

PENGARUH PEMBERIAN VITAMIN C DAN E TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGIS GINJAL MENCIT (*Mus musculus L.*) YANG DIPAJANKAN MONOSODIUM GLUTAMAT (MSG)

Zulfiani¹, Syafruddin Ilyas² dan Salomo Hutahaean²

¹ Mahasiswa Departemen Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Sumatera Utara

² Staf Pengajar Departemen Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Sumatera Utara
Jln. Bioteknologi No. 1, Kampus USU, Padang Bulan Medan, Sumatera Utara 20155

E-mail: syaf_ilyas@yahoo.com

Abstract

The aim of this research is to study the effect of vitamin C and E on kidney microstructure of mouse exposed to monosodium glutamate for 30 days. This research used complete randomized design which consisted of 6 treatments and 5 replications. The control consisted of K-, and K+ (castor oil 0.3 ml). The treatments were MSG 4 mg/g BW, P1 (only MSG), P2 (MSG plus vitamin C 0.26 mg/g BW), P3 (MSG plus vitamin E 0.026 mg/g BW) and P4 (MSG plus vitamin C and E). After treatments were completed, the mice were sacrificed by cervical dislocation, and kidney tissue section was prepared by the paraffin method and stained with Haematoxylin and Eosin staining. Microstructure damage of kidneys showed a significant difference between control and treatments. In P1, the proximal tubule damage was 69.95%±5 and in P4 was 47.22%±3. In summary MSG can cause damage in the form of a narrowing of the lumen of the proximal tubules of the kidney. A combination of vitamins C and E can reduce the effect of MSG on the kidney.

Keywords: kidney, Monosodium glutamat (MSG), Vit C, Vit E.

Pendahuluan

Monosodium Glutamat (MSG) banyak digunakan dalam kehidupan sehari-hari sebagai bahan penyedap untuk merangsang selera makan. Penggunaan MSG dalam makanan biasanya dilakukan dalam jangka waktu pemakaian yang cukup lama. Percobaan mengenai efek toksik MSG menunjukkan hasil yang kontroversial. Dari berbagai macam penelitian yang umumnya dilakukan pada hewan percobaan dalam periode *neonatal* atau *infant* dengan pemberian MSG dosis tinggi melalui penyuntikan, telah ditemukan beberapa bukti bahwa MSG dapat menyebabkan nekrosis pada *neuron hipotalamus* dan *nukleus arkuata hipotalamus*, kemandulan pada jantan dan betina, berkurangnya berat hipofisis anterior, adrenal, tiroid, uterus, ovarium, dan testis, kerusakan fungsi reproduksi, dan berkurangnya jumlah anak (Sukawan, 2008). *Food and Drug Association (FDA)* telah mengklasifikasikan MSG sebagai *generally recognized as safe (GRAS)*, MSG juga

dinyatakan aman untuk dikonsumsi pada kadar yang normal karena tidak ada bukti bahwa penggunaan MSG dapat menyebabkan masalah yang serius di bidang kesehatan dalam jangka waktu yang panjang (Geha & Beiser, 2000).

Secara farmakokinetik, obat yang masuk ke dalam tubuh akan mengalami absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi (Agustie, 2006). Konsumsi MSG melalui proses absorpsi di usus, didistribusikan ke seluruh tubuh dan mengalami proses metabolisme di hepar dan selanjutnya diekskresikan melalui feses maupun urin. Ginjal merupakan organ ekskresi utama yang sangat penting untuk mengeluarkan sisa-sisa metabolisme tubuh, termasuk zat-zat toksik yang tidak sengaja masuk ke dalam tubuh dapat menyebabkan keadaan stres oksidatif. Menurut Farombi & Onyema (2006), pemberian MSG 4 mg/g BB secara interperitoneal dapat menyebabkan keadaan stres oksidatif yang menimbulkan senyawa oksigen reaktif (ROS). Menurut Syahrizal (2008), stres oksidatif adalah

suatu keadaan dimana tingkat kelompok ROS yang toksik melebihi pertahanan antioksidan dalam tubuh. Keadaan ini mengakibatkan kelebihan radikal bebas yang akan bereaksi dengan lemak, protein, dan asam nukleat seluler sehingga terjadi kerusakan lokal dan disfungsi organ tertentu.

Efek radikal bebas dalam tubuh akan dinetralisir oleh antioksidan yang dibentuk oleh tubuh sendiri dan suplemen dari luar melalui makan, minuman, dan obat-obatan, seperti vitamin C, vitamin E dan lain-lain (sukandar, 2006). Vitamin C bekerja pada sitosol dan secara eksternal, sedangkan vitamin E bekerja pada membran sel yang memerlukan tekanan oksigen yang tinggi. Mekanisme kerja yang berbeda dari kedua vitamin tersebut dapat disimpulkan, bahwa jika kedua vitamin ini jika digunakan bersamaan diharapkan akan memberikan efek yang optimal dalam menghadapi aktifitas senyawa oksigen reaktif (ROS) (Christyaningsih, 2003 dalam Iswara, 2009).

Bahan dan Metode

Penelitian ini menggunakan *Mus musculus L.* strain DDW, MSG murni, vitamin C, dan vitamin E (produksi *Sigma Chemical Co.*), *castrol oil* produksi PT. Bratako, pakan ternak no.CP 551, Hematoxylin dan Eosin.

Penelitian ini mengikuti Rancangan Acak Lengkap (RAL). Sebanyak 30 ekor mencit dengan berat rata-rata 25 g umur 8-12 minggu. Mencit dipelihara dikandang hewan Laboratorium Struktur Hewan, Departemen Biologi, FMIPA, Universitas Sumatera Utara. Mencit diberi makan dan minum secara *ad-libitum*. Penanganan hewan percobaan berpedoman pada prinsip-prinsip kesehatan yang menggunakan hewan secara etis, prosedur, dan standar yang dibuktikan dengan *Ethical Clearance* dari Komite Etik Penelitian Hewan, FMIPA, Universitas Sumatera Utara.

Perlakuan diberikan selama 30 hari dan terdiri atas 6 perlakuan (Tabel 1). Setiap perlakuan terdiri atas 5 ekor mencit. Pemberian bahan uji menggunakan jarum *gavage*. Dosis MSG yang diberikan untuk setiap mencit yaitu 4 mg/g BB. Serbuk MSG dilarutkan dalam 0,2 ml akuades dan diberikan 1 kali dalam sehari. Vitamin C

diberikan dengan dosis 0,26 mg/g BB, dilarutkan dalam 0,2 ml akuades, dan diberikan 1 kali sehari. Vitamin E diberikan dengan dosis 0,026 mg/g BB yang dilarutkan dalam *castrol oil* 0,3 ml dan diberikan 1 kali sehari.

Tabel 1. Pemberian Perlakuan

Perlakuan	<i>Castrol Oil</i> 0,3 ml	MSG 4 mg/g BB	Vit C 0,26 mg/g BB	Vit E 0,026 mg/g BB
K Negatif	-	-	-	-
K Positif	√	-	-	-
P1	-	√	-	-
P2	-	√	√	-
P3	√	√	-	√
P4	√	√	√	√

Keterangan: - = tidak dicekok
√ = dicekok

Setelah 30 hari perlakuan mencit dibunuh dengan cara dislokasi leher. Selanjutnya mencit dibedah, diambil organ ginjal dan dicuci dalam larutan fisiologis (NaCl 0,9%), ditimbang kedua organ ginjal (kanan dan kiri) dan hasilnya dirataratakan, kemudian dimasukkan ke dalam larutan bouin.

Pembuatan preparat ginjal dilakukan dengan metode parafin dan pewarna HE (Suntoro, 1983). Pengamatan histologi ginjal dilakukan dengan pengamatan kuantitatif dan dilakukan perhitungan terhadap kerusakan tubulus proksimal menggunakan rumus ($n / m \times 100\%$), dimana n adalah jumlah tubulus proksimal yang telah menutup dalam satu lapangan pandang dan m adalah jumlah seluruh tubulus proksimal dalam satu lapangan pandang. Pada pemeriksaan mikroskopis preparat ginjal, penghitungan dilakukan sampai 5 pergantian lapangan pandang yaitu pada bagian atas, bawah, tengah, dan antara tengah dengan bagian atas dan bawah preparat. Untuk pengamatan sampai tingkat sel dilakukan pada perbesaran 400x. Kemudian hasilnya dirataratakan untuk mendapatkan persentase derajat kerusakan ginjal di setiap mencit (Sihardo, 2006).

Data yang diperoleh dari pengamatan histologis (data parametrik) dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas. Jika $P < 0,05$ maka ditransformasi kemudian di uji lagi normalitas dan homogenitasnya. Jika $P > 0,05$ dilakukan uji ANOVA 1 arah dan jika $P < 0,05$ dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc Bonferroni*. Jika data tidak

normal dan atau tidak homogen ($P < 0,05$) maka dilakukan uji non parametrik *Kruskall-wallis*. Jika $P < 0,05$ dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

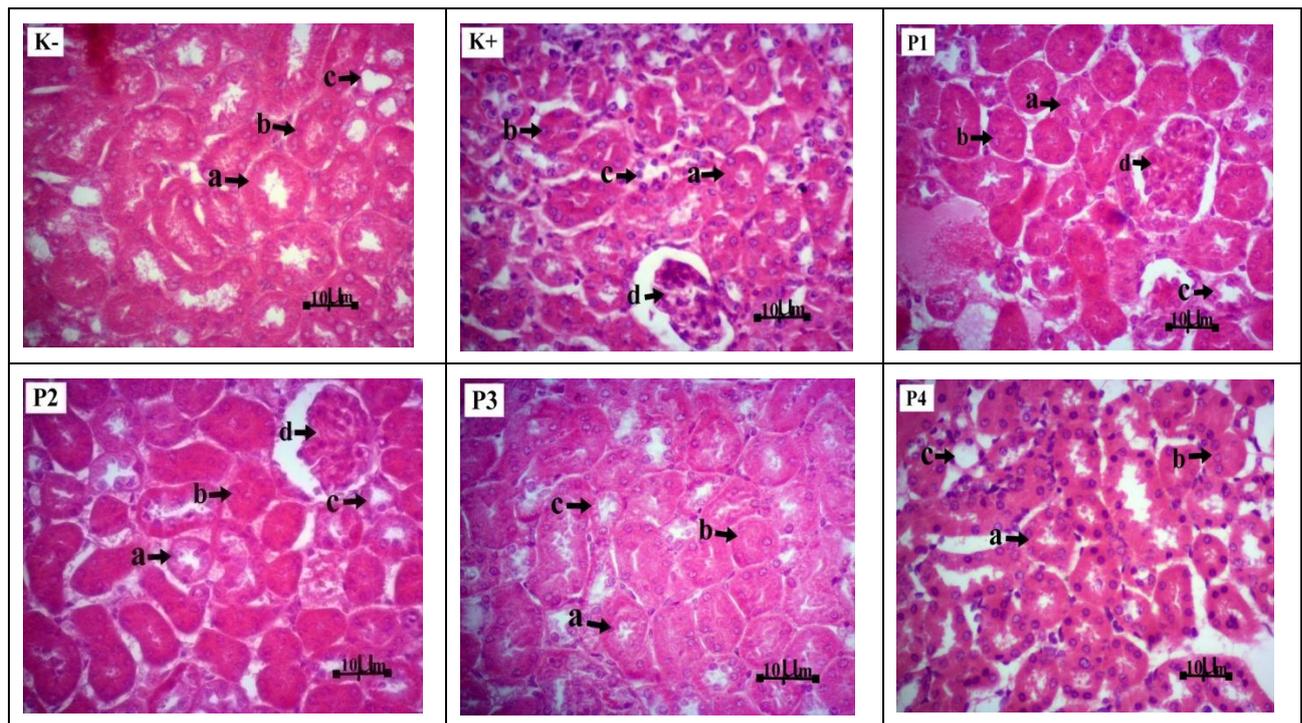
Hasil Dan Pembahasan

a. Gambaran Histologis Tubulus Proksimal Ginjal

Pengamatan dilakukan dengan melihat tubulus proksimal ginjal abnormal. Dikatakan abnormal apabila terdapat pembengkakan pada sel-sel penyusun epitel, sehingga lumen tubulus proksimal menjadi menyempit bahkan menutup. Gambaran histologi tubulus proksimal ginjal dapat dilihat pada Gambar 1.

Pada hasil pengamatan perubahan struktur histologis tubulus proksimal diketahui bahwa pada semua perlakuan ditemukan adanya

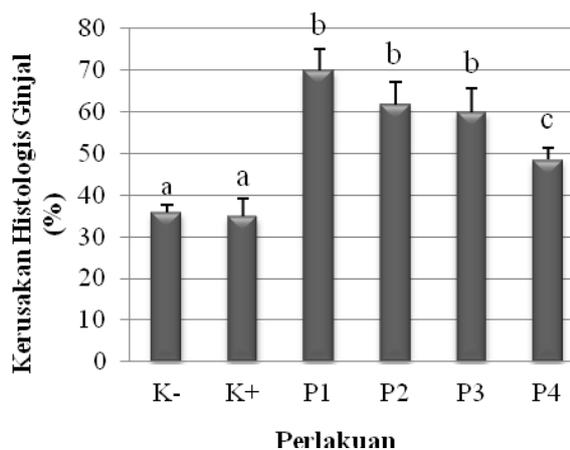
perubahan pada tubulus proksimal berupa penyempitan lumen bahkan menutup. Menurut Anggriani (2008), gambaran mikroskopis berupa sel-sel epitel tubulus proksimal yang membengkak dengan sitoplasma granuler karena terjadi pergeseran air ekstraseluler ke dalam sel. Pergeseran cairan ini terjadi karena toksin menyebabkan perubahan muatan listrik permukaan sel epitel tubulus, transpor aktif ion dan asam organik, dan kemampuan mengkonsentrasikan dari ginjal yang akhirnya mengakibatkan tubulus rusak, aliran menurun. Gambaran pembengkakan sel ini disebut degenerasi albuminosa atau degenerasi parenkimatososa atau *cloudy swelling* (bengkak keruh), yang merupakan bentuk degenerasi yang paling ringan serta bersifat reversibel. Hal inilah yang mungkin menyebabkan lumen tubulus proksimal mengalami penyempitan hingga menutup.



Gambar 1. Gambaran histologis ginjal mencit (*Mus musculus L.*) perlakuan kontrol (K- dan K+) dan perlakuan (P1, P2, P3 dan P4) Pewarnaan HE, perbesaran 400x. a. Tubulus Proksimal Terbuka, b. Tubulus Proksimal yang menyempit/menutup, c. Tubulus Kontortus Proksimal, d. Glomerulus.

Setelah dilakukan pengamatan ginjal mencit terhadap jumlah kerusakan tubulus proksimal yang mengalami penyempitan, dari setiap perlakuan diperoleh data yaitu pada perlakuan kontrol (K- dan K+) dan perlakuan (P1, P2, P3, dan P4) (Gambar 2). Pada perlakuan kontrol K- dan K+ tidak berbeda nyata, dan

berbeda nyata pada P1, P2, P3, dan P4. Pada kelompok yang diberi perlakuan yaitu pada P1, P2 dan P3 tidak berbeda nyata dan pada P4 berbeda nyata pada setiap perlakuan. Persentase kerusakan tubulus proksimal ginjal mencit ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Persentase kerusakan tubulus proksimal ginjal mencit (*Mus musculus* L.) kelompok kontrol (K- dan K+) dan kelompok perlakuan (P1,P2, P3 dan P4). Huruf yang sama adalah tidak berbeda nyata pada taraf 5% ($p>0,05$).

Dari Gambar 2 dapat dilihat bahwa kerusakan tubulus proksimal paling tinggi yaitu pada P1 dan paling rendah pada K+. Hal tersebut disebabkan karena P1 hanya mendapat pemajanan MSG saja, sehingga MSG dianggap sebagai senyawa yang berpotensi bersifat toksik. Menurut Syaifuddin (2001), keberadaan bahan yang bersifat toksik akan mempengaruhi kerja organ yang bersangkutan. Ginjal adalah organ ekskresi yang utama untuk membuang sisa produksi metabolisme yang tidak diperlukan lagi oleh tubuh. Ginjal mempunyai fungsi yang paling penting yaitu menyaring plasma dan memindahkan zat dari filtrat pada kecepatan yang bervariasi tergantung pada kebutuhan tubuh. Ginjal membuang zat yang tidak diinginkan dengan filtrasi darah dan mensekresikannya dalam urin, sedangkan zat yang dibutuhkan kembali ke dalam darah. Peristiwa tersebut menyebabkan ginjal bekerja dengan keras, sehingga dapat mempengaruhi perubahan pada histologis ginjal.

Menurut Robbins & Kumar (1995), bahan kimia dan obat-obatan merupakan penyebab penting adaptasi. Ginjal merupakan organ yang beratnya kurang dari 1% dari berat badan, meskipun demikian ginjal menerima sekitar 20% darah dari curah jantung. Aliran darah ginjal tersebut didistribusikan ke korteks ginjal melalui cabang-cabang arteri ke glomerulus yang melekat pada tubulus. Menurut Soeksmanto (2003), fungsi glomerulus sebagai penyaring dan tubulus sebagai tempat mengkoleksi bahan buangan dan kelebihan air. Berdasarkan fungsi tersebut

tubulus dan jaringan interstitium korteks ginjal lebih mudah terkena toksin yang bersirkulasi dibandingkan dengan jaringan-jaringan lainnya.

Kerusakan tubulus proksimal mencit terjadi setelah pemberian MSG ini sesuai dengan teori bahwa proses ekskresi obat yang berlangsung di ginjal dapat menimbulkan dampak buruk bagi ginjal itu sendiri. Hal tersebut disebabkan oleh beberapa faktor, salah satunya karena tingginya aliran darah menuju ginjal yang menyebabkan berbagai macam obat dan bahan kimia dalam sirkulasi sistemik dikirim ke ginjal dalam jumlah yang besar. Faktor lain yang mungkin menyebabkan kerusakan ginjal adalah kemampuan ginjal untuk mengkonsentrasikan substansi *xenobiotik* di dalam sel. Jika suatu zat kimia disekresi secara aktif dari darah ke urin, zat kimia terlebih dahulu diakumulasi dalam tubulus proksimal atau jika substansi kimia ini direabsorpsi dari urin maka akan melalui sel epitel tubulus dengan konsentrasi tinggi. Proses pemekatan tersebut mengakibatkan zat-zat toksik ini akan terakumulasi di ginjal dan menyebabkan kerusakan ginjal (Anggriani, 2008).

Kerusakan tubulus proksimal karena pemberian MSG selama 30 hari dapat menimbulkan terjadinya stres oksidatif. Menurut Wresdiyati *et al.* (2003), kenaikan level spesies oksigen reaktif seperti radikal bebas menimbulkan kondisi yang dinamakan stres oksidatif. Kondisi stres oksidatif dapat diinduksi oleh berbagai faktor seperti kurangnya antioksidan dan kelebihan produksi radikal bebas. Keadaan ini dapat mempengaruhi proses-proses fisiologis maupun biokimia tubuh, yang mengakibatkan terjadinya gangguan metabolisme fungsi sel dan dapat berakhir pada kematian sel.

Efek radikal bebas dalam tubuh akan dinetralkan oleh antioksidan (*electron donor*) yang dibentuk oleh tubuh sendiri dan suplemen dari luar melalui makanan, minuman atau obat-obatan, seperti: karotenoid, vitamin C, vitamin E, dan lain-lain. Vitamin E dapat mempertahankan integritas sel membran dengan menghambat aktivitas *nitric oxide* (NO) endotel dan menghambat perlekatan (adhesi) leukosit pada sel yang mengalami kerusakan. Aktivitas NO juga dapat dihambat oleh vitamin C, selain itu vitamin C juga dapat menstabilkan vitamin E (Sukandar, 2006).

Pada perlakuan P2 dan P3 yang diberi vitamin C dan E secara tunggal setelah pemajanan MSG diperoleh data bahwa kerusakan tubulus proksimal tidak menunjukkan perbedaan yang nyata dengan P1. Hal ini mungkin disebabkan oleh dosis vitamin C dan E belum efektif dalam memperbaiki struktur histologis ginjal mencit khususnya pada tubulus proksimal dari pemajanan MSG.

Menurut Tjay & Rahardja (2002), vitamin C bersifat hidrofil dan melindungi membran sel dari luar, karena terutama bekerja dalam cairan diluar sel. Pada tempat ini bisa terdapat radikal bebas yang lolos dari proses fagositosis dari fagosit. Sel tangkis ini terutama aktif selama aktivitas dari sistem pertahanan tubuh meningkat. Limfosit T juga membutuhkan banyak vitamin C agar dapat bekerja secara aktif. Disamping mengaktifasi fagosit vitamin C juga menstimulasi produk antiveron dengan daya antiviral. Keadaan stres kontinu dan pembebanan ketahanan berlebihan membutuhkan asupan vitamin C dosis tinggi.

Menurut Haryatmi (2004), vitamin E tidak dapat berfungsi baik disebabkan oleh sel-sel sudah banyak mengalami kemunduran struktur dan fungsinya, maka tidak dapat berfungsi sebagaimana mestinya, sehingga tidak mampu menurunkan kadar lemak peroksida. Beberapa hasil penelitian yang telah dilaporkan, disebutkan bahwa vitamin E dapat menurunkan kadar lemak peroksida darah, namun berapa dosis dan lama waktu pemberian serta variasi antioksidan yang tepat sampai saat ini belum dapat ditentukan.

Pemberian kombinasi vitamin C dan E pada P4, mampu menurunkan kerusakan histologis pada tubulus proksimal. Hal ini menunjukkan bahwa adanya kerja sama yang sinergis dari vitamin C dan E untuk menstabilkan radikal bebas yang disebabkan pemajanan MSG. Menurut Iswara (2009), radikal bebas akan ditangkap oleh vitamin E dengan menyumbangkan satu elektronnya kepada radikal yang kemudian berubah menjadi vitamin E radikal dan selanjutnya akan distabilkan oleh vitamin C. Vitamin C yang bersifat radikal karena kehilangan elektron nantinya akan berubah menjadi stabil kembali oleh enzim antioksidan di dalam tubuh.

Daftar Pustaka

- Agustie, M. C. 2006. Pengaruh Pemberian Rumput Mutiara (*Hedyotis corymbosa*) Dengan Dosis Bertingkat Terhadap Gambaran Histologi Ginjal Mencit BALB/C. *Artikel Penelitian*. Semarang: Universitas Diponegoro. hlm. 2.
- Anggriani, Y. W. 2008. Pengaruh Pemberian Teh Kombucha Dosis Bertingkat Per Oral Terhadap Gambaran Histologi Ginjal Mencit BALB/C. *Artikel Karya Tulis Ilmiah*. Semarang: Universitas Diponegoro. hlm. 5-6.
- Farombi, E. O. & Onyema, O. O. 2006. Monosodium Glutamate-induced Oxidative Damage And Genotoxicity In The Rat: Modulatory Role of Vitamin C, Vitamin E And Quercetin. *Hum Exp Toxicol*. 25: 251-9.
- Geha, R. dan Beiser, A. 2000. Review of Alleged Reaction to Monosodium Glutamate and Outcome of a Nutrition. *Double-Blind Placebo-Controlled Study. The Journal of Nutrition*. (1): 30.
- Haryatmi. 2004. Kemampuan Vitamin E Sebagai Antioksidan Terhadap Radikal Bebas Pada Lanjut Usia. [Tesis]. Semarang: FKIP UMS. 1(14).
- Iswara, A. 2009. Pengaruh Pemberian Antioksidan Vitamin C Dan E Terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Putih Terpapar Allethrin. [Skripsi]. Semarang: Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang.
- Robbins, S, L dan Kumar, V. 1995. *Buku Ajar Patologi I Edisi 4*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta. hlm. 38-39.
- Sihardo, L. 2006. Pengaruh Pemberian Minyak Pandanus conoideus Terhadap Gambaran Histologis Ginjal Pada Mencit Swiss Yang Di Infeksi Plasmodium berghei Anka. *Karya Tulis Ilmiah*. Semarang: Universitas Diponegoro. hlm. 6.

- Syaifuddin. 2001. *Fungsi Sistem Tubuh Manusia*. Penerbit Widya Medika, Jakarta. hlm. 218-219.
- Soeksmanto, A. 2003. Pengaruh fraksi aktif tumbuhan *Aglaia angustifolia* terhadap ginjal mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Natur Indonesia* 61: 50.
- Sukawan, U. Y. 2008. Efek Toksik Monosodium Glutamat (MSG) Pada Binatang Percobaan. [Tesis]. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Indonesia.
- Sukandar, E. 2006. Stres Oksidatif sebagai Faktor Risiko Penyakit Kardiovaskular. *Farmacia* 6: 1.
- Suntoro, S. H. 1983. *Metode Pewarnaan: Histologi dan Histokimia*. Bhratara Karya Aksara, Jakarta. hlm. 42-55.
- Syahrizal, D. 2008. Pengaruh Proteksi Vitamin C Terhadap Enzim Transaminase Dan Gambaran Histopatologis Hati Mencit Yang Dipapar Plumbum. [Tesis]. Medan: Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.
- Tjay, T. H & Rahardja, K. 2002. *Obat-obat Penting*. Elex Media Komputindo, Jakarta. hlm. 805-809.
- Wresdiyati, T, Astawan, M, Adnyane, IKM. 2003. Aktivitas anti inflamasi oleoresin jahe (*Zingiber officinale*) pada ginjal tikus yang mengalami perlakuan stres. *Jurnal Teknol dan Industri Pangan* 16 (2): 119.