

BAB II

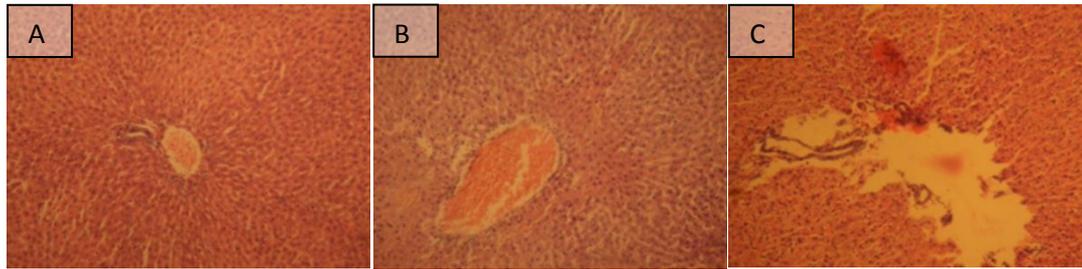
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Metabolisme dan efek negatif MSG pada hepar

Monosodium Glutamat (MSG) yang dikonsumsi akan larut dalam air dan ludah, kemudian berdisosiasi membentuk asam glutamat dan diabsorpsi melalui usus sebelum memasuki sirkulasi porta ke hepar. Asam glutamat sendiri merupakan asam amino dengan kisaran 17% dibutuhkan oleh tubuh sebagai penyusun protein, sehingga dapat diperkirakan seorang dewasa yang berat badannya 70 kg rata-rata mengandung 2 kg glutamat dalam protein tubuhnya. Tubuh manusia juga menghasilkan glutamat bebas dengan rata-rata 50 gram tiap harinya. Jumlah glutamat bebas yang beredar yang diperlukan untuk keperluan tubuh berkisar 10 gram, dengan distribusi sebesar 6 gram pada otot, 0,04 gram dalam darah, dan 2,3 gram di otak, hepar dan ginjal masing-masing 0,7 gram.^{38,39} Di dalam hepar, asam glutamat ditransaminasikan dengan piruvat menjadi alanin. Alanin diubah oleh asam amino dikarboksilat menjadi ketoglutarat atau oksaloasetat. Proses ini mengakibatkan berkurangnya jumlah asam amino dikarboksilat yang dilepas ke dalam darah porta. Asam glutamat dan asam aspartat yang lolos dari metabolisme dalam mukosa dibawa ke hati melalui vena porta. Sebagian asam glutamat dan aspartat dikonversi menjadi glukosa dan laktat sebelum memasuki pembuluh darah perifer.³³ Kemudian MSG yang dimetabolisme dalam bentuk glutamat akan didistribusikan sebagai asam amino non esensial yang menyebar luas di dalam jaringan tubuh dengan 57% dari asam

amino yang diabsorpsi akan diubah menjadi urea melalui hepar, 6% menjadi plasma protein, 23% absorpsi asam amino melalui sirkulasi umum sebagai asam amino, dan sisanya 14% disimpan sementara di dalam hepar sebagai protein hepar.³³

Hepar sendiri mempunyai kemampuan terbatas dalam memetabolisme asam glutamat. Berdasarkan hasil penelitian, batas maksimal hepar untuk metabolisme MSG adalah 30 mg/kg/hari (berkisar maksimal 2,5 -3,5 gram MSG dengan berat badan 50-70 kg) dan tidak boleh diberikan dalam dosis tinggi dalam mengonsumsinya.² Bila kadar glutamat melebihi kemampuan kapasitas hepar untuk metabolismenya, maka kadar glutamat plasma akan meningkat.^{40,41} Beberapa penelitian yang telah dilakukan pemberian MSG dosis tunggal 1 gr/kg berat badan mencit dewasa, yang diberikan secara intraperitoneal, subkutan, atau per oral selama 10 hari, 23 hari, dan 4 bulan, akan menyebabkan kadar asam glutamat plasma naik dengan cepat mencapai nilai maksimal dalam 10-30 menit setelah pemberian dan kembali ke normal dalam 90menit.^{7,25,35} Selain itu, berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Eweka dan Om'Iniabo (2007) yang meneliti tentang pengaruh pemberian MSG secara oral terhadap gambaran mikroskopis hepar tikus selama 14 hari dengan dosis 3 gr dan 6 gr mampu membuktikan adanya perbedaan yang signifikan dibanding dengan kelompok kontrol tanpa perlakuan MSG.^{11,12} Gambaran mikroskopis hepar yang dipapari MSG dari penelitian Eweka dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Gambaran mikroskopis Hepar yang dipapari MSG.¹²

Pada gambar 1A memperlihatkan gambaran mikroskopis hepar yang normal dari kelompok kontrol tanpa perlakuan MSG, gambar 1B memperlihatkan adanya dilatasi vena sentralis dan sel sel eritrosit yang lisis pada kelompok perlakuan setelah diberi 3 gr MSG, dan pada gambar 1C memperlihatkan adanya perubahan vena sentralis dan hepatosit yang atrofi dan degenerasi pada kelompok perlakuan yang diberi 6 gr MSG. Selain itu pada penelitian yang dilakukan Egbuonu dkk. (2009) yang meneliti tentang pengaruh pemberian monosodium glutamat dengan dosis rendah 5mg/kgbb terhadap tikus selama 28 hari menunjukkan bahwa terdapat peningkatan signifikan alanin aminotransferase (ALT) serum dan aspartat aminotransferase (AST) serum.³³ Peningkatan ALT sendiri merupakan marker spesifik terjadinya kerusakan sel hepar. MSG dapat berdisosiasi dengan mudah dan melepaskan glutamat bebas. Proses deaminasi glutamat akan memproduksi ion ammonium (NH_4^+) yang dapat bersifat toksik terhadap hepar bila jumlahnya berlebihan. Akibatnya, hepar akan rentan mengalami stres oksidatif. Selain itu peningkatan AST juga dapat berkaitan dengan adanya kerusakan hepar dan juga organ lain yang memiliki peran aktivitas besar pada metabolisme seperti otak, jantung dan paru. Pada penelitian ini juga didapatkan hasil adanya peningkatan serum *malondealdehyde* (MDA) yang merupakan marker terjadinya proses

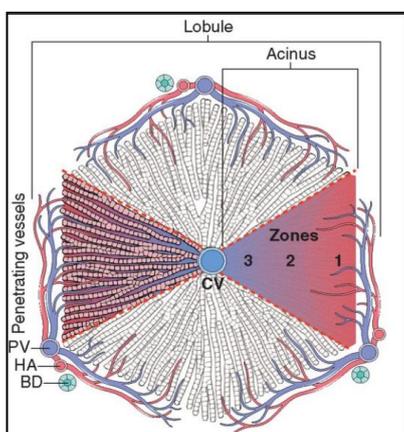
peroksidasi lipid yang dapat menyebabkan juga adanya stres oksidatif hepar. Stres oksidatif yang terjadi pada hepar ini pun berkaitan dengan adanya peningkatan radikal bebas seperti *reactive oxygen spesies* (ROS).^{25,31,33,42} Peningkatan produksi ROS mitokondria yang merupakan faktor pencetus aktivitas dari *uncoupling protein-2* (UCP-2). UCP-2 merupakan protein *inner membrane* mitokondria yang menimbulkan kebocoran protein dengan mekanisme *uncoupling* oksidasi dari bahan pembuatan ATP. Aktivitas ini mengakibatkan hepar menjadi lebih rentan akan kerusakan.⁴³ Monosodium glutamat (MSG) yang dipaparkan pada hewan coba juga menunjukkan adanya peningkatan asam lemak intraselular yang diaktifkan melalui mekanisme aktivasi *nuclear peroxisome proliferator-activated receptor- α* (PPAR α).⁴⁴ *Glutation sulphydril* (GSH) dan *Glucose6-phosphate dehydrogenase* (G6PD) juga meningkat pada tikus yang diberi MSG. Peningkatan tersebut akan mengakibatkan terjadinya proses peroksidasi lipid dan menghasilkan enzim pada *pentose phosphate pathway* (PPP) yang berperan sebagai katalisator NADPH (*Nikotinamida Adenosin Dinukleotida Hidrogen*) dalam jumlah yang terbatas.^{45,46} Padahal NADPH sendiri merupakan kofaktor dari *Glutathione* yang berperan penting dalam mekanisme aktivitas antioksidan sebagai ROS *scavenger*.⁴⁶ Berdasarkan penelitian secara *in vitro* pada sel manusia, peningkatan glutamat ekstrasel dapat menyebabkan penurunan *glutathione* intrasel, aktivasi *12-lipoxygenase*, akumulasi peroksida intrasel, aktivasi *cyclic guanosine monophosphate* (cGMP) dependen kanal Ca^{2+} , peningkatan produksi ROS (*Reactive Oxygen Species*) mitokondria, peningkatan α ketoglutarat dan ion ammonium yang dikatalisa oleh enzim alanin transaminase

(ALT) pada sel hepatoma manusia (HepG2) yang mendukung terjadinya kerusakan sel.^{16,17,18,19}

Monosodium glutamat (MSG) yang dikonsumsi secara berlebihan juga dapat menimbulkan adanya peningkatan yang signifikan dari level glutamat dan glutamine dalam darah.¹⁵ Peningkatan glutamat ini memicu terjadinya hiperlipidemia dan hiperglikemia. Selanjutnya, peningkatan level glukosa akan menimbulkan terjadinya peroksidasi lipid dengan peningkatan oksidasi glukosa yang menghasilkan pembentukan NADPR (*Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-reduced*) dependen *thiobabituric acid reactive substances* (TBARS). Proses ini mengakibatkan terjadinya peningkatan *cytochrome p450* pada hepar.¹⁵ Hiperglikemia juga dapat memicu terjadinya autooksidasi dari aldose dan ketose dalam membentuk *reactive dicarbonil sugar (glucosone)* yang bereaksi dengan protein membentuk ketoimin. Oksigen yang tereduksi dari proses autooksidasi akan membentuk ion superoksida dan H₂O₂ (Hidrogen Peroksida) yang dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada molekul jaringan. Autooksidasi glikosilasi adalah mekanisme yang menyebabkan produksi radikal bebas. Peningkatan peroksidasi lipid pada mikrosom hepar disebabkan juga oleh adanya peningkatan glutamat dan glutamin yang mendukung terjadinya lipogenesis. Glutamat dapat menumpuk dalam intraselular dan mempengaruhi reaksi redoks pada sel.⁴⁷ Selain itu peningkatan ion kalsium akibat MSG juga dapat meningkatkan terjadinya proses peroksidasi lipid.^{15,48} Oleh karena itu, MSG merupakan zat yang bersifat hepatotoksik sekaligus oksidan yang dapat menimbulkan stres oksidatif dan terjadinya kerusakan hepar.

2.2 Pengaruh MSG terhadap histopatologi hepar

Hepar merupakan organ tubuh yang rentan mengalami kerusakan akut diawali oleh lesi biokemik yang menyebabkan perubahan metabolisme dan dapat mengakibatkan perubahan struktur serta perubahan fungsi hepar.⁴⁹ Perubahan struktur dan fungsi dari hepar dapat dilihat dari perubahan unit fungsional utama hepar yang disebut dengan lobulus hepar. Sebagai unit fungsional, lobulus hepar dapat dibagi menjadi tiga zona (Gambar 2) yaitu:^{50,51}



Gambar 2. Zona 1, Zona 2 dan Zona 3 Lobulus

1. Zona 1: Zona aktif, sel-selnya paling dekat dengan trias portal dan menerima paling banyak darah yang mengandung oksigen.
2. Zona 2: Zona intermedia, sel-selnya memberi respon kedua terhadap darah.
3. Zona 3: Zona pasif, aktivitas sel-selnya rendah dan tampak aktif bila kebutuhan meningkat.

Zona 3 paling jauh dengan trias porta dan menerima darah yang mengandung oksigen dengan kadar paling sedikit.^{50,51} Susunan menurut zona ini dapat menerangkan beberapa perbedaan kerusakan selektif dari hepatosit oleh berbagai agen obat-obatan, agen toksik, oksidan, zat asing dan penyakit. Agen toksik sekaligus oksidan yang dapat menimbulkan kerusakan pada hepar, salah satunya adalah akibat dari penggunaan monosodium glutamat (MSG) yang bersifat hepatotoksik dan dapat memicu adanya stress oksidatif. Apabila hepar dipapari oleh oksidan ataupun zat toksik yang berlebihan maka hepar dapat mengalami perubahan patologis, sebagai berikut.

1. Radang

Pada hepar yang mengalami radang, secara mikroskopis dapat ditemukan sel *polimorfonuclear*, fagosit, monosit, dan limfosit.^{49,52}

2. Degenerasi

Perubahan pada proses degenerasi terjadi pada sitoplasma dan nukleus.

Berikut ini merupakan degenerasi pada inti sel hepar:^{49,52,53}

- Vakuolisasi ; Inti tampak membesar dan bergelembung serta kromatinnya jarang. Vakuolisasi disebabkan oleh perubahan keseimbangan cairan dalam sel hati akibat bertambahnya cairan.
- Badan inklusi ; Inti sel hati yang mengandung *inclusion bodies* eosinofilik, yang berbatas jelas dari sekitarnya yang basofilik.
- Piknosis, karioreksis, kariolisis ; Bila sel mengalami kematian (nekrosis) biasanya inti sel yang mati itu menyusut, batasnya tidak teratur dan berwarna gelap, proses ini dinamakan piknosis. Kemungkinan lain, inti dapat hancur dan meninggalkan zat kromatin yang tersebar di dalam sel, proses ini dinamakan karioreksis. Akhirnya pada beberapa keadaan inti yang mati kehilangan kemampuan untuk diwarnai dan menghilang begitu saja, proses ini disebut kariolisis

Selain degenerasi pada inti sel, terdapat juga perubahan pada proses degenerasi terjadi dalam sitoplasma sel. Berikut ini merupakan jenis-jenis degenerasi sitoplasma sel hepar antara lain :

- Degenerasi albuminosa atau degenerasi bengkak keruh adalah degenerasi yang paling ringan berupa pembengkakan dan kekeruhan sitoplasma dengan munculnya granula-granula dalam sitoplasma akibat endapan protein.⁵³
- Degenerasi lemak ditandai dengan adanya penimbunan lemak abnormal dalam parenkim hepar, dapat berupa bercak, zonal, atau merata . Tampak lemak dalam sel hati akibat ketidakseimbangan proses normal yang mempengaruhi kadar lemak di dalam dan di luar jaringan hati karena adanya gangguan metabolisme.^{52,53,54}
- Degenerasi Hialin, merupakan degenerasi berat. Terjadi akumulasi material protein diantara jaringan ikat. Gambaran setelah pewarnaan hematoxilin eosin akan terlihat suatu masa yang homogen, jernih, dan eosinofilik.^{53,54}
- Degenerasi Hidropik, terjadi karena adanya gangguan membran sel sehingga cairan masuk ke dalam sitoplasma, menimbulkan sitoplasma yang bervakuola kecil sampai besar. Sitoplasma sangat membengkak, pucat, jernih, berisi banyak air tidak mengandung lemak atau glikogen.^{53,54}
- Degenerasi Amiloid, terdapat penimbunan kompleks protein-karbohidrat yang homogen dan transparan pada celah disse, yaitu antara hepatosit dan sinusoid dan kadang –kadang pada dinding pembuluh darah. Degenerasi amiloid dijumpai pada amiloidosis primer atau sekunder.^{53,55}

3. Nekrosis

Nekrosis adalah kematian sel atau semua jaringan pada organisme hidup yang ditandai dengan inti sel yang mati dan menjadi kecil serta kromatin yang kehilangan serabut retikuler halus dan menjadi berlipai-lipat yang dapat juga disebabkan oleh kelanjutan degenerasi hidropik. Inti sel menjadi lebih padat.^{53,55} Nekrosis dapat dibagi menurut lokasi dan luasnya:^{49,52}

a) Nekrosis fokal.

Nekrosis yang terjadi pada kematian sel atau sekelompok sel dalam lobulus, ditandai dengan adanya leukosit dan histiosit serta proliferasi sel Kupffer, bagian sel hepatosit kecil-kecil dan bakteri serta trombus fibrin dapat ditemukan.^{49,52}

b) Nekrosis zonal.

Sebagian besar bahan toksik seperti obat menimbulkan nekrosis zonal dengan distribusi ke sentrolobuler hepar. Nekrosis dapat mengenai seluruh lobulus, nekrosis zonal dapat dibagi dalam:

- Nekrosis sentral : Atrofi sel hepar sentral lobulus yang disebabkan oleh sumbatan. Sumbatan ditandai dengan vena centralis yang melebar, hilangnya atau atrofi sel hepar tanpa tertinggalnya sisa sel dan sinusoid yang melebar terisi eritrosit.
- Nekrosis midzonal : Nekrosis midzonal tanpa kelainan pada daerah sentral dan terjadi di disekitar perlemakan sentral.

- Nekrosis Tepi : Nekrosis tepi atau periportal timbul bersamaan dan disebabkan oleh radang tepi lobulus dan susunan portal.

c) Nekrosis masif dan submasif.

Pada keadaan berat terjadi nekrosis masif/submasif dan terjadi perlemakan pada sel hepar yang masih hidup terutama sentrilobuler dengan kemungkinan disertai pigmen lipofuksin. Nekrosis masif menjadikan hilangnya seluruh hepatosit dalam lobules. Hepatosit dapat tertinggal sebagai bayangan tanpa pulasan inti atau sebagai fragmen kecil-kecil, selanjutnya sel darah dan eksudat yang berlebihan hilang, sehingga lobulus hepar menjadi kecil. Bila sel hepar yang hancur banyak lemak, maka warnanya kuning kelainan ini disebut *acuta yellow atropy*. Bila sel hepar telah lenyap dan warna eritrosit tampak pada hati lisut yang penampangnya menyerupai limpa disebut *red atropy*.^{49,52,53}

d) Nekrosis anoksik

Nekrosis yang terjadi akibat kekurangan oksigen pada nekrosis zonal, masif atau submasif dan biasanya tidak merusak rangka retikulin, sel kupffer atau sel jaringan ikat lainnya.^{49,52,53}

4. Fibrosis

Kerusakan hepar yang terjadi akibat kurangnya kemampuan regenerasi sel hepar yang cukup dalam jangka waktu yang lama maka akan memberikan gambaran fibrosis.^{49,52,53}

2.3 Mekanisme proteksi madu akibat efek negatif MSG pada hepar

Dalam penelitian ini akan dilakukan pengamatan gambaran mikroskopis hepar yang diberi perlakuan pemberian madu pada tikus wistar yang diinduksi MSG. Madu yang digunakan pada penelitian ini adalah madu embun (*forest honey*) karena madu berwarna gelap ini memiliki kadar nutrisi dan antioksidan serta aktivitas antibakteri yang lebih tinggi dari jenis madu yang lain.^{56,57} Madu mengandung banyak nutrisi penting bagi kesehatan tubuh.^{30,58} Berdasarkan penelitian sebelumnya, madu juga telah terbukti memiliki manfaat protektif untuk kesehatan seperti: sebagai antioksidan, gastroprotektif, hepatoprotektif, antihipertensi, antibakteri, antifungal, dan antiinflamasi.^{59,60} Sebagai antioksidan, madu dapat mengurangi dan memperbaiki stres oksidatif pada organ-organ di dalam tubuh.⁵⁹⁻⁶¹ Pada penelitian yang telah dilakukan pada hepar tikus dan mencit, madu terbukti dapat meningkatkan aktivitas antioksidan seperti *Catalase* (CAT), *Superoxide dismutase* (SOD) dan *glutathione peroksidase* (GPx). Selain itu, pemberian madu pada hepar tikus terbukti mampu memperbaiki stress oksidatif dengan mengurangi peroksidasi lipid, bertindak dalam meningkatkan aktivitas antioksidan tubuh, mengurangi adanya hepatosit yang degenerasi dan edem secara signifikan, serta mengurangi apoptosis sel.^{62,63} Berdasarkan penelitian mengenai efek negatif yang dapat diakibatkan oleh MSG yang mampu mengakibatkan stres oksidatif dalam hepar, maka dibutuhkan antioksidan eksogen sekaligus sebagai agen protektif untuk mengoptimalkan kembali fungsi hepar sehingga mencegah adanya kerusakan sel hepar. Mekanisme proteksi madu dalam

menghambat dan mengurangi stres oksidatif pada hepar akibat MSG melalui beberapa jalur sebagai berikut:

1. Madu berinteraksi secara sinergistik dengan antioksidan alami hepar. Madu dapat mengoptimalkan kerja antioksidan hepar dengan adanya peningkatan status total antioksidan hepar. Peran madu dalam meningkatkan aktivitas antioksidan alami ini telah dibuktikan di berbagai penelitian sebelumnya.⁵⁹
2. Madu dapat menghambat proses peroksidasi lipid akibat adanya akumulasi Ca^{2+} intrasel dan peningkatan glutamat serta glutamin yang mengakibatkan adanya proses deaminasi glutamat sehingga meningkatkan α -ketoglutarat dan ion NH_4^+ . Mekanisme penghambatan madu ini dapat mencegah dan mengurangi adanya stres oksidatif akibat MSG.^{28,59}
3. Madu dapat menghambat proses autooksidasi glikosilasi akibat adanya hiperlipidemia dan hiperglikemia oleh MSG yang dapat menimbulkan peningkatan produksi ROS mitokondria.
4. Penghambatan madu terhadap MSG dalam mencegah dan mengurangi stres oksidatif juga memanfaatkan peran madu sebagai *free radical scavenger* dan up-regulasi Nrf2 serta pereduksi inflamasi dengan menghambat NO dan PGE2.^{57,59,64}
5. Aktivitas antioksidan dari komponen madu yang berasal dari senyawa *bioactive* flavonoid dan fenolik. Senyawa *bioactive* flavonoid dan fenolik pada madu sendiri terdiri dari *ellagic acid, gallic acid, syringic acid, benzoic acid, cinnamic acid, ferulic acids, myricetin, chlorogenic acid, caffeic acid, hesperetin, coumaric acid, isorhamnetin, chrysin, quercetin,*

*galangin, luteolin and kaempferol.*⁵⁹⁻⁶¹ Selain itu, komponen madu yang berperan dalam aktivitas antioksidan adalah vitamin C, Vitamin E, mangan dan beta karoten yang mampu berperan dalam memperbaiki stres oksidatif yang ditimbulkan oleh MSG.^{57,59,65,66} Vitamin C atau asam askorbat sendiri berperan dalam memutus reaksi berantai, mendukung adanya regenerasi vitamin E dan menangkal langsung senyawa oksidan seperti ROS dan hidrogen peroksida yang diproduksi oleh MSG akibat proses autooksidasi glikosiklasi dalam cairan ekstraseluler.^{65,35} Vitamin C yang terkandung dalam madu berperan sebagai pendonor elektron untuk oksidan dan menstabilkan radikal bebas dengan membentuk radikal semi dihidroaskorbat (DHA), merupakan senyawa radikal bebas yang lemah. Sedangkan vitamin E dalam madu merupakan senyawa antioksidan lipofilik yang mengurangi proses peroksidasi lipid. Vitamin E juga memberikan donor elektron pada oksidan dan membentuk tokoferol O. Interaksi sinergis antara senyawa anti oksidan dalam hepar dengan antioksidan yang terkandung dalam madu diharapkan mampu melindungi hepar dari adanya stres oksidatif dan mampu membersihkan semua radikal bebas yang diakibatkan oleh MSG sehingga hepar dapat berperan sesuai fungsinya kembali secara optimal.^{65,35,66}