jumlah fetus hidup dengan nilai $P = 0.003$ dan pada data embrio resorp dengan nilai $P = 0.02$, (nilai p dinyatakan signifikan jika $P < 0.05$).

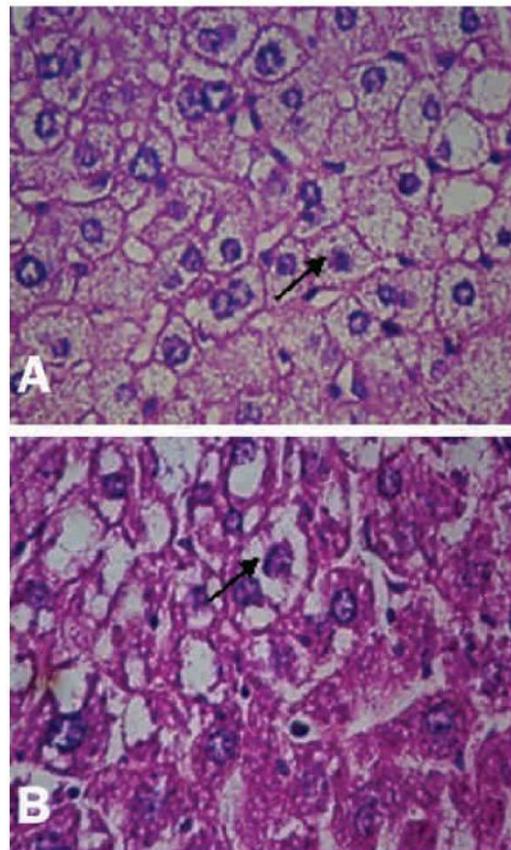


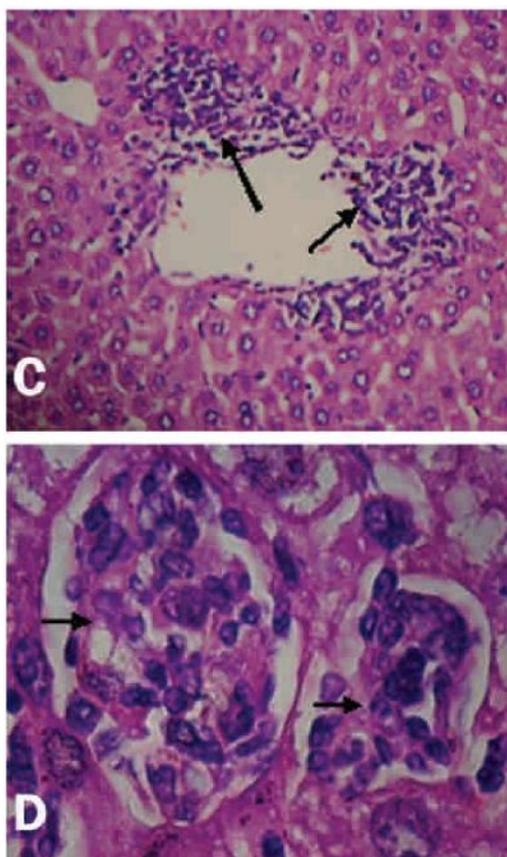
Gambar 1. A. Derajat makroskopik 0 (normal), B. Derajat makroskopik 1 (tampak bintik-bintik pada hepar, ditandai oleh panah), dan C. Derajat makroskopik 2 (tampak hepar pucat dan berbintik-bintik, ditandai oleh panah)



Gambar 2. Gambar derajat mikroskopik hepar (HE,40x). A. Derajat mikroskopik 0 (normal), tidak dijumpai lesi, B. Derajat mikroskopik 1 (ringan), tampak lesi/bercak keputihan yang minimal, C. Derajat mikroskopik 2 (sedang), tampak lesi/bercak keputihan sedang dan D. Derajat mikroskopik 3 (berat), lesi/bercak putih yang luas

Gambar 3. Fetus mati memiliki tubuh yang tidak jelas (kiri), dan fetus hidup, dengan tubuh yang lengkap (kanan)
Gambar 4. Tiga embrio resorp, ditandai dengan tapak implantasi yang tidak berkembang (panah)





Gambar 5. A. *Microvesicular steatosis*, tampak vakuola-vakuola kecil berisi lipid dalam sitoplasma hepatosit, ditandai oleh panah (HE, 400x), B. Degenerasi hidrofik, ditandai oleh panah (HE, 400x), C. Limfosit di sekitar portal, ditandai oleh panah (HE, 200x), dan D. Nekrosis fokal, ditandai oleh panah (HE, 800x)

DISKUSI

Lesi hepar induk mencit

Hasil penelitian mengenai rata-rata berat hepar pada setiap kelompok, dapat dilihat pada tabel 1, bahwa rata-rata hepar yang terberat ada pada kelompok P1 (2.68 g), dan yang terendah pada kelompok P4 (1.97g).

Uji statistik yang dilakukan terhadap data-data ini menunjukkan data berbeda secara signifikan dengan nilai $P = 0.049$, dan setelah diteruskan dengan uji beda antar kelompok, dengan uji T, ternyata kelompok yang berbeda hanya pada kelompok P1 dan P4, dengan nilai $P = 0.028$.

Hal ini hampir sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Tawfik dan Al-Badr, yang mendapatkan hasil bahwa antara kelompok perlakuan MSG dengan kelompok perlakuan vitamin C dan E (anti oksidan pada penelitian ini digunakan madu), memiliki perbedaan yang signifikan.⁸

Hepar sebagai organ tubuh yang besar, memiliki banyak fungsi metabolisme, dibanding organ lainnya. Metabolisme sebagian zat-zat makanan berlangsung dalam hepar, termasuk metabolisme MSG yang telah diberikan kepada induk mencit dalam dosis yang besar, sehingga hepar akan lebih terbebani,

apalagi mencit dalam kondisi hamil, sehingga metabolisme sangat meningkat.

Metabolisme yang sangat besar ini akan menciptakan radikal bebas yang lebih banyak, sehingga efek kerusakan sel yang ditimbulkan MSG menjadi lebih nyata.

Kerusakan hepar pada penelitian ini meliputi peningkatan *steatosis*, degenerasi hidrofik, inflamasi, dan nekrosis, yang dapat dilihat pada gambar 5.

Penumpukan lipid pada hepar (*steatosis*), penumpukan cairan (degenerasi hidrofik), masuknya sel-sel inflamasi ke jaringan hepar, dan kumpulan jaringan nekrotik ini, akan meningkatkan berat hepar.

Pada penelitian ini hepar pada kelompok P1 memiliki berat yang paling tinggi, dan yang terendah ada pada kelompok P4, yaitu kelompok yang mendapat MSG dan madu secara bersamaan. Hasil uji statistik signifikan dengan nilai $P = 0.028$, sehingga madu dapat dikatakan sebagai protektor hepar, terhadap MSG, jika konsumsi dilakukan secara bersamaan.

Derajat kerusakan makroskopik hepar, ketika diuji secara statistik tidak berbeda secara signifikan. Hal ini kemungkinan karena efek kerusakan hepar yang ditimbulkan oleh MSG maupun beban berat selama kehamilan, tidak ada yang menyebabkan derajat makroskopik berat, tetapi hanya normal, ringan dan sedang.

Derajat kerusakan mikroskopik hepar, ketika diuji secara statistik juga tidak menunjukkan perbedaan, kecuali pada kelompok P1 dengan P3. Hal ini berarti madu memberikan efek positif terhadap derajat mikroskopik hepar, jika diberikan pada mencit dengan usia kehamilan 8-19 hari, yang sebelumnya telah dipapari MSG selama usia kehamilan 0-7 hari.

Lesi hepar secara mikroskopik, tampak mulai di sekitar portal hepatica, yang mengelilingi lobulus hepaticus, dan membentuk struktur heksagonal, tepatnya berada pada zona I dan II. Zona I dan II adalah daerah yang kaya akan oksigen dan nutrisi. Metabolisme asam amino, termasuk glutamat berada pada zona I dan II lobulus hepar.⁹

Lesi hepar disekitar portal hepatica atau pada zona I dan II ini, kemungkinan berhubungan dengan metabolisme glutamat (makanan) yang tinggi.

Metabolisme glutamat melalui proses transaminasi dan deaminasi oksidasi, akan menyumbangkan banyak amonia yang akan dikatabolisme di mitokondria hepatosit zona I dan zona II lobulus hepar.⁹

Amonia merupakan zat yang toksik untuk susunan saraf pusat sehingga untuk mencegah kerusakan maka katabolisme zat ini harus cepat, sehingga darah yang keluar dari vena hepatica akan bebas dari amonia. Hasil akhir katabolisme amonia adalah urea.

Proses eliminasi amonia ini, membutuhkan energi tinggi, (1 mol urea membutuhkan 3 mol ATP). Setiap metabolisme oksidasi, akan menciptakan radikal bebas. Radikal bebas ini dapat memicu peroksidasi lipid dalam membran plasma dan membran organel, sehingga peroksidasi pada membran-membran ini akan menyebabkan kerusakan atau bahkan kematian sel.¹⁰

Perkembangan fetus mencit

Hasil penelitian perkembangan fetus mencit pada Tabel 4.4 dan 4.5 menunjukkan bahwa pemberian MSG dengan dosis 4mg/gBB pada usia kehamilan mencit 0-18 hari (kelompok P1), menyebabkan penurunan jumlah fetus hidup yang signifikan dengan nilai $P = 0.001$, dan peningkatan jumlah embrio resorp yang signifikan juga dengan nilai $P = 0.049$. Hal ini berarti pemberian MSG pada masa kehamilan mencit, memberi efek negatif atau berbahaya bagi perkembangan fetus, dan pemberian madu pada masa kehamilan mencit, yang mendapatkan MSG selama masa kehamilannya, memberi efek positif bagi perkembangan fetus.

Efek pemberian madu terhadap kejadian embrio resorp dan jumlah fetus hidup pada kelompok P3 tidak sebaik pada kelompok P4, yang mencapai 100% untuk jumlah fetus hidup dan 0% untuk kejadian embrio resorp.

Hal ini mungkin karena pemberian MSG pada masa awal kehamilan, sudah mengganggu embrio sampai tahap gastrulasi (proses pembentukan ketiga lapisan germinal pada embrio, yang dimulai pada saat munculnya *primitive streak*). *Primitive streak* (garis primitif) pada mencit terjadi pada usia kehamilan 6.5 hari.⁷

Gangguan pada embrio sampai fase gastrulasi sulit diperbaiki. Pada kelompok P4 pemberian MSG selalu dibarengi dengan pemberian madu, sehingga radikal bebas yang timbul akibat metabolisme MSG, segera dinetralkan oleh antioksidan yang ada pada madu.

KESIMPULAN

Pemberian MSG dengan dosis 4mg/gBB pada usia kehamilan mencit 0-18 hari bersifat hepatotoksik, dan pemberian madu dengan dosis 0.15g/20gBB tidak bersifat hepatoprotektor pada mencit hamil.

Pemberian MSG dengan dosis 4mg/gBB pada kehamilan mencit usia 0-18 hari bersifat embriotoksik yang ditandai dengan penurunan jumlah fetus hidup menjadi 54.9% dan peningkatan jumlah embrio resorp menjadi 58.86%.

Pemberian madu dengan dosis 0.15g/20gBB, dapat menetralkan efek embriotoksik yang disebabkan pemberian MSG dengan dosis 4mg/gBB yang diberikan secara bersamaan selama kehamilan mencit usia 0-18 hari, dengan ditandai

peningkatan jumlah fetus hidup menjadi 100% dan penurunan jumlah embrio resorp menjadi 0%.

DAFTAR PUSTAKA

1. Berkes EA, Woessner KM. Monosodium glutamate. In: Metcalfe D, Hugh A, Sampson A, Ronald A, Simon, editors. Food Allergy: adverse reaction to food and food additives. 3rd ed. Blackwell science publishing company; 2003. p. 342.
2. Bush RK, Taylor SL. Adverse reactions to food and drug additives. In: Adkinson NF. Middleton's allergy: principles and practice. 7th ed. Philadelphia: Mosby Elsevier; 2008. p. 66.
3. Crawford JM. Liver and biliary tract. In: Pathologic basis of disease. 7th ed. Philadelphia: Saunders Company; 2005. p. 1409-10.
4. Jawi IM, Suprpta DN, Subawa A. Ubi jalar ungu menurunkan kadar MDA dalam darah dan hepar mencit setelah aktivitas fisik maksimal. J. Veteriner. 2008;9:65-72.
5. Khalil MI, Sulaiman SA, Boukraa L. Antioxidant properties of honey and its role in preventing health disorder. The Open Nutraceuticals Journal. 2010;3:6-16.
6. Gheldof N, Xiao-Hong W, Engeseth NJ. Identification and quantification of antioxidant components of honeys from various floral sources. J. of Agricultural and Food Chemistry. 2002;50:5870-7.
7. Sabri E, Supriharti D, Utama GE. Efek pemberian monosodium glutamat (MSG) terhadap perkembangan embrio mencit (*Mus musculus*) strain DDW selama periode praimplantasi hingga organogenesis. J. Biol. 2006;1:8-14.
8. Tawfik MS, Al-Badr N. Adverse effects of monosodium glutamate on liver and kidney functions in adult rats and potential protective effect of vitamins C and E. Food and Nutrition Sciences. 2012;3:651-9.
9. Brosnan ME, Brosnan JT. Hepatic glutamate metabolism: a tale of 2 hepatocytes. AmJ Clin Nutr. 2009;90:857-61.
10. Victor W, Rodwell PW. Katabolisme protein dan nitrogen asam amino. In: Murray PK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell PW, editors. Biokimia harper. 25th ed. Jakarta: EGC; 2003. p. 297-306.