

Efek Pemberian Madu terhadap Lesi Hepar Maternal Mencit Terpapar *Monosodium Glutamate* (MSG) selama Masa Kehamilan

Sufitni¹, Delyuzar¹, Emita Sabri^{2*}

¹Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, ²Departemen Biologi, Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara, Medan

ABSTRAK

Latar belakang

Monosodium glutamate (MSG) merupakan zat aditif makanan yang masih kontroversial. Konsumsi MSG yang tinggi meningkatkan metabolisme glutamat, dan radikal bebas yang berbahaya bagi tubuh. Salah satu antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas adalah madu. Penelitian ini bertujuan untuk menguji efek madu terhadap lesi hepar induk mencit yang dipicu oleh pemberian MSG pada saat kehamilan.

Metode

Penelitian bersifat eksperimental murni dengan rancangan acak lengkap (RAL), yang terdiri atas 5 kelompok, yaitu 1 kelompok kontrol (K) dan 4 kelompok perlakuan (P1-P4). Kelompok kontrol hanya diberi akuades selama kehamilan 0-18 hari. Selama kehamilan 0-18 hari, P1 diberi MSG 4 mg/g BB/hari, P2 diberi madu 0,15 g/20 g BB/hari, dan P4 diberi MSG 4 mg/g BB/hari dan madu 0,15 g/20 g BB/hari. P3 diberi MSG 4 mg/g BB/hari pada kehamilan 0-7 hari, dilanjutkan pemberian madu 0,15 g/20 g BB/hari pada kehamilan 8-18 hari. Pada usia kehamilan 18 hari, mencit dikorbankan dengan cara dislokasi leher dan dilakukan nekropsis pengambilan hepar.

Hasil

Pemberian MSG dengan dosis 4 mg/g BB bersifat hepatotoksik dibanding kontrol ($p=0,041$). Pemberian madu mampu mengurangi efek hepatotoksik MSG.

Kesimpulan

Madu mampu mengurangi efek hepatotoksik dari paparan MSG.

Kata kunci : Kehamilan, lesi hepar, madu, *monosodium glutamate* (MSG).

ABSTRACT

Background

Monosodium glutamate (MSG), a food additive that is still a controversial. High consumption of MSG will increase glutamate metabolism and free radical. Honey as antioxidant can remove free radical. The purpose of study was to determine the effects of honey therapy against hepatic lesions induced by MSG during pregnancy

Methods

The study was a true experimental with a completely randomized design (CRD), which consists of a control group (K) and four treatment groups (P1-P4). The control group (K) was given distilled water during gestation days 0-18. During of 0-18 days of gestation, P1 were given MSG 4 mg/g body weight (BW)/day, P2 were given honey 0.15 g/20 g BW/day, and P4 were given MSG 0.15 g/20 g BW/day and honey 4 mg/g BW/day. P3 were given MSG 4 mg/g BW/day on days 0-7 of pregnancy, and continued provision of honey 0.15 g/20 g BW/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.

Results

Giving of high doses of MSG to mice during pregnancy, give hepatotoxic effect compare control ($p=0.041$). Giving honey can reduce hepatotoxic of MSG effect.

Conclusion

Honey was able to reduce the hepatotoxic effects of MSG administration.

Key words: Hepatic lesion, honey, monosodium glutamate (MSG), pregnancy.

PENDAHULUAN

Penyedap makanan atau *monosodium glutamate* (MSG), sudah dikenal hampir di seluruh dunia. Dari sisi kesehatan, keamanan penggunaan MSG masih menimbulkan kontroversi.¹ Hal ini bermula pada tahun 1968, ketika Dr. Ho Man Kwok melaporkan gejala *Chinese restaurant syndrome* (CRS). CRS mempunyai gejala antara lain timbulnya mati rasa di daerah belakang leher yang menjalar hingga lengan dan punggung. Biasanya gejala ini akan hilang sendiri setelah dua jam.²

Hampir semua zat yang diabsorpsi usus akan diangkut menuju hepar, oleh karena itu hepar memiliki kesempatan pertama untuk memetabolisme senyawa yang berasal dari saluran cerna, termasuk terhadap bahan toksik yang diserap sehingga hepar lebih mudah mengalami kerusakan. Pada saat kehamilan, metabolisme tubuh mengalami peningkatan sehingga beban kerja hepar juga bertambah. Pada beberapa kehamilan dapat ditemui kelainan pada hepar berupa perlemakan hepar akut (*acute fatty liver*) yang secara mikroskopik dijumpai steatosis mikrovesikuler. Hal ini merupakan penyebab gagal hepar pada trimester ketiga kehamilan yang dapat menyebabkan kematian.³

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), katalase dan peroksidase *glutheparone* yang berfungsi meningkatkan produksi glutathion sebagai antioksidan. Radikal bebas yang terbentuk juga menimbulkan terjadinya proses peroksidasi lipid yang ditandai dengan peningkatan kadar malondialdehid (MDA).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 yang berperan sebagai antioksidan di antaranya adalah asam fenolik, flavonoid, karoten, vitamin C dan E, serta mineral seperti mangan, seng, tembaga dan selenium. Selain terdapat dalam makanan, sebagian zat tersebut juga terdapat dalam madu.⁶ Tulisan ini melaporkan hasil penelitian efek pemberian madu terhadap lesi hepar induk

mencit yang diberi MSG selama masa kehamilan.

METODE PENELITIAN**Hewan coba**

Pada penelitian ini digunakan hewan coba berupa 30 ekor mencit betina strain *double ditsch webster* (DDW) yang kemudian dikawinkan dengan mencit jantan strain DDW, dengan cara meletakkan (1-4 ekor) mencit betina dan satu 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

Pemberian madu, MSG dan nekropsis

Mencit hamil dibagi menjadi 5 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 6 mencit, yaitu kelompok kontrol (K), perlakuan 1 (P1) hingga 4 (P4). Selama kehamilan 0-18 hari, kelompok K diberi akuades 0,1 ml/10 g BB/hari, P1 diberi MSG 4 mg/g BB/hari, P2 diberi madu 0,15 g/20 g BB/hari, P3 diberi MSG 4 mg/g BB/hari pada kehamilan 0-7 hari, dilanjutkan pemberian madu 0,15 g/20 g BB/hari pada kehamilan 8-18 hari, dan P4 diberi MSG 4 mg/gBB/hari dan madu 0,15 g/20 gBB/hari.

Bahan penelitian berupa akuades, MSG dan madu diberikan secara oral dengan menggunakan jarum *gavage* pada induk mencit. Volume pemberian akuades, MSG dan madu adalah 0,1 ml/10 g BB. Sebelum pemberian perlakuan, setiap induk mencit ditimbang terlebih dahulu. Mencit hamil dikorbankan dengan cara dislokasi leher yang dilakukan pada hari ke 18 kehamilan. Mencit kemudian diletakkan di atas bak bedah dan dilakukan nekropsis dengan menggunakan *dissecting set*.

Pengamatan mikroskopis dan makroskopis

Pengamatan yang dilakukan meliputi lesi hepar induk mencit baik secara makroskopik (berat dan morfologi) maupun mikroskopik. Pengamatan mikroskopik hepar dengan pewarnaan hematoksilin-eosin, dan pembesaran 400x.

Interpretasi hasil

Pengamatan morfologi hepar dilakukan dengan memperhatikan permukaan luar hepar, warna hepar dan konsistensi hepar. Morfologi hepar normal jika permukaan rata dan halus, berwarna merah kecoklatan dan konsistensi kenyal. Hepar

PENELITIAN

Efek Pemberian Madu terhadap Lesi Hepar Maternal Mencit
Sufitni, Delyuzar, Emita Sabri

Majalah **Patologi**

abnormal jika permukaan berupa jaringan ikat, kista kecil, permukaan yang berbenjol-benjol atau terdapat abses, terjadi perubahan warna dan perubahan konsistensi hepar.³

Kriteria normal bila tidak ditemukan: perubahan warna, perubahan struktur permukaan, dan perubahan konsistensi. Derajat kerusakan makroskopis hepar : normal (0) = tidak terjadi kerusakan, ringan (+1) = bila ditemukan salah satu dari kriteria di atas, sedang (+2) = bila ditemukan 2 dari kriteria di atas, dan berat (+3) = bila ditemukan seluruh kriteria di atas.⁸

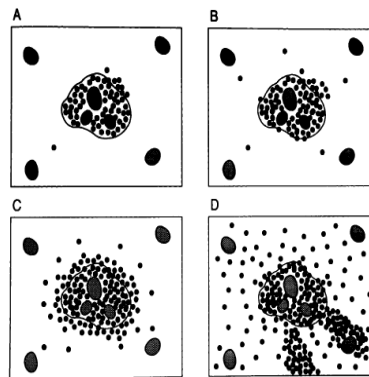
Preparat histopatologi hepar diamati di bawah mikroskop cahaya, dengan pembesaran 400x, kemudian ditentukan derajatnya (*grade*), berdasarkan modifikasi sistem klasifikasi histopatologi Roenigk pada Tabel 1.⁹

Tabel 1. Modifikasi klasifikasi histopatologi Roenigk

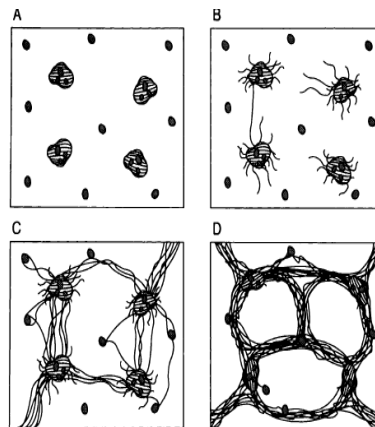
Derajat	Steatosis	Pleomorfik inti	Nekrosis & inflamasi	Fibrosis
I (ringan)	Ringan	Ringan	Ringan	-
II (sedang)	Sedang	Sedang	Sedang	-/ringan
III (berat)	Berat	Berat	Berat	-/ringan
IV (sa ngat berat)	Dengan /tanpa	Dengan/tanpa	Berat	Sedang /Berat

Jenis kerusakan hepar yang diamati meliputi steatosis, pleomorfik inti, nekrosis dan inflamasi, serta fibrosis.¹⁰ Jumlah lobulus hepatikus yang diamati minimal 3 lobulus. Jumlah ini diambil berdasarkan jumlah minimal traktus portal pada spesimen yang berasal dari biopsi hepar, yaitu 11 portal,¹¹ yang kira-kira setara dengan 3 lobulus. Steatosis yang diamati, dinyatakan: ringan jika steatosis <30%; sedang jika steatosis 30%-60%; dan berat jika steatosis >60%.¹² Pleomorfik inti, dinyatakan ringan jika inti hepatosit bulat monoton; sedang jika inti hepatosit kurang monoton, dan sudah ada yang mulai membesar; dan berat jika sudah pleomorfik. Nekrosis dan inflamasi dinyatakan: ringan jika nekrosis dan inflamasi masih berada pada traktus porta; sedang jika nekrosis dan inflamasi sudah melewati traktus porta; dan berat jika nekrosis dan inflamasi sudah melewati traktus porta dan menginvasi seluruh lobulus hepatikus, atau telah ada *bridging* antara satu porta dengan porta yang lain. Hal ini dapat diperhatikan pada Gambar 1, dengan interpretasi yang telah dimodifikasi.¹³ Fibrosis dinyatakan ringan jika masih berada pada traktus porta; sedang jika fibrosis sudah melewati traktus porta; dan berat

jika fibrosis sudah melewati traktus porta dan menginvasi seluruh lobulus hepatikus, atau telah ada *bridging* antara satu porta dengan porta yang lain. Hal ini dapat diperhatikan pada Gambar 2, dengan interpretasi yang telah dimodifikasi.¹³



Gambar 1. Penilaian nekrosis dan inflamasi. A. Nekrosis dan inflamasi ringan, B dan C. Nekrosis dan inflamasi sedang, dan D. Nekrosis dan inflamasi berat.¹³



Gambar 2. Penilaian fibrosis. A, B. Fibrosis ringan, C. Fibrosis sedang, dan D. Fibrosis berat.¹³

Analisis statistik

Data parametrik berupa berat hepar, terlebih dahulu diuji normalitas dan homogenitas, kemudian dengan uji Anova satu arah, sedangkan data nonparametrik berupa derajat kerusakan

PENELITIAN

Efek Pemberian Madu terhadap Lesi Hepar Maternal Mencit *Sufitni, Delyuzar, Emita Sabri*

makroskopis dan histopatologi hepar diuji dengan uji Kruskal-Wallis diteruskan dengan Mann-Whitney untuk menunjukkan perbedaan antar kelompok.

HASIL

Pengamatan makroskopik hepar

Hasil pengamatan rata-rata berat hepar kelompok kontrol dan kelompok perlakuan induk mencit disajikan pada Tabel 2. Hasil pengamatan derajat makroskopik hepar induk mencit disajikan pada Gambar 3 dan Tabel 3.

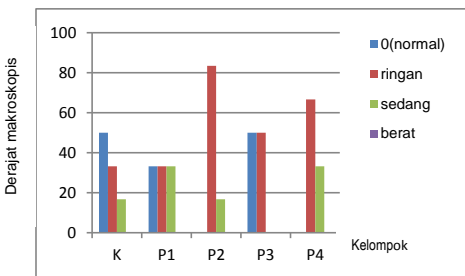
Tabel 2. Rerata berat hepar induk mencit pada akhir penelitian (n = 6 tiap kelompok)

Kelompok	Rerata berat hepar (g)
K	2,64
P1	2,68
P2	2,45
P3	2,44
P4	1,94

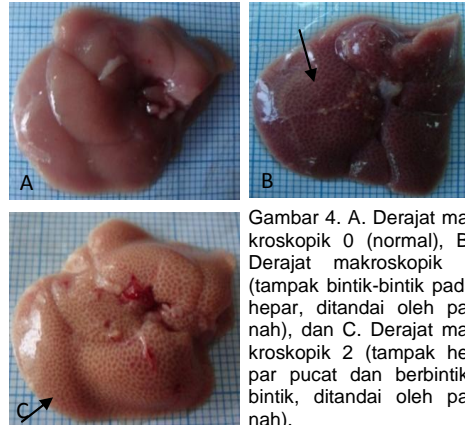
Tabel 2 di atas memperlihatkan bahwa berat hepar yang tertinggi terdapat pada kelompok P1 yaitu 2,68 g, sedangkan yang terendah terdapat pada kelompok P4 yaitu 1,97 g.

Pada Gambar 3, 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, hasil tidak berbeda secara signifikan (p=0,086).

Grafik derajat makroskopis hepar induk mencit dapat dilihat di bawah ini.



Gambar 3. Hasil pengamatan derajat makroskopik hepar induk mencit.



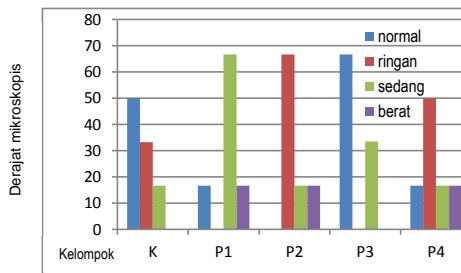
Gambar 4. A. Derajat makroskopik 0 (normal), B. Derajat makroskopik 1 (tampak bintik-bintik pada hepar, ditandai oleh panah), dan C. Derajat makroskopik 2 (tampak hepar pucat dan berbintik-bintik, ditandai oleh panah).

Pengamatan mikroskopik hepar

Pengamatan mikroskopik hepar berdasarkan klasifikasi Roenigk yang telah dimodifikasi,¹⁰ disajikan pada Gambar 5.

Pada uji statistik dengan Kruskal-Wallis yang dilakukan pada Gambar 5, 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.

Grafik derajat mikroskopis hepar induk mencit dapat dilihat di bawah ini.

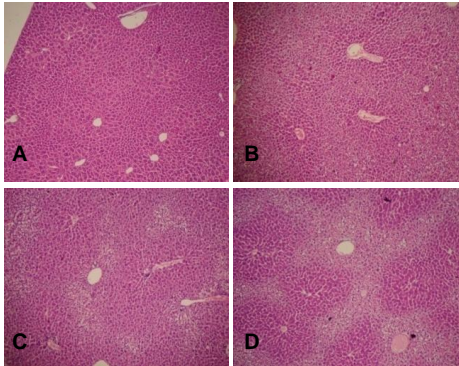


Gambar 5. Hasil pengamatan derajat mikroskopik hepar induk mencit (n= 6 tiap kelompok).

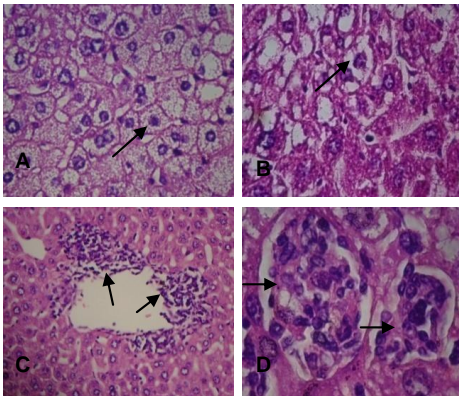
PENELITIAN

Efek Pemberian Madu terhadap Lesi Hepar Maternal Mencit
Sufitni, Delyuzar, Emita Sabri

Majalah **Patologi**



Gambar 6. 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 7. A. *Microvesicular steatosis*, tampak vakuola-vakuola kecil berisi lipid dalam sitoplasma hepatosit, ditandai oleh panah (HE, 400x), B. Degenerasi hidropik, 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

Hasil penelitian mengenai rata-rata berat hepar pada setiap kelompok, dapat dilihat pada tabel 2, 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 ber-

beda 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,¹⁴ 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.

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 hidropik, inflamasi, dan nekrosis, yang dapat dilihat pada gambar 7. Penumpukan lipid pada hepar (*steatosis*), penumpukan cairan (degenerasi hidropik), 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 menunjukkan perbedaan secara signifikan antara kelompok K dengan P1 (yang mendapat MSG). Pada kelompok K, dijumpai hepar normal 50%, sedangkan pada P1 yang normal hanya 16,7%,

PENELITIAN

Efek Pemberian Madu terhadap Lesi Hepar Maternal Mencit
Sufitni, Delyuzar, Emita Sabri

Majalah **Patologi**

dan gabungan lesi sedang dengan berat 83,3%. Hal ini berarti MSG memberi efek hepatotoksik.

Pemberian madu memberikan efek positif terhadap derajat mikroskopik hepar pada kelompok P3, yaitu madu diberikan pada mencit usia kehamilan 8-19 hari, yang sebelumnya telah dipapari MSG pada kehamilan 0-7 hari. Tampak kondisi hepar normal meningkat menjadi 66,7%, walaupun secara statistik tidak signifikan, tapi secara fakta sangat berarti.

Lesi hepar secara mikroskopik, tampak mulai di sekitar portal hepatis, yang mengelilingi lobulus hepatis, 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.¹⁵ Lesi hepar disekitar portal hepatis 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.¹⁵ 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 hepatis 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.¹⁶

KESIMPULAN

Pemberian MSG dengan dosis 4 mg/g BB pada usia kehamilan mencit 0-18 hari bersifat hepatotoksik, dan pemberian madu dengan dosis 0,15 g/20 g BB bersifat hepatoprotektor pada mencit hamil.

DAFTAR PUSTAKA

1. Berkes EA, Woessner KM. Monosodium glutamate In: Metcalfe D, Hugh A, Sampson A, Ronald A, Simon. Food Allergy: Adverse Reaction to Food and food Additives. 3rd ed. New York. Blacwell 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 jalur ungu menurunkan kadar MDA dalam darah dan hepar mencit setelah aktivitas fisik maksimal. J Vet. 2008;9:65-72.
5. Khalil MI, Sulaiman SA, Boukraa L. Antioxidant properties of honey and its role in preventing health disorder. J Nutraceut. 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 Agr Food Chem. 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 Sumatera Utara. 2006;1:8-14.
8. Anggraini DR. Gambaran makroskopid dan mikroskopis hati dan ginjal mencit akibat pemberian plumbun asetat. Tesis Sekolah Pascasarjana USU. 2008. p.33-35.
9. Ramachandran R, Kakar S. Histological patterns in drug-induced liver disease. Am J Clin Path. 2009;62:481-92.
10. Kakar S. Drug-related acute hepatitis. In: Misdraji, Yerian, Deshpande, Mino-Kenudson K, Kakar, Yeh W, Caradine. Diagnostic Pathology Hepatobiliary and Pancreatic. Amirsys Publishing Inc. 2011.5-2.
11. Cholongitas E, Senzolo M, Standish R, Marelli, Quaglia A, Patch D, et al. A Systematic Review of the Quality of Liver Biopsy Specimens. Am J Clin Path. 2006; 125:710-21.
12. Molavi DW. The Practice of Surgical Pathology. New York. Springer. 2008.p.78.
13. Batts KP, Ludwig J. Chronic hepatitis. An update on terminology and reporting. Am J Surg Pathol. 1995;19:1409-17.

Comment [K1]: Cari sampai 6 penulis

PENELITIAN

Efek Pemberian Madu terhadap Lesi Hepar Maternal Mencit
Sufitni, Delyuzar, Emita Sabri

Majalah **Patologi**

14. 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 Nutr Sci.* 2012;3. 651-9.
15. Brosnan ME, Brosnan JT. Hepatic glutamate metabolism: a tale of 2 hepato-cytes. *Am J Clin Nutr.* 2009;90:857S-61S.
16. Victor W, Rodwell PW. Katabolisme protein dan nitrogen asam amino, In: Murray PK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell PW. *Biokimia Harper.* Edisi 25. Jakarta EGC. 2003.p.297-306.