

ARTIKEL PENELITIAN

Efek Proteksi Latihan Fisik terhadap Kemampuan Belajar dan Memori *Mus musculus* yang Diberikan Monosodium Glutamat

Husnur Rofiqoh,^{1*} Kristanti W. Wigati,¹ Suhartati²

¹Departemen Ilmu Faal Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

²Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

*Corresponding author: husnurrofiqoh95@gmail.com

Diterima 27 Januari 2017; Disetujui 16 April 2018

DOI: 10.23886/ejki.6.7176.

Abstrak

Monosodium glutamat (MSG) mengandung glutamat yang merupakan salah satu neurotransmitter bersifat eksitasi sehingga dapat memberikan efek patologis apabila dikonsumsi dalam dosis besar akibat eksitotoksik terhadap sel otak. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis pengaruh latihan fisik dalam memproteksi kemampuan belajar dan memori *Mus musculus* akibat paparan MSG. Penelitian menggunakan pretest-posttest control group design dan dilakukan di Laboratorium hewan coba Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga pada November 2015. Sebanyak 30 ekor mencit jantan diuji kemampuan belajar dan memorinya menggunakan Morris Water Maze sebelum dan sesudah perlakuan. Mencit dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu kelompok kontrol (K), P1 diberikan MSG intraperitoneal 2,5 mg/gBB saja, P2 diberikan MSG intraperitoneal 2,5 mg/gBB dan latihan fisik selama 21 hari. Hasil perbandingan dari waktu laten (kemampuan belajar) dan frekuensi (uji memori) antara pretest dan posttest kelompok pada P1 tidak terdapat perbedaan signifikan baik pada waktu laten maupun frekuensi. Sedangkan P2 terdapat perbedaan bermakna pada waktu laten ($p=0,010$) tetapi tidak pada frekuensi ($p=0,645$). Latihan fisik dapat memberikan proteksi terhadap kemampuan belajar *M. musculus* yang dipapar monosodium glutamat, akan tetapi tidak memberi proteksi pada retensi memori.

Kata Kunci: monosodium glutamat; latihan fisik; kemampuan belajar; memori

Exercise Effect on Learning Ability and Memory of *Mus musculus* Exposed Monosodium Glutamate

Abstract

Glutamate is a main component of Monosodium Glutamate. It is excitatory neurotransmitter but it leads to excitotoxicity in brain nerve cells when consumed in large doses. It also has negative impact in learning ability and memory. The aim of this study is to determine exercise effect in protecting learning ability and memory caused by MSG exposure. This study used pretest-posttest control group design and was conducted in Animal Laboratory of Faculty of Medicine Airlangga University in November 2015. Thirty mice males were tested for learning ability and memory using Morris Water Maze before and after treatment. They were divided into three groups, they are one control group/K (without treatment) and two treatment group were given different treatment for 21 days. Group P1 was given 2,5 mg/gBW MSG intraperitoneal injection, group P2 was given 2,5 mg/gBW MSG intraperitoneal injection and swimming exercise with a span of 30 minutes/day on 5 days/week for 3 weeks with a load individual 4% of body weight. The result showed latency time and frequency between pretest and posttest group at P1 group there is no significant difference either in latent or frequency while P2 was a significant difference of latency time ($p=0,010$) but no significant difference of frequency ($p=0,645$). Our study suggested that exercise (swimming) can protect learning ability caused by MSG exposure, but not protect memory retention.

Keywords: monosodium glutamate; exercise; learning ability; memory

Pendahuluan

Monosodium glutamat (MSG) adalah penyedap rasa yang banyak ditemukan di *junk food*, dengan kadar yang tidak diketahui. *Food and Drug Administration (FDA)* menggolongkan MSG sebagai bahan tambahan makanan *generally recognized as safe (GRAS)*. *Federation of American Societies for Experimental Biology (FASEB)* dan *World Health Organization (WHO)* menyatakan MSG aman sebagai bahan tambahan makanan. Meskipun demikian, FDA telah menerima laporan gejala seperti nyeri kepala dan mual setelah mengonsumsi makanan yang mengandung MSG.¹ Nyeri kepala akibat MSG diduga berhubungan dengan efek cedera sel-sel neuron di otak. Karena nosiseptor di otak sedikit, maka otak tidak mengekspresikan nyeri. Nyeri kepala yang dihasilkan adalah akibat inflamasi sel neuron yang meningkatkan tekanan intrakranial.²

MSG mengandung glutamat sebagai komponen utama dan merupakan neurotransmitter yang bersifat eksitasi.³ Peran glutamat dapat fisiologis maupun patologis. Sifat patologis bila dikonsumsi dalam dosis besar. Efek samping MSG adalah efek toksik terhadap sel neuron otak dan mengganggu fungsi sistem saraf pusat, salah satunya hipokampus yang berperan pada proses belajar dan memori.^{4,5} Sifat eksitotoksik glutamat menyebabkan cedera sel neuron yang berakhir dengan inflamasi dan kematian sel neuron.⁴ Injeksi subkutan dengan dosis MSG 3 mg/gBB setiap hari pada *Mus musculus* baru lahir selama 8 hari, menunjukkan perubahan perilaku saat dewasa, yaitu penurunan persepsi dan kemampuan memproses stimulus visual serta olfaktori.⁶ Hal tersebut menunjukkan konsumsi MSG pada masa anak dapat berdampak pada masa dewasa.

Latihan fisik adalah serangkaian gerak raga teratur dan terencana yang dilakukan secara sadar untuk meningkatkan kemampuan fungsional.⁷ Latihan fisik bermanfaat terhadap fungsi afektif dan kognitif,⁸ sehingga dapat memulihkan pembelajaran spasial dan neurogenesis di hipokampus serta meningkatkan kemampuan belajar.⁹

Mengingat dampak negatif MSG terhadap kemampuan belajar dan memori, serta manfaat latihan fisik terhadap fungsi kognitif, maka penelitian ini dilakukan untuk mengamati pengaruh latihan fisik terhadap paparan MSG pada hewan coba.

Metode

Penelitian ini merupakan *experimental laboratories* menggunakan rancangan *pretest-posttest control group design*, menggunakan hewan coba mencit (*Mus musculus*) jantan, dewasa berumur 7 minggu dengan berat badan 20-30 gram. Sebanyak 30 ekor *Mus musculus* dibagi secara acak menjadi tiga kelompok yaitu K, P1, P2. K adalah kelompok kontrol tanpa perlakuan, P1 adalah kelompok dengan perlakuan pemberian MSG saja, dan P2 dengan perlakuan pemberian MSG dan latihan fisik (berenang). Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2015 di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Mencit ditangani sesuai standar dan aturan penggunaan hewan coba yang telah dinyatakan laik etik oleh komite etik penelitian kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya (nomor kelaikan etik: No.315/EC/KEPK/FKUA/2015).

MSG berbentuk serbuk kristal yang dibeli di pasaran. MSG dilarutkan NaCl 0,9% dengan konsentrasi MSG 10%. MSG diberikan secara intraperitoneal dengan dosis yang sama untuk kelompok P1 dan P2 yaitu 2,5 mg/gBB/minggu satu kali injeksi selama 2 minggu. Total dosis yang diberikan selama 2 minggu adalah 5 mg/gBB.

Latihan fisik menggunakan *endurance exercise*. Mencit berenang dalam ember yang berbeda (1 ekor 1 ember), dengan tinggi air disesuaikan sehingga ekor mencit tidak menyentuh dasar ember. Berenang dilakukan 30 menit/hari, 5 hari/minggu dengan beban 4% dari berat badan.¹¹ Latihan fisik dilakukan selama 3 minggu, dimulai 1 minggu sebelum pemberian MSG sampai 1 minggu setelah pemberian MSG yang terakhir.

Metode *Morris Water Maze* sering digunakan untuk mempelajari memori spasial dan kemampuan belajar. Variabel yang dinilai adalah kecepatan hewan coba dalam mencari dan mencapai *platform* yang tersembunyi di dalam air yang keruh.¹² Kemampuan belajar, ditentukan berdasarkan parameter kecepatan hewan coba mencapai *platform* dalam satuan detik (waktu laten) dan dinyatakan dengan angka skoring (Tabel 1). Untuk uji memori ditentukan berdasarkan frekuensi hewan coba melintasi area *platform* dalam satuan kali. Uji *Morris Water Maze* dilakukan selama 6 hari. Hari pertama untuk adaptasi, hari ke-2 sampai hari ke-5 uji kemampuan belajar, dan hari ke-6 untuk uji memori.

Tabel 1. Skoring Waktu Laten Pelatihan Konsolidasi Memori¹³

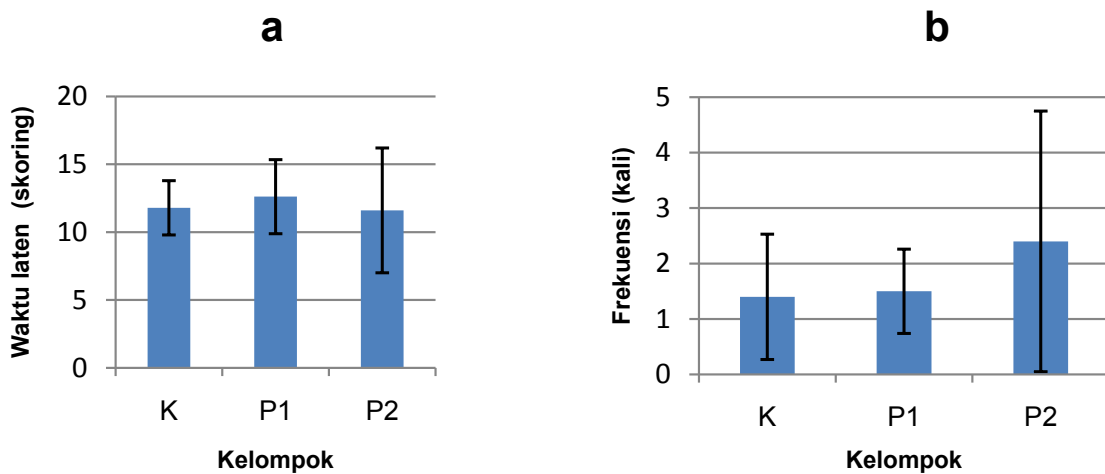
| Rentang nilai waktu (detik) | Angka skoring (waktu laten) |
|-----------------------------|-----------------------------|
| 60 keatas | 1 |
| 58-60 | 2 |
| 55-57 | 3 |
| 52-54 | 4 |
| 49-51 | 5 |
| 46-48 | 6 |
| 43-45 | 7 |
| 40-42 | 8 |
| 37-39 | 9 |
| 34-36 | 10 |
| 31-33 | 11 |
| 28-30 | 12 |
| 25-27 | 13 |
| 22-24 | 14 |
| 19-21 | 15 |
| 16-18 | 16 |
| 13-15 | 17 |
| 10-12 | 18 |
| 7-9 | 19 |
| 4-6 | 20 |
| 1-3 | 21 |

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan program SPSS versi 16.0. Analisis deskriptif meliputi uji deskriptif dan homogenitas dilanjutkan dengan analisis komparasi menggunakan uji *paired t-test* dan *one way ANOVA* jika distribusi data normal.

Hasil

Kondisi Awal Hewan Coba

Kondisi awal hewan coba dapat ditentukan dari data *pretest* saat uji *Morris Water Maze*. Data yang diukur adalah rata-rata waktu laten dan frekuensi. Pada waktu laten (Gambar 1a) didapatkan nilai p pada masing-masing kelompok >0,05. Begitu pula pada data frekuensi (Gambar 1b) didapatkan nilai p>0,05. Hal tersebut menunjukkan bahwa kemampuan belajar dan memori hewan coba sebelum diberi perlakuan adalah sama.

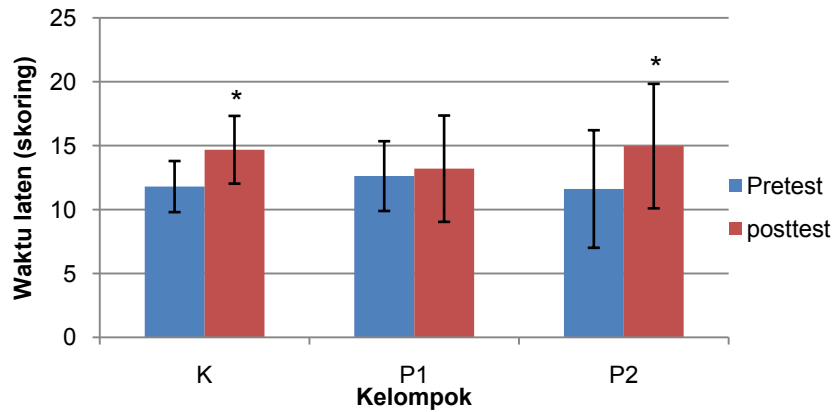


Gambar 1. Hasil Uji Pretest *Morris Water Maze* (a) waktu laten antar kelompok dengan p=0,804. (b) frekuensi antar kelompok dengan p=0,345

Kemampuan Belajar

Hasil kemampuan belajar (pelatihan konsolidasi memori) berupa waktu laten dalam angka skoring dapat dilihat pada Gambar 2. Nilai rata-rata waktu laten *posttest* lebih tinggi dari nilai

pretest pada masing-masing kelompok. Waktu laten rerata kelompok K dan P2 menunjukkan nilai $p < 0,05$, yang artinya terdapat perbedaan bermakna antara *pretest* dan *posttest*. Semakin tinggi nilai skoring waktu laten, semakin baik kemampuan belajar hewan coba.

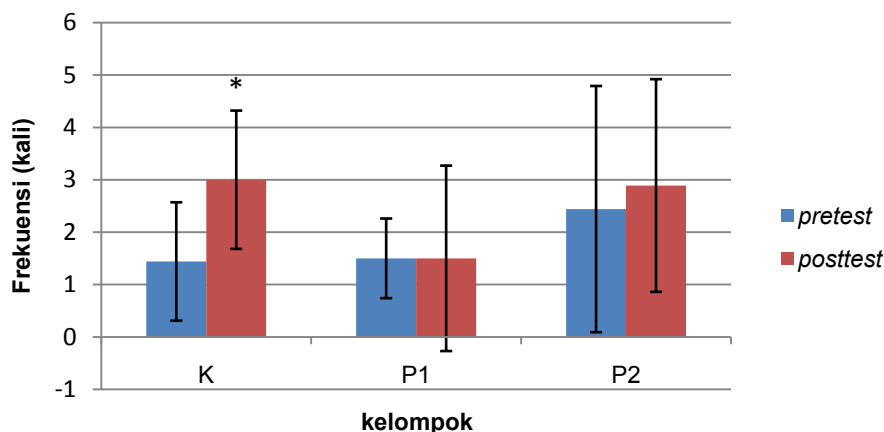


Gambar 2. Perbandingan Rerata Waktu laten *Pretest* dan *Posttest* antar Kelompok. Tanda* menunjukkan perbedaan bermakna menurut uji *paired t-test* ($p < 0,05$). Hasil yang bermakna hanya pada kelompok K ($p = 0,048$) dan P2 ($p = 0,010$). P1 menunjukkan hasil yang tidak bermakna ($p = 0,559$)

Uji Memori

Hasil uji memori berupa frekuensi melintasi target dalam satuan kali (Gambar 3). Nilai rerata waktu laten *posttest* lebih tinggi dari nilai *pretest*

pada kelompok K dan P2. Hanya frekuensi rata-rata kelompok K menunjukkan nilai $p < 0,05$, yang artinya terdapat perbedaan bermakna antara *pretest* dan *posttest*. Semakin tinggi nilai frekuensi melintasi target, semakin baik retensi memori.



Gambar 3. Perbandingan Rerata Frekuensi Pretest dan Posttest antar Kelompok. Tanda* menunjukkan perbedaan bermakna menurut uji *paired t-test* ($p < 0,05$). Hasil yang bermakna hanya pada kelompok K ($p = 0,028$). Pada P1 dan P2 menunjukkan hasil yang tidak bermakna (P1 $p = 1,000$; P2 $p = 0,645$)

Pembahasan

Kondisi Awal Hewan Coba

Ada beberapa faktor yang memengaruhi hasil uji memori yaitu faktor dari hewan coba berupa jenis kelamin, berat badan, spesies dan strain, usia, nutrisi, dan stres. Pada hewan betina efek estrogen diduga memengaruhi memori spasial.¹⁰ Dengan menjaga variabel kendali untuk tetap sama dan setara, maka faktor-faktor yang dapat mengganggu hasil penelitian dapat diminimalkan sehingga diperoleh hasil pelatihan konsolidasi dan uji memori *pretest* yang tidak berbeda bermakna antar kelompok.

Kemampuan Belajar

Hasil kemampuan belajar berupa waktu laten rata-rata antara *pretest* dan *posttest* Morris Water Maze pada tiap kelompok menunjukkan peningkatan bermakna pada kelompok K dan P2. Pelatihan konsolidasi memori selama lima hari berturut turut menyebabkan memori spasial jangka pendek yang diperoleh dari latihan diubah menjadi memori spasial jangka panjang yang disebut proses konsolidasi memori. Hewan coba yang mengalami proses konsolidasi yang baik dapat mengingat letak *platform* dengan baik. Hal tersebut ditandai dengan semakin cepat hewan coba menemukan *platform* dari hari ke hari (waktu laten) sehingga didapatkan waktu laten dalam bentuk angka skoring yang meningkat dari hari ke hari. Semakin tinggi angka skoring waktu laten, semakin cepat hewan coba menemukan *platform*, yang menandakan terjadinya proses konsolidasi memori yang baik. Apabila terdapat penurunan hasil pengukuran kemampuan belajar pada hari tertentu kemungkinan disebabkan kelelahan dan stres fisik yang dapat memengaruhi hasil pada hari tersebut.¹⁴

Hasil yang signifikan pada P2 diduga karena efek neuroprotektif dari latihan fisik dengan menghambat atau mengurangi *glutamate excitotoxicity* akibat pajanan MSG. Pemberian injeksi intraperitoneal MSG 4 mg/gBB sekali seminggu menurunkan retensi memori dan kerusakan hipotalamus yang signifikan. Pada penelitian Park *et al* (dikutip dari Onalapo¹⁵), MSG intraperitoneal diberikan hanya sekali sedangkan pada penelitian ini dosis diberikan 2 kali 2,5 mg/gBB/minggu dengan harapan terjadi akumulasi dosis total menjadi 5 mg/gBB. Tujuan pembagian dosis untuk mencegah kematian mencit dan efek dari latihan fisik lebih terlihat karena dosis yang bertahap.

Latihan fisik yang digunakan dalam penelitian ini adalah renang, karena memiliki efek neuroprotektif, mencegah penurunan fungsi kognitif dan motorik, serta dapat digunakan sebagai terapi non-obat untuk mengurangi gejala penyakit parkinson.¹¹ Latihan fisik merangsang peningkatan protein *peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator- 1 alpha* (PGC-1 α) di otot skelet, kemudian protein tersebut merangsang *fibronectin type III domain-containing protein 5* (FNCD5) yang akan mengatur ekspresi *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF) di otak. Kenaikan BDNF berfungsi sebagai neuroprotektif dan neurogenesis. BDNF dapat diinduksi di berbagai regio otak terutama area hipokampus melalui latihan fisik. Hipokampus adalah area otak yang berperan dalam kemampuan belajar dan memori serta telah diidentifikasi sebagai area utama yang berubah pascalatihan fisik. Latihan fisik dapat menghambat *glutamate excitotoxicity*, dengan mencegah kerusakan neuron dan gangguan fungsi kognitif pada mencit. Menurut Wrann *et al*¹⁶ PGC-1 α secara negatif mengatur aktivitas reseptor *N methyl-D-aspartat* (NMDA) ekstrasinaptik sehingga dapat mengurangi *excitotoxicity* dari neuron korteks.

Uji Memori

Peningkatan skor frekuensi kelompok K menunjukkan peningkatan signifikan dibandingkan kelompok P2. Hasil tersebut diperoleh karena MSG yang diberikan pada kelompok P1 dan P2 menyebabkan ketidakseimbangan neurotransmitter eksitatorik (glutamat) dan inhibitorik (misalnya GABA) yang sangat penting untuk fungsi neurologis normal. Aktifitas glutamat yang berlebih dapat menyebabkan cedera dan kematian sel saraf serta disfungsi pertahanan sel saraf. Bila hal tersebut tidak dihambat oleh neurotransmitter inhibitorik di sirkuit glutamat maka akan menyebabkan defisit pada fungsi kognitif dan motorik, serta plastisitas sel saraf.¹⁷ Selanjutnya akan terjadi gangguan proses konsolidasi memori yang berdampak pada kemampuan belajar dan memori.

Tingginya konsentrasi glutamat ekstraseluler, akan menyebabkan overaktivasi reseptor ionotropik dan metabotropik glutamat sehingga terjadi perpanjangan aktivitas dari transmisi sinaptik eksitatorik¹⁸ dan selanjutnya mengakibatkan depolarisasi sehingga Ca²⁺ intraseluler akan mengaktifkan *calcium-dependent degradative enzymes* dan *apoptotic pathways* (jalur kematian sel) yang menyebabkan kematian neuron. Keadaan itu disebut *glutamate excitotoxicity* yang

menyebabkan nekrosis neuron di nukleus arkuata hipotalamus, kematian sel purkinje (sel purkinje sering menjadi target *glutamate excitotoxicity*), dan kerusakan di beberapa area otak seperti nukleus amygdala, hipokampus, dan hipotalamus; fungsi bagian otak tersebut adalah pusat belajar dan memori, serta fungsi kognitif.¹⁹

Frekuensi P2 yang meningkat tidak signifikan dan nilainya lebih rendah dari kelompok K menunjukkan bahwa retensi memori kelompok P2 lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol. Hal tersebut dapat disebabkan efek MSG terhadap retensi memori yang diberi pencegahan dengan latihan fisik tidak memberikan hasil seoptimal kelompok kontrol.

Kesimpulan

Latihan fisik berupa renang selama 30 menit/hari, 5 hari/minggu selama 3 minggu dengan beban 4% dari berat badan dapat memberikan proteksi terhadap kemampuan belajar tetapi tidak memberikan proteksi terhadap memori *M.musculus* yang dipapar MSG intraperitoneal 2,5 mg/gBB/minggu selama 2 minggu.

Daftar Pustaka

1. He K, Du S, Xun P, Sharma S, Wang H. Consumption of monosodium glutamate in relation to incidence of overweight in Chinese adults: China Health and Nutrition Survey (CHNS). *Am J Clin Nutr*. 2011;93(6):1328-36.
2. Husarova V, Ostatnikova D. Monosodium glutamate toxic effects and their implication for human intake: a review. *JMED Research*. 2013;2013:1-12.
3. Hall, JE. Guyton dan Hall buku ajar fisiologi kedokteran. Edisi ke-12. Singapore: Elsevier; 2014.
4. Xiong JS, Branigan D, Li M. Deciphering the MSG controversy. *Int J Clin Exp Med*. 2009;2(4):329-36.
5. Collison KS, Makhoul NJ, Inglis A, Al-Johi M, Zaidi MZ, et al. Dietary trans-fat combined with monosodium glutamate induces dyslipidemia and impairs spatial memory. *Physiology & Behavior*. 2010;99:334-42.
6. Hlíňák Z, Gandalovičová D, Krejčí I. Behavioral deficits in adult rats treated neonatally with glutamate. *Neurotoxicol Teratol*. 2005;27:465-73.
7. Giriwijoyo S, Sidik DZ. Ilmu faal olahraga (fisiologi olahraga). Bandung: Remaja Rosdakarya Offset; 2012.
8. Hogan CL, Mata J, Carstensen LL. Exercise holds immediate benefits for affect and cognition in younger and older adults. *Psychol Aging*. 2013;28(2):587-94.
9. van Praag H, Shubert T, Zhao C, Gage FH. Exercise enhances learning and hippocampal neurogenesis in aged mice. *J Neurosci*. 2005;25(38):8680-5.
10. D'Hooge R, Deyn PPD. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Res Rev*. 2001;36:60-90.
11. Goes AT, Souza LC, Del Fabbro L, De Gomes MG, Boeira SP, Jesse CR. Neuroprotective effects of swimming training in a mouse model of Parkinson's disease induced by 6-hydroxydopamine. *Neuroscience*. 2014 Jan 3;256:61-71.
12. Nunez J. Morris Water Maze Experiment. *J Vis Exp*. 2008;19:1-2
13. Pratiwi MP, Argarini R, Sudarno. Red dragon fruit extract (*hylocereus polyrhizus*) restores learning ability and memory on test animal post lead exposure: experimental study on test animals. *ANIMA, Indonesian Psychological Journal*. 2014;30(1):57-63.
14. Patil SS, Sunyer B, Höger H, Lubec G. Evaluation of spatial memory of C57BL/6J and CD1 mice in the Barnes maze, the multiple T-maze and in the Morris water maze. *Behavioural Brain Research*. 2009;198:58-68.
15. Onalapo OJ, Onalapo AY. Acute low dose monosodium glutamate retards novelty induced behaviours in male swiss albino mice. *J. Neurosci. Behav. Health*. 2011;3(4):51-6.
16. Wrann CD, White JP, Salogiannis J, Laznik-Bogoslavski D, Wu J, et al. Exercise induces hippocampal BDNF through a PGC 1 α /FNDC5 pathway. *Cell Metab*. 2013;18(5):649-9.
17. Guerriero RM, Giza CC, Rotenberg A. Glutamate and GABA imbalance following traumatic brain injury. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2015;15(27):1-11.
18. Gudino-Cabrera G, Urena-Guerrero ME, Rivera-Cervantes MC, Feria-Velasco AI, Beas-Zarate C. Excitotoxicity triggered by neonatal monosodium glutamate treatment and blood brain barrier function. *Arch Med Res*. 2014;45:653-9.
19. Pratiwi D, Djunaidi A, Partadiredja G. High dosage of monosodium glutamate causes deficits of the motor coordination and the number of cerebellar Purkinje cells of rats. *Hum Exp Toxicol*. 2015:1-9.