

## Pengaruh Penghentian Paparan Monosodium Glutamat terhadap Kadar Malondialdehid Jaringan Ginjal Tikus Putih

Indri Vebri<sup>1</sup>; Muhammad Inam Ilmiawan<sup>2</sup>; Virhan Novianry<sup>3</sup>, Nawangsari<sup>4</sup>

1 Program Studi Pendidikan Dokter, FK UNTAN

2 Departemen Biologi dan Patobiologi, PSPD FK UNTAN

3 Departemen Biokimia, PSPD FK UNTAN

4 Departemen Histologi, PSPD FK UNTAN

### Abstrak

**Latar Belakang:** Konsumsi Monosodium glutamat (MSG) berlebih dapat memicu terjadinya stress oksidatif yang dapat mengakibatkan kerusakan pada berbagai organ termasuk ginjal. **Metode.** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental. Sebanyak 27 ekor tikus dibagi menjadi kelompok kontrol, kelompok dosis MSG 4g/kgBB, dan kelompok dosis MSG 6g/kgBB yang dipajan selama 28 hari, dimatikan pada hari ke-1, 29 dan 57 pasca paparan. Data dianalisis menggunakan uji *One-way*ANOVA yang dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc* LSD. **Hasil.** Terdapat penurunan kadar MDA yang signifikan pada kelompok MSG dosis 4g/kgBB maupun 6g/kgBB, dengan perbaikan yang paling baik pada kelompok dosis 4g/kgBB. **Kesimpulan.** Paparan MSG dosis 4g/kgBB dan 6g/kgBB selama 28 hari meningkatkan kadar MDA ginjal, dan terjadi penurunan pada hari ke-29 dan ke-57 pasca paparan.

**Kata kunci:** MSG, kadar MDA, stres oksidatif, ginjal

**Background.** Excessive MSG consumption triggered oxidative stress resulting multi organs damage including kidney. **Method.** This experimental study used 27 rats divided into control groups, treatment groups 1 (given 4g/kg MSG), and treatment groups 2 (given 6g/kg MSG) for 28 days. Each groups was then divided into 3 smaller groups based on the day of sacrifice (1<sup>st</sup>, 29<sup>th</sup> and 57<sup>th</sup>). Data were analyzed using one-way ANOVA followed by LSD post hoc. **Result.** There was a significant decrease on kidney MDA levels in MSG group 4g/kg and 6g/kg with the best recovery on MSG group 4g/kg. **Conclusion.** Administration of 4g/kg and 6g/kg MSG increased kidney MDA levels, this levels then decreased after 4-8 weeks of cessation.

**Keywords:** MSG, MDA levels, oxidative stress, kidney

## PENDAHULUAN

Monosodium glutamat (MSG) adalah garam sodium dari asam glutamat.<sup>1</sup> Monosodium glutamat mengandung 78% asam glutamat, 22% sodium dan air. Menurut *Food and Drugs Administration* (FDA) Amerika Serikat, MSG merupakan produk aman selama dikonsumsi sesuai dengan batasan kebutuhan asupan harian, yakni tidak lebih dari 120 mg/kgBB/hari.<sup>2</sup> Menurut Prawirohardjono dan Ardyanto, masyarakat Indonesia rata-rata mengkonsumsi MSG sekitar 600 mg/kgBB.<sup>3</sup>

Uji secara eksperimental menunjukkan bahwa monosodium glutamat bersifat toksik pada manusia dan hewan.<sup>4</sup> Monosodium glutamat dapat menyebabkan gangguan struktural dan fungsional pada ginjal berupa hiperselularitas glomerular, degenerasi tubulus renal, dan urin alkali yang berhubungan dengan kejadian urolitiasis.<sup>5</sup> Sel epitel ginjal merupakan organ yang rentan mengalami kerusakan

akibat iskemia dan toksin. Penelitian yang dilakukan oleh Okuwiduri *et al*<sup>6</sup> menunjukkan bahwa terjadi peningkatan peroksidasi lipid yang diukur dengan marker malondialdehid (MDA) pada jaringan ginjal tikus setelah diberi MSG sebanyak 4 g/kgbb selama 10 hari. Peningkatan kadar MDA pada studi ini mungkin diakibatkan oleh efek langsung stres oksidatif setelah terpajan MSG. Penelitian lain yang dilakukan Siagian<sup>7</sup> melaporkan bahwa pemberian MSG dosis 6 g/kgbb selama 30 hari menyebabkan kerusakan struktur ginjal tetapi tidak menyebabkan penurunan fungsi ginjal. Setelah penghentian pajanan selama 14 hari terjadi perbaikan struktur ginjal dan kembali normal setelah penghentian pemberian selama 28 hari.<sup>6,7</sup>

Stres oksidatif sendiri disebabkan oleh produksi berlebih atau kurangnya eliminasi radikal bebas di dalam sel, yang mana kebanyakan adalah radikal oksigen dan jenis oksigen reaktif (ROS = *reactive oxygen species*). Pembentukan ROS pada

ginjal akibat pajanan MSG merupakan penyebab utama efek toksik pada ginjal yang mengarah pada kerusakan selular dan fungsional.<sup>6</sup>

## **METODE**

### **Instrumen dan Bahan**

Instrumen yang digunakan dalam penelitian yaitu kandang tikus, sonde, spektrofotometer, *sentrifuge*, timbangan elektronik, timbangan hewan, blender, mikropipet, gelas ukur, alat pengocok, corong pisah, tabung reaksi, mikrohematokrit, *handscoon*, *microtube* dan instrument untuk pengambilan ginjal tikus.

Bahan yang digunakan untuk pembuatan sampel yaitu tikus putih jantan dewasa galur wistar yang berumur 8-12 minggu, dengan berat badan 150-250 gram, sediaan uji berupa MSG murni, aquadest dan makanan standar. Selanjutnya tikus dibedah untuk mengambil jaringan ginjal tikus sesuai dengan kelompok dimatikannya yaitu 1

hari, 29 hari dan 57 hari pasca penghentian pajanan MSG.

Bahan yang digunakan untuk perhitungan kadar MDA yaitu jaringan ginjal tikus, buffer fosfat pH 7,4, Asam Asetat Glisial 50%, Larutan Asam Triklorasetat (TCA) 20%, Larutan Asam Tiobarbiturat (TBA) 0,67% dan Larutan Standar Tetrametoksiopropan (TMP).

### **Hewan Uji**

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dewasa galur wistar berusia 8 sampai 12 minggu dengan berat badan 150-250 gram.

### **Metode**

#### **Persiapan Hewan Uji**

Masing-masing kelompok hewan uji dipersiapkan dalam kandang yang terpisah. Tikus dipilih dan dipisahkan secara acak dalam keadaan baik, disiapkan untuk beradaptasi selama 1 minggu sebelum dilakukan penelitian.

#### **Perlakuan hewan coba**

Sebanyak 27 ekor tikus putih jantan diambil secara acak dan dibagi

menjadi 9 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor tikus putih. Perlakuan diberikan secara oral (*gavage*) dengan menggunakan spuit bersonde setiap hari sekali selama 28 hari.

### **Pengukuran Kadar MDA Jaringan**

#### **Pembuatan Homogenat Jaringan**

Organ ginjal tikus diambil, ditimbang seberat 100 mg dan dibersihkan dengan NaCL-fisiologis 0,9% kemudian dimasukkan dalam larutan PBS (*phosphate buffer saline*) 0,1M pH 7,4 steril sebanyak 500 µl. Setelah homogeny ditambahkan lagi larutan PBS sebanyak 500 µl dan dihomogenkan kembali kemudian sentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 5 menit. Pisahkan supernatant dan pellet, masukkan supernatant ke dalam tabung yang baru.

#### **Pembuatan Kurva Standar**

Larutan stok pereaksi 1,1,3,3-tetrametoksipropana (TMP) sebanyak 5µl diencerkan dengan 50 mL aquadest dengan konsentrasi 6 M (baku 100 *part per million*) kemudian diencerkan

menjadi 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9; dan 1 ppm. Setiap konsentrasi TMP direaksikan dengan 1,0 mL TCA 20% dan 1,0 mL TBA 1% dalam pelarut asam asetat glasial 50%. Semua larutan kemudian diinkubasi selama 45 menit pada suhu 95°C. Setelah didinginkan, larutan disentrifugasi pada kecepatan 1000 rpm selama 15 menit. Supernatant pada lapisan atas diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm.<sup>8</sup>

#### **Pengukuran Sampel**

Satu cc homogenate jaringan ginjal dan dimasukkan pada tabung reaksi. Selanjutnya homogenate jaringan ginjal yang sudah diambil direaksikan dengan 1,0 mL TCA 20% dan 1,0 mL TBA 1% dalam asam asetat glasial 50%, kemudian diinkubasi selama 45 menit pada suhu 95°C lalu dibiarkan dingin. Larutan tersebut disentrifugasi selama 15 menit pada kecepatan 1000 rpm. Supernatant dipisahkan kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada

panjang gelombang 532 nm. Konsentrasi sampel diperoleh dengan memplot data absorbansi sampel ke dalam kurva standar.<sup>8</sup>

### **Analisis Data**

Data yang diperoleh kemudian diolah dengan program SPSS (*Statistical Product and Service Solution*). Data yang didapat diuji distribusinya dan homogenitasnya. Data yang homogeny dan terdistribusi normal diuji menggunakan uji parametrik ANOVA (*Analysis of Variance*) dan dilanjutkan dengan Post hoc test menggunakan analisa LSD (*Least Significant Difference*).

### **HASIL**

Kelompok kontrol memiliki rerata kadar MDA jaringan ginjal terendah pada hari ke-1, ke-29 maupun ke-57 pasca pajanan. Kelompok yang dipajan MSG dosis 4g/kgBB memiliki rerata kadar MDA yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok kontrol, namun lebih rendah bila dibandingkan dengan

kelompok yang dipajan MSG dosis 6g/kgBB baik pada hari ke-1, ke-29 dan ke-57 pasca pajanan. Kelompok yang dipajan MSG dosis 6g/kgBB memiliki rerata kadar MDA yang lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol dan kelompok dosis 4g/kgBB pada hari ke-1, ke-29 dan ke-57 pasca pajanan.

Data pada hari ke-1 pasca pajanan menunjukkan bahwa pajanan MSG dosis 4g/KgBB dan 6g/KgBB meningkatkan kadar MDA jaringan ginjal tikus secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hasil analisis data rerata kadar MDA hari ke-29 setelah pajanan MSG dosis 4g/kgBB maupun 6g/kgBB mengalami penurunan yang signifikan. Hal ini mengindikasikan telah terjadi perbaikan pada kelompok dosis 4g/kgBB maupun 6g/kgBB.

Data pada hari ke-57 pasca pajanan menunjukan penurunan rerata kadar MDA kelompok dosis MSG 4g/kgBB mendekati kelompok kontrol yang dibuktikan oleh nilai yang secara statistik tidak berbeda

bermakna, sedangkan pada kelompok dosis MSG 6g/kgBB juga mengalami penurunan rerata kadar MDA meskipun secara statistik masih berbeda bermakna dibandingkan kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa pada hari ke-57 setelah pajanan perbaikan yang paling baik terjadi pada kelompok yang dipajan MSG dosis 4g/kgBB.

## PEMBAHASAN

Pengukuran kadar MDA jaringan ginjal kelompok kontrol 1, 2 dan 3 menunjukkan hasil yang tidak berbeda secara signifikan. Hasil uji statistik tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara masing-masing kelompok kontrol (*Post Hoc Test LSD*;  $p \geq 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat bias pada jaringan ginjal tikus akibat pemberian akuades selama 28 hari.

Jaringan ginjal tikus putih kelompok 1 diambil pada hari ke-1 setelah penghentian pajanan untuk dilakukan pengukuran kadar MDA. Hasil

pengukuran rerata kadar MDA kelompok yang dipajan dosis MSG 4 g/kgBB dan kelompok yang dipajan MSG 6 g/kgBB menunjukkan perbedaan bermakna secara statistik dengan nilai yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Vinodini yang melaporkan terjadinya peningkatan kadar MDA setelah tikus dipajan MSG sebanyak 4 g/kgBB selama 30 hari. Hasil penelitian tersebut membuktikan bahwa telah terjadi kerusakan seluler sebagai akibat dari stres oksidatif yang disebabkan pajanan MSG pada jaringan ginjal. Pembentukan ROS dianggap sebagai hal utama yang terjadi akibat keadaan stres. Telah diketahui bahwa produksi ROS akibat stres merupakan faktor perusak yang menyebabkan peroksidasi lipid, inaktivasi enzim dan kerusakan oksidatif pada DNA.<sup>9</sup> Penelitian lain yang sejalan dengan hasil penelitian ini dilakukan oleh Okwudiri yang melaporkan bahwa MSG secara signifikan memicu terjadinya peroksidasi

lipid pada jaringan ginjal hewan coba yang dipajan MSG sebanyak 4 g/kgBB selama 10 hari. Penelitian tersebut juga melaporkan terjadinya penurunan status antioksidan seperti glutathion, superoksida dismutase dan katalase yang dikaitkan dengan terjadinya stres oksidatif pada jaringan ginjal. Peningkatan peroksidasi lipid yang signifikan pada penelitian ini terjadi akibat efek langsung produksi ROS yang dihasilkan dari pajanan MSG.<sup>6</sup>

Hewan coba kemudian dimatikan pada hari ke-29 pasca pajanan untuk diukur kadar MDA jaringan ginjalnya. Berdasarkan hasil analisis data, terjadi penurunan rerata kadar MDA ginjal kelompok dosis 4g/kgBB dan kelompok 6g/kgBB yang dimatikan pada hari ke-29 pasca pajanan bila dibandingkan dengan hari ke-1, namun secara statistik masih berbeda bermakna bila dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hasil ini didukung oleh penelitian Handini yang melaporkan terjadinya perbaikan histopatologi ginjal setelah penghentian

pajanan MSG sebanyak 6 g/kgBB selama 30 hari. Pengamatan histopatologi ginjal pada hari ke-1 pasca penghentian pajanan menunjukkan terjadinya edema glomerulus dan edema sel-sel epitel tubulus ginjal, namun pada hari ke-28 pasca penghentian pajanan didapatkan bahwa kerusakan yang terjadi pada glomerulus dan tubulus ginjal tersebut menunjukkan hasil yang normal. Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi kemampuan sel untuk pulih dari cedera, yaitu lamanya pajanan, sifat dari bahan perusak, jenis sel yang dipengaruhi, dan kemampuan jaringan untuk regenerasi.<sup>7</sup>

Pengukuran rerata kadar MDA pada hari ke-57 pasca pajanan menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna antara kelompok yang dipajan MSG dengan dosis 4g/kgBB dengan kelompok kontrol, sedangkan kelompok yang dipajan MSG dosis 6g/kgBB masih menunjukkan perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol. Meski demikian kedua kelompok perlakuan sama-sama

menunjukkan penurunan rerata kadar MDA bila dibandingkan hari ke-1 dan ke-29 pasca pajanan. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kerusakan yang terjadi pada ginjal yang dipajan MSG dapat membaik dan bukan termasuk kerusakan yang bersifat permanen. Hasil ini didukung oleh penelitian Ebaid bahwa setelah penghentian pajanan MSG, terjadi pemulihan tingkat seluler yang membaik seiring bertambahnya waktu.<sup>10</sup>

Penurunan kadar MDA jaringan ginjal dapat disebabkan oleh berkurangnya proses eksitotoksisitas yang disebabkan oleh pajanan MSG dosis tinggi dalam waktu yang cukup lama. Penghentian pajanan MSG akan menurunkan kadar glutamat di dalam darah. Berkurangnya proses eksitotoksisitas lama kelamaan akan memutuskan reaksi berantai radikal bebas.<sup>11</sup> Hal ini mungkin terkait dengan aktivitas antioksidan di dalam tubuh. Antioksidan berperan untuk menetralkan kelebihan radikal bebas dan melindungi sel dalam melawan efek toksik untuk

mencegah penyakit. Antioksidan enzimatik seperti superoksida dismutase, katalase dan glutathion peroksidase dapat menghambat oksidasi dengan cara menghambat rantai pembentukan rantai radikal bebas. Pajanan MSG menyebabkan kelebihan produksi radikal bebas dan antioksidan endogen tidak mampu meneteralisasi kelebihan tersebut. Keadaan ini disebut dengan stres oksidatif. Penelitian yang dilakukan El-Shenawy melaporkan bahwa total aktivitas antioksidan pada hati dan ginjal yang dipajan MSG mengalami penurunan signifikan bila dibandingkan dengan kelompok kontrol. Penghentian pajanan MSG mengakibatkan penurunan pembentukan ROS di dalam tubuh yang mengembalikan keseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan di dalam tubuh.<sup>12</sup>

Dari hasil penelitian ini diketahui bahwa pemberian MSG dosis 4g/kgBB dan 6g/kgBB selama 28 hari dapat mengakibatkan stres oksidatif pada

jaringan ginjal yang dibuktikan dengan peningkatan kadar MDA sebagai marker peroksidasi lipid jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hasil rerata kadar MDA jaringan ginjal juga mengindikasikan bahwa kadar MDA jaringan ginjal tikus yang dipajan MSG dosis 4g/kgBB dan 6g/kgBB dan diukur pada hari ke-1, 29 dan 57 setelah pajanan menunjukkan perbaikan secara bertahap seiring waktu. Pada kelompok yang dipajan MSG dosis 4g/kgBB menunjukkan perbaikan yang signifikan bila dibandingkan dengan kelompok kontrol, sedangkan kelompok yang dipajan MSG dosis 6g/kgBB juga menunjukkan perbaikan meskipun belum mendekati kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa penghentian pajanan MSG selama 4 minggu dan 8 minggu dapat menurunkan kadar MDA jaringan ginjal tikus, terutama pada dosis pajanan MSG 4g/kgBB. Dapat disimpulkan bahwa terjadi penurunan tingkat stress oksidatif setelah penghentian pajanan MSG selama 4 minggu dan 8 minggu.

## KESIMPULAN

Pajanan MSG dosis 4g/kgBB dan 6g/kgBB selama 28 hari meningkatkan kadar MDA ginjal, dan terjadi penurunan pada hari ke-29 dan ke-57 pasca pajanan

## DAFTAR PUSTAKA

1. Eweka, AO. Histological Studies of the Effects of Monosodium Glutamate on the Kidney of Adult Wistar Rats. *J Health Vol.* 6(2). 2007.
2. FDA. Food and Drug Administration Background for Monosodium Glutamate. 1995.
3. Prawirohardjono W, Dwiprahasto, I Astuti, Indwiani, and S. Hadiwandoyo. The administration to Indonesians of monosodium L-glutamate in Indonesian foods: an assessment of adverse reactions in a randomized double-blind, crossover, placebo controlled study. *J Nutr.* 2000 Apr 1;130(4):1074S-6S.
4. Septadina IS. Perubahan Struktur Mikroskopis Ovarium Akibat Pemberian Monosodium Glutamat Pada Mencit (Mus Musculus) Betina Dewasa.
5. Biodun, D and Biodun, A. A Spice or Poison: Is Monosodium Glutamate Safe for Human Consumption? *National Concord.* Jan 1993; p. 5
6. Okwudiri OO, Sylvanus AC, Peace IA. Monosodium Glutamate Induces Oxidative Stress and Affects Glucose Metabolism in the Kidney of Rats. *Int J Biochem Res Rev* 2(1): 1-11, 2012.
7. Handini M, Siagian M, Jusuf AA. Pengaruh Pajanan Monosodium Glutamat Terhadap Fungsi Dan Gambaran Histologis Ginjal Tikus Serta Perubahannya Pasca Penghentian Pajanan. *Univ Indonesia*; 2013.
8. Food and Agriculture Organization. Monosodium L-Glutamate. Monograph. 2013.
9. Vinodini NA, Nayanatara AK, Ramaswamy C, Anu VR, Rekha DK, Damadara GKM, et al. Study on evaluation of monosodium glutamate induced oxidative damage on renal tissue on adult wistar rats. *J Chinese Clin Med.* 2010;5(3): 144-7.
10. Ćirić, M., Cekić, S., Pavlović, V., Jović, Z. and Tasić, G. Histopathological Changes In The Spleen Of Rats Treated With

- Monosodium Glutamate. ACTA FAC. MED. NAISS. 2005;22(4): 191-194.
11. Gill SS, Pulido OM, Mueller RW, McGuire PF. Potential target Sites in peripheral tissues for excitatory neurotransmission and excitotoxicity. Toxicol Pathol. 2000; 28: 277–84.
  12. Young I, Woodside J. Antioxidants in health and disease. J Clin of Patho.2001; 54: 176-186