

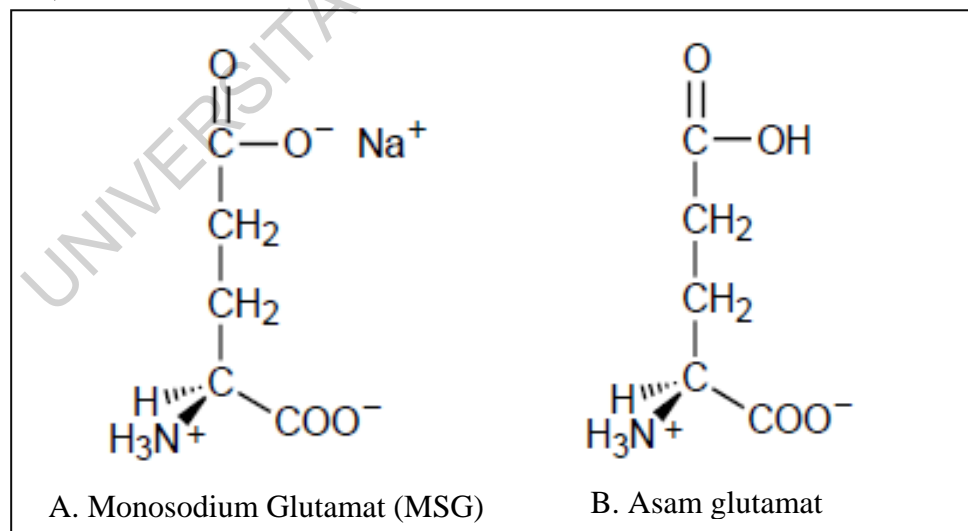
## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 MONOSODIUM GLUTAMAT

##### 2.1.1 Pengertian MSG

Glutamat merupakan bagian dari kerangka utama berbagai jenis molekul protein yang secara alami terdapat dalam makanan dan dalam jaringan tubuh manusia sehingga digolongkan sebagai asam amino non-esensial. Glutamat memiliki dua bentuk yaitu bentuk terikat dan bentuk bebas.<sup>1,2</sup> Bentuk terikat yaitu glutamat yang terikat pada asam amino lain membentuk protein, sedangkan bentuk bebas merupakan glutamat yang tidak berikatan dengan asam amino yang lain. MSG merupakan glutamat bentuk bebas yang bereaksi dengan ion sodium sehingga membentuk MSG.<sup>9</sup> Perbedaan struktur kimia MSG dengan asam glutamat hanya terletak pada salah satu gugus karboksil asam glutamat yang mengandung hidrogen diganti dengan natrium sehingga membentuk MSG.<sup>9</sup> (Gambar 2.1)



Gambar 2.1. Struktur kimia monosodium glutamat dan asam glutamat.<sup>9</sup> Struktur kimia monosodium glutamat (A) yang mengandung ikatan natrium yang menggantikan hidrogen pada asam glutamat (B)

### 2.1.2 Sejarah MSG

Sejak abad ke-8 ganggang laut (*Laminaria japonica*) kering telah lama digunakan sebagai bahan dalam pemasakan sup di Jepang. Penyelidikan kimiawi memperlihatkan bahwa ganggang laut yang digunakan secara luas sebagai bumbu penyedap masakan di Jepang, merupakan substansi yang dapat mengaktifkan rasa *umami*. Pada tahun 1866, asam glutamat berhasil diisolasi dari ganggang laut oleh Ritthausen, kemudian para ilmuwan lain berhasil mengubah asam glutamat tersebut menjadi garam sodium dan lahirlah MSG. Pada tahun 1908 dr. Kikunae Ikeda menemukan sifat-sifat pembangkit citarasa dari MSG. Hasil penelitiannya tersebut mengungkap pula mengapa dan bagaimana ganggang laut yang sejak 1200 tahun lalu telah digunakan orang-orang sebagai penyedap sup atau pembangkit citarasa.<sup>1</sup>

### 2.1.3 Metabolisme MSG

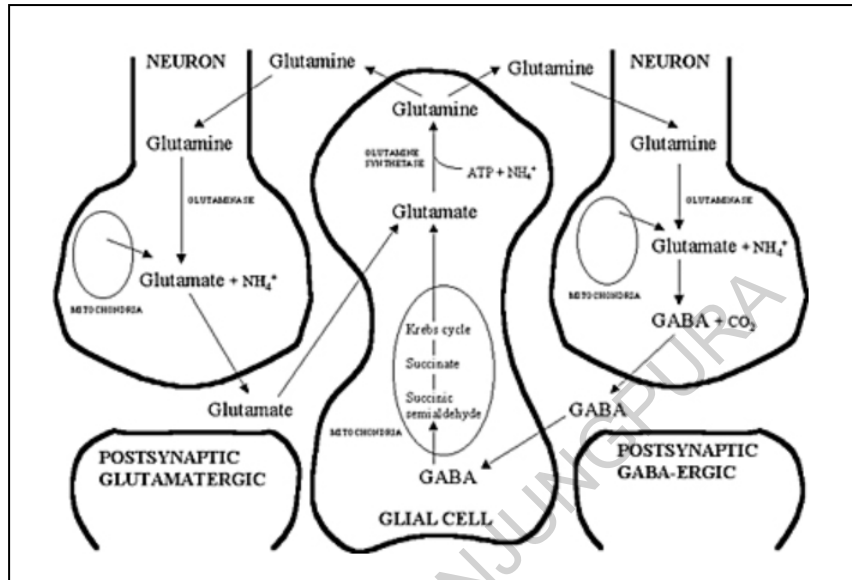
Glutamat berperan dalam metabolisme sel. Protein yang dikonsumsi akan diubah menjadi asam amino yang berguna untuk pengaturan fungsi pada tubuh. Glutamat masuk melalui sistem transpor aktif yang spesifik untuk asam amino di usus. Pada proses absorpsi di usus, sejumlah besar glutamat mengalami transaminasi dengan piruvat yang mengakibatkan peningkatan alanin pada darah porta. Glutamat yang lolos dari metabolisme di usus akan dibawa ke hati melalui vena porta sehingga mengakibatkan peningkatan metabolisme glutamat di hati, menyebabkan pelepasan glukosa, laktat, glutamin dan asam amino lain di sirkulasi darah.<sup>5</sup> Apabila glutamat dikonsumsi dengan jumlah yang melebihi ambang batas, akan menyebabkan peningkatan jumlah glutamat dalam darah. Laju peningkatan glutamat dalam darah tergantung dari bentuk glutamat yaitu dalam bentuk bebas, berikatan dengan protein atau dikonsumsi bersamaan dengan zat makanan lainnya. Karbohidrat dalam makanan dapat menurunkan laju peningkatan glutamat dalam darah. Karbohidrat akan dimetabolisme menghasilkan piruvat yang merupakan

substrat bagi glutamat untuk ditransaminasikan menjadi alanin sehingga menurunkan laju peningkatan glutamat darah.<sup>5</sup>

Secara normal, glutamat terdistribusi di seluruh tubuh. Otak merupakan organ yang memiliki konsentrasi glutamat yang tinggi setelah otot.<sup>5,8</sup> Kadar glutamat di otak jauh lebih tinggi dibandingkan di dalam darah. Pengeluaran glutamat dari otak ke darah dilaporkan tujuh kali lebih banyak dibandingkan pengambilan glutamat ke otak.<sup>5</sup> Otak dilindungi dari perubahan-perubahan yang merugikan dalam darah oleh sawar darah otak. Di kapiler otak, sel-sel disatukan oleh taut erat yang secara total menutup dinding kapiler. Untuk melewati sawar darah otak, glutamat terikat dengan sejumlah molekul transpor di membran dan terjadi perubahan konformasi sehingga glutamat dapat dilepaskan ke dalam sel.<sup>10,11</sup> Sawar darah otak kurang berkembang pada hipotalamus dan beberapa organ khusus seperti eminensia median, daerah postrema, kelenjar pineal, organ subfornikal, dan organ komisural yang melapisi ventrikel ketiga dan keempat otak sehingga glutamat dapat masuk dengan mudah ke dalam otak.<sup>12</sup> Penelitian pada tikus menunjukkan peningkatan dua puluh kali lipat glutamat pada darah mulai menyebabkan peningkatan kadar glutamat di otak yaitu pada pemberian MSG peroral dengan dosis 2mg/gBB.<sup>5</sup>

Glutamat merupakan neurotransmitter utama untuk neuron khususnya di hipokampus. Pembentukan glutamat terjadi di dalam sel neuron. Glutamat dapat dibentuk dari glutamin dan glukosa. Dalam keadaan normal glutamat cenderung dibentuk dari glutamin. Di dalam sel neuron, glutamin diubah menjadi glutamat dengan enzim glutaminase dan sebagian glutamat diubah menjadi *gamma-aminobutyric acid* (GABA) oleh enzim glutamat dekarboksilase. Glutamat dan GABA yang telah dibentuk akan dikeluarkan dari sel neuron masing-masing sebagai neurotransmitter yang bersifat eksitatorik dan inhibitorik kemudian diserap kembali oleh sel glia untuk diubah kembali menjadi glutamin. Astrosit merupakan sel glia yang berperan dalam pembentukan glutamin dari glutamat dan GABA. Di dalam astrosit, GABA akan masuk ke siklus

krebs di mitokondria menghasilkan glutamat yang selanjutnya akan diubah kembali menjadi glutamin oleh enzim glutamin sintetase. Metabolisme glutamat pada sel neuron dapat dilihat pada gambar 2.2.<sup>6,10,13</sup>



Gambar 2.2. Metabolisme glutamat.<sup>13</sup> Astrosit menghasilkan glutamin yang digunakan dalam pembentukan glutamat dan GABA di dalam sel neuron.

#### 2.1.4 Reseptor Glutamat

Glutamat dapat berikatan dengan reseptornya untuk memediasi rangsangan eksitatorik pada sel neuron. Reseptor glutamat dibagi menjadi *ionotropic glutamat receptors* (iGluRs) dan *metabotropic glutamat receptors* (mGluRs). iGluRs diklasifikasikan menjadi *N-methyl-D-aspartate* (NMDA) dan non-NMDA yaitu *α-amino-3-hidroksi-5-metil-isoxazole/AMPA* dan kainat. iGluRs merupakan saluran ion berpintu ligan yang memicu efek eksitatorik sedangkan mGluRs merupakan reseptor yang berhubungan dengan protein G yang memicu efek eksitatorik atau inhibitorik tergantung dari jenis reseptor yang berikatan dengan glutamat.<sup>6,10</sup> Jenis reseptor glutamat beserta subunitnya dapat dilihat pada tabel 2.1.

**Tabel 2.1 Reseptor Glutamat<sup>6</sup>**

Reseptor	Subunit
NMDAR	NR1, NR2A, NR2B, NR2C, NR2D NR3A, NR3B
AMPA	GluR1, GluR2, GluR3, GluR4
KainateR	KA1, KA2, GluR5, GluR6, GluR7
mGluR	mGluR1, mGluR2, mGluR3, mGluR4, mGluR5, mGluR6, mGluR7

Reseptor glutamat banyak ditemui pada hipokampus. Reseptor NMDA dan AMPA banyak terdapat pada daerah *Cornu Ammonis* (CA) 1 sedangkan reseptor kainat lebih banyak dijumpai di CA3 dan *gyrus dentatus* dibandingkan di CA1. Jenis reseptor mGluRs yang banyak dijumpai di daerah CA hipokampus adalah mGluR5 dan tidak dijumpai mGluR6 pada hipokampus.<sup>6</sup>

Glutamat yang dilepaskan dari neuron prasinaps dapat berikatan dengan reseptor NMDA dan non-NMDA di neuron pascasinaps. Pengikatan glutamat pada reseptor AMPA menyebabkan masuknya ion natrium ke dalam sel. Pengikatan ini menyebabkan pembentukan *excitatory postsynaptic potential* (EPSP) mengakibatkan magnesium keluar dari reseptor NMDA sehingga kalsium dapat masuk ke dalam sel. Masuknya kalsium mengaktifkan sistem pembawa pesan kedua yang dapat memicu dua jalur intrasel terpisah yang meningkatkan efektivitas sinaps ini. Di jalur pertama, sistem pembawa pesan kedua meningkatkan ketersediaan reseptor AMPA. Di jalur alternatif, sistem pembawa pesan kedua menyebabkan neuron pascasinaps melepaskan nitrit oksida.<sup>6,10,11,12</sup>

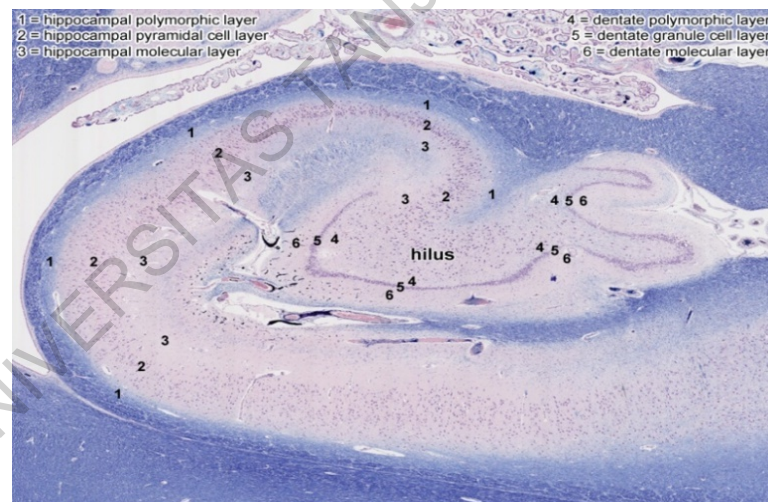
## 2.2 HIPOKAMPUS

Hipokampus merupakan bagian dari sistem limbik yang terletak di dalam lobus temporal media, di bawah permukaan kortikal pada kedua sisi

otak. Hipokampus berperan penting dalam proses pembentukan ingatan jangka panjang yang melibatkan sekelompok neuron berbentuk piramid yang dikenal sebagai sel piramidal.<sup>6</sup> Sel piramidal dapat diamati menggunakan mikroskop cahaya setelah diberikan pewarnaan hematoxylin-eosin (HE).<sup>14,15</sup>

### 2.2.1 Struktur Histologi Hipokampus

Pada potongan koronal, hipokampus terlihat sebagai struktur berbentuk C yang terdiri dari tiga lapisan. Lapisan pertama atau lapisan *polymorphic* mengandung banyak serabut-serabut saraf dan badan sel interneuron yang berukuran kecil. Lapisan kedua atau lapisan sel piramidal yang mengandung sel piramidal. Lapisan ketiga atau lapisan *molecular* mengandung ujung dendrit dari sel piramidal.<sup>16</sup> Pembagian lapisan pada hipokampus dapat dilihat pada gambar 2.3.

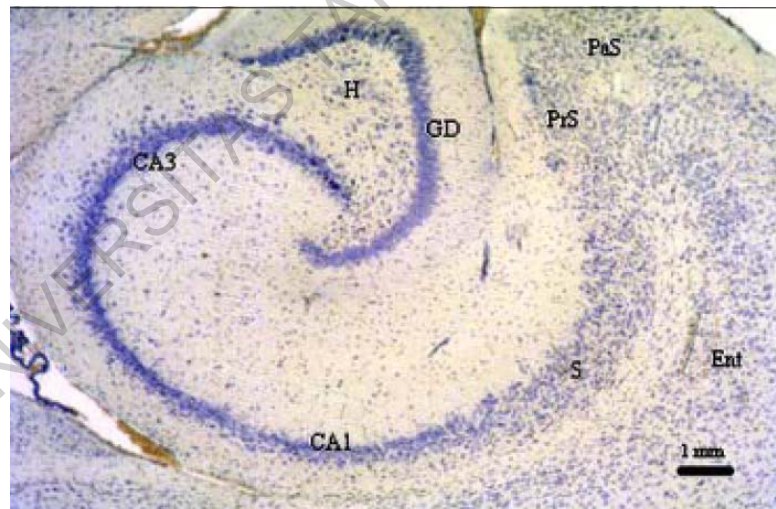


**Gambar 2.3. Lapisan hipokampus<sup>16</sup>. Lapisan hipokampus pada potongan koronal (1) lapisan *polymorphic*, (2) lapisan sel piramidal dan (3) lapisan *molecular***

Hipokampus memiliki tiga subdivisi, yaitu CA1, CA2, dan CA3. CA merupakan daerah melengkung yang terlihat seperti struktur C, mengandung banyak sel piramidal yang tersusun secara berkelompok dan terletak diantara *gyrus dentatus* dan *subiculum*. Daerah CA dilapisi oleh lapisan luar *molecular* dan lapisan dalam *polymorphic*. Bagian proksimal hipokampus ditandai dengan daerah CA yang berbatasan dengan *gyrus*

*dentatus* dan bagian distal ditandai dengan daerah CA yang berbatasan dengan *subiculum*.<sup>17</sup>

Daerah CA1 dapat dikenali setelah diberikan pewarnaan *luxol blue* karena pada pewarnaan ini dapat digunakan untuk mengobservasi myelin dengan mikroskop cahaya. CA1 dapat dibedakan dengan *subiculum* oleh karena terdapat sel piramidal pada daerah CA1. Batas antara CA1 dan CA2 diperlihatkan dengan penurunan jumlah sel piramidal pada CA1. Pada CA2 dan CA3 ukuran sel piramidal cenderung lebih besar dibandingkan CA1. CA2 dan CA3 dapat dibedakan berdasarkan ketebalan lapisan sel piramidal. CA2 memiliki lapisan sel piramidal cenderung sedikit lebih tebal dibandingkan CA3 dan terdiri dari gabungan sel piramidal CA1 dan CA3. CA2 terdiri dari sel piramidal berukuran besar seperti CA3 dan sel piramidal berukuran kecil seperti CA1.<sup>17</sup> Pembagian daerah CA pada hipokampus dapat dilihat pada gambar 2.4.



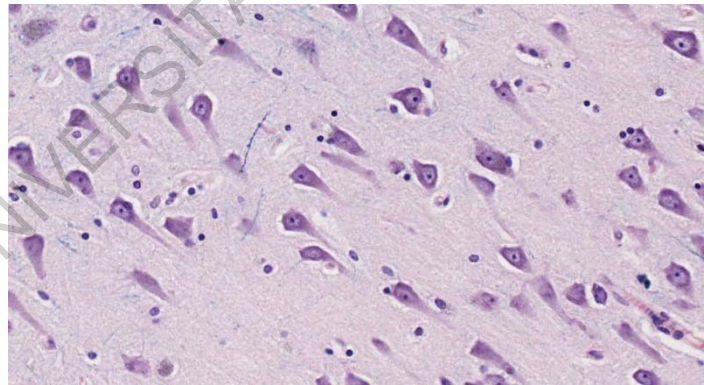
**Gambar 2.4. Pembagian daerah hipokampus<sup>17</sup>. Daerah CA hipokampus yang dibatasi oleh gyrus dentatus (GD) dan subiculum (S).**

Hipokampus mengandung sekelompok neuron yang terdiri dari berbagai sel saraf yaitu astrosit, interneuron dan sel piramidal. Pada lapisan *polymorphic* terdapat interneuron yang berfungsi untuk meneruskan rangsangan pada neuron. Sel lain yang terdapat pada hipokampus adalah astrosit yang dapat membentuk glutamin yang merupakan komponen dasar dalam pembentukan glutamat dan GABA di

dalam sel neuron (gambar 2.2). Sel piramidal merupakan neuron utama pada hipokampus karena sebagian besar hipokampus tersusun atas sel ini.<sup>18</sup>

### 2.2.2 Sel Piramidal

Sel piramidal merupakan tipe neuron multipolar yang dapat ditemukan pada area otak seperti korteks serebral, hipokampus dan amigdala. Struktur badan sel piramidal berbentuk piramid. Selain itu sel piramidal mempunyai akson tunggal, apikal dendrit yang besar dan cabang dendrit. Badan sel mengandung nukleus, nukleolus, berbagai organel, dan sitoplasma.<sup>19</sup> Bagian apikal dendrit tumbuh dari bagian apeks badan sel piramidal yang merupakan suatu dendrit tebal panjang dan memiliki banyak cabang. Cabang dendrit berfungsi menerima impuls eksitatori yang ditujukan kepada badan sel dan kemudian impuls dihantarkan ke neuron lain melalui akson.<sup>20</sup> Pada sediaan histologis, sel piramidal normal ditandai dengan sel berbentuk piramid, berukuran sekitar 20um dengan nukleus dan nukleolus yang jelas (Gambar 2.5).<sup>6</sup>



**Gambar 2.5. Sel piramidal.<sup>16</sup> Sel piramidal hipokampus pada lapisan sel piramidal memiliki bentuk piramidal, nukleus dan nukleolus yang jelas**

### 2.2.3 Eksitotoksisitas Glutamat pada Sel Neuron

Kadar glutamat yang tinggi akan menimbulkan eksitotoksin dan menyebabkan eksitotoksisitas glutamat pada hipokampus. Eksitotoksin merupakan suatu substansi yang bereaksi dengan reseptor spesifik pada otak dan merangsang terjadinya kerusakan sel neuron.<sup>10,18</sup> Kematian



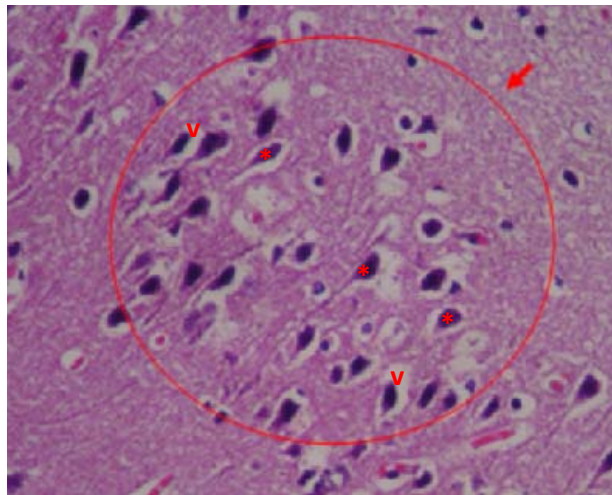
neuron dipicu oleh aktivasi berlebihan reseptor glutamat yang memungkinkan masuknya kalsium secara bermakna ke dalam sel.<sup>12,21</sup> Peningkatan kalsium intrasel disebabkan oleh beberapa faktor. Aktivasi reseptor AMPA menyebabkan masuknya natrium yang memicu depolarisasi sel yang mengakibatkan magnesium keluar dari reseptor NMDA sehingga kalsium masuk ke dalam sel. Peningkatan kadar natrium meningkatkan kalsium intrasel melalui stimulasi saluran natrium-kalsium. Depolarisasi mengaktifkan kanal kalsium pada membran dan menghambat pengambilan glutamat sehingga meningkatkan konsentrasi glutamat ekstrasel. Aktivasi mGluR menyebabkan pelepasan kalsium intrasel dari retikulum endoplasma.<sup>10</sup>

Akumulasi kalsium intrasel dapat merusak mitokondria dan menyebabkan kematian sel. Protein proapoptosis memicu pelepasan sitokrom c dari mitokondria. Sitokrom c dengan protein *apoptotic protease-activating factor-1* (Apaf-1) menyatu dan mengaktifkan procaspase 9. Kompleks ini dinamakan apoptosom yang mengaktifkan caspase 9 dan caspase 3. Pembengkakan yang terjadi pada mitokondria disebabkan oleh peningkatan permeabilitas dari membran mitokondria mengakibatkan protein mitokondria keluar ke sitoplasma. Protein mitokondria ini berikatan dengan *inhibitor apoptosis proteins* (IAP) sehingga protein ini menjadi bentuk yang tidak aktif. Aktivasi caspase 3 dan inhibisi IAP menyebabkan kematian sel.<sup>10</sup> Selain itu, kalsium memicu pembebasan radikal bebas, produksi eukosanoid dan lipid peroksidase.<sup>18</sup>

#### 2.2.4 Degenerasi Sel Piramidal

Penggunaan MSG secara berlebihan dalam jangka waktu yang lama dapat mengakibatkan adanya akumulasi glutamat sehingga menimbulkan efek toksik pada hipokampus. Beberapa penelitian memperlihatkan bahwa kadar glutamat yang tinggi dapat merusak hipokampus.<sup>5,7,18</sup> Akumulasi glutamat pada masa pembentukan embrio dapat mengurangi panjang dendrit dan menekan pertumbuhan akson pada neuron hipokampus.<sup>18</sup> Penelitian lain pada neonatus mencit yang diberikan MSG secara subkutan

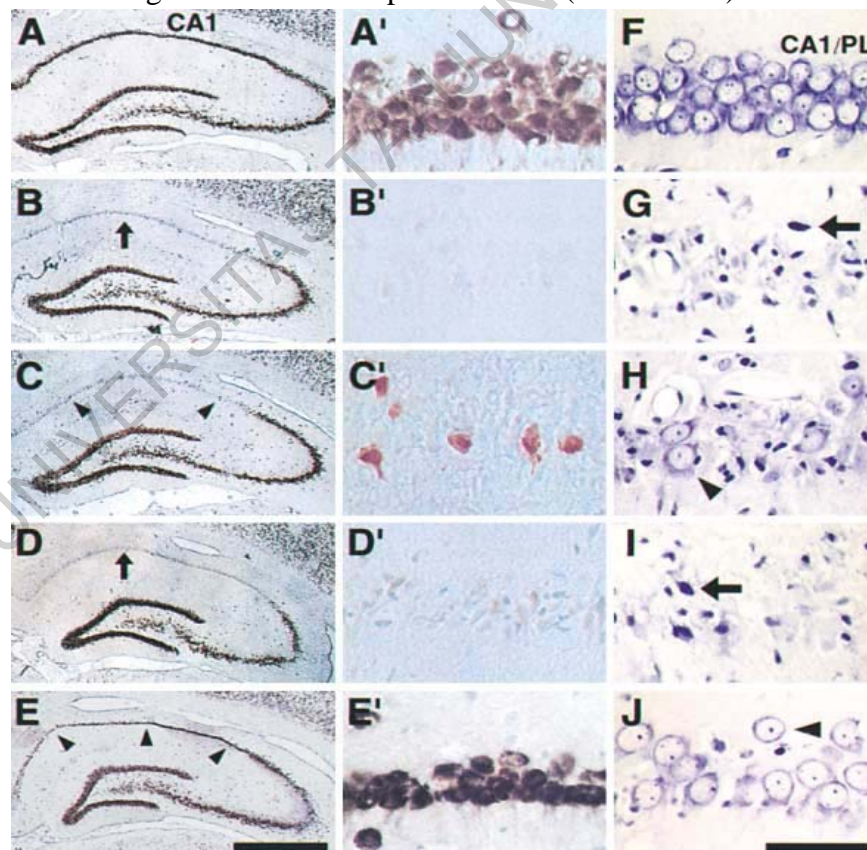
dengan dosis 1g/kg pada hari ke-2 dan ke-4 setelah lahir. Otak diambil pada jam ke-1, ke-3, ke-6, dan ke-24 setelah pemberian MSG dan diperiksa di bawah mikroskop cahaya. Hasil memperlihatkan bahwa terjadi kerusakan neuron hipokampus pada jam ke-3 dan ke-6 setelah pemberian MSG.<sup>5</sup> Penelitian yang sama dilanjutkan dengan mencit dalam masa kehamilan diberikan MSG secara subkutan dengan dosis 5mg/g pada hari ke-17 dan ke-18 masa kehamilan. Hasil menunjukkan terjadi nekrosis seluler pada fetus pada jam ke-3, ke-6 dan ke-24 setelah pemberian MSG.<sup>5</sup> Penelitian lain mengenai efek MSG terhadap kemampuan belajar. Efek teratogenik MSG pada hewan coba dalam masa kehamilan memperlihatkan kemampuan belajar sederhana yang normal pada keturunannya tetapi terjadi penurunan yang signifikan pada kompleks pembelajaran yang diikuti dengan ditemukannya penurunan neurotransmitter yang berat pada otak depan.<sup>18</sup> Selain itu, MSG yang diberikan secara oral dengan dosis 5mg/grBB/hr dan 10mg/grBB/hr selama 2 minggu dan 4 minggu terbukti berpengaruh terhadap rerata jumlah neuron piramidal yang berdegenerasi di daerah CA1 hipokampus tikus.<sup>7</sup> Proses degenerasi sel piramidal ditandai dengan adanya vakuolisasi dan inti neuron yang piknotik, menjadi padat, batasnya tidak teratur dan berwarna gelap (Gambar 2.6).<sup>7,21</sup>



**Gambar 2.6.** Degenerasi sel piramidal. Fotomikrograf patongan pada hipokampus dari tikus yang diinduksi MSG memperlihatkan sel piramidal rusak (panah merah) dengan inti neuron piknotik (\*) dan vakuolisasi (v). H&E x 400.<sup>7</sup>

### 2.2.5 Regenerasi Sel Piramidal

Sel piramidal yang telah rusak dapat mengalami regenerasi seperti yang telah diteliti oleh Nakatomi (2002). Sel piramidal dapat mengalami regenerasi saat otak mengalami iskemik melalui aktivasi sel punca atas respon jaringan yang rusak. Sel punca yang memiliki kemampuan untuk memproduksi sel neuron dan sel glia yang baru terdapat dalam sistem saraf pusat, tepatnya di daerah periventricular. Sel punca mengalami proliferasi atas respon iskemik dan kemudian bermigrasi ke hipokampus untuk mengalami regenerasi menjadi sel piramidal yang baru. Penelitian memperlihatkan sel piramidal hipokampus mulai mengalami regenerasi pada hari ke-28 setelah kerusakan otak iskemik dan terjadi regenerasi yang signifikan dengan induksi faktor pertumbuhan (Gambar 2.7).<sup>8</sup>



Gambar 2.7. Regenerasi sel piramidal hipokampus daerah CA1 setelah iskemik. (A-J). *NeuN* (A-E') dan *cresyl violet* (F-J).<sup>8</sup>

### 2.3 HEWAN COBA

Tikus merupakan hewan coba yang digunakan untuk penelitian karena memiliki struktur anatomi dan fisiologi yang menyerupai manusia. Hewan coba digunakan untuk mempelajari lebih lanjut mengenai perjalanan penyakit dan tata laksananya. Keuntungan menggunakan tikus sebagai hewan coba adalah penanganan yang mudah, biaya rendah dan tikus memiliki kemampuan reproduksi yang tinggi. Selain itu tikus tidak dapat memuntahkan makanan karena susunan anatomi esofagus yang menyatu di perut. Jenis tikus yang biasanya digunakan di laboratorium yaitu Sprague-Dawley, Wistar, dan Long-Evans. Sprague-Dawley dan Wistar merupakan tikus albino. Tikus Wistar mudah ditangani dan mudah ditemukan karena tersebar di seluruh dunia. Sprague-Dawley merupakan tikus jinak dan dapat tumbuh dalam ukuran besar. Long-Evans umumnya memiliki kepribadian agresif. Tikus putih strain Wistar merupakan salah satu jenis tikus yang sering digunakan dalam penelitian. Tikus ini memiliki karakteristik kepala yang lebar, telinga panjang, dan panjang ekor yang tidak melebihi panjang tubuh. Hewan coba yang dipelihara untuk tujuan penelitian, umumnya berada dalam suatu lingkungan yang terawasi. Hewan coba ditempatkan dalam kandang yang dapat memberikan kenyamanan hewan tersebut. Bak makanan berbentuk mangkok disediakan di dalam kandang dan tempat minum berupa botol dengan ukuran tertentu diletakkan terbalik di atas kandang. Penjagaan kesehatan dan kebersihan merupakan tindakan yang sangat penting dalam suatu pemeliharaan hewan coba. Suatu penelitian mengenai efek suatu larutan terhadap organ dapat dilakukan terhadap tikus dengan menggunakan sonde.<sup>22</sup>



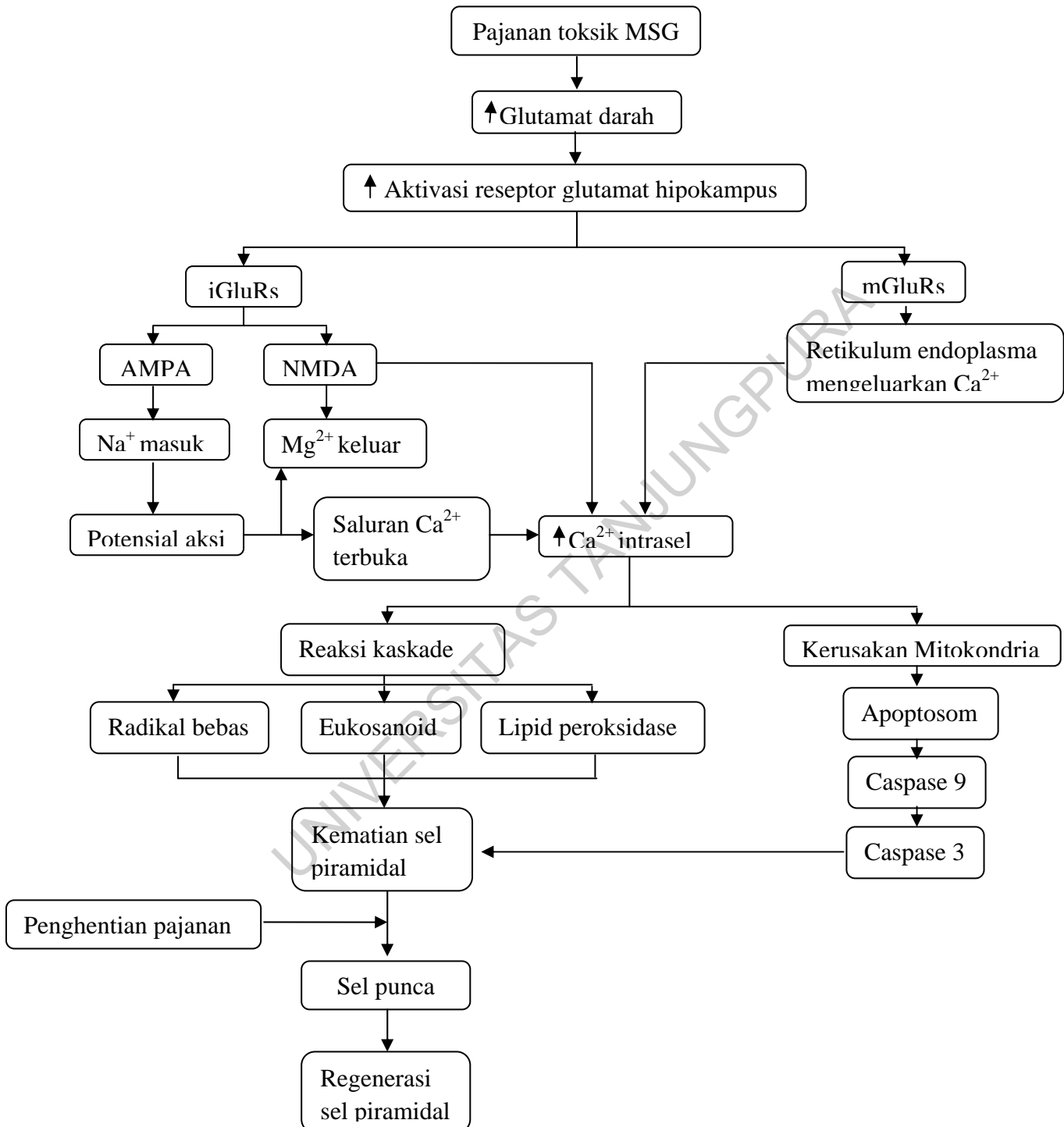
Gambar 2.8. *Rattus norvegicus* strain Wistar<sup>21</sup>

Pemberian dengan rute peroral pada tikus dengan cara tikus dipegang pada kulit leher dan punggung sehingga kepala tidak dapat bergerak dan tetap lurus sejajar punggung. Volume dosis maksimum untuk administrasi peroral adalah sebanyak 2ml/100gBB.<sup>6,14</sup>

Tikus memiliki struktur organ hipokampus yang sama dengan manusia. Secara histologis, potongan koronal regio posterior hipotalamus otak besar pada tikus memperlihatkan daerah CA yang dibatasi oleh *subiculum* dan *gyrus dentatus*.<sup>6,14</sup>

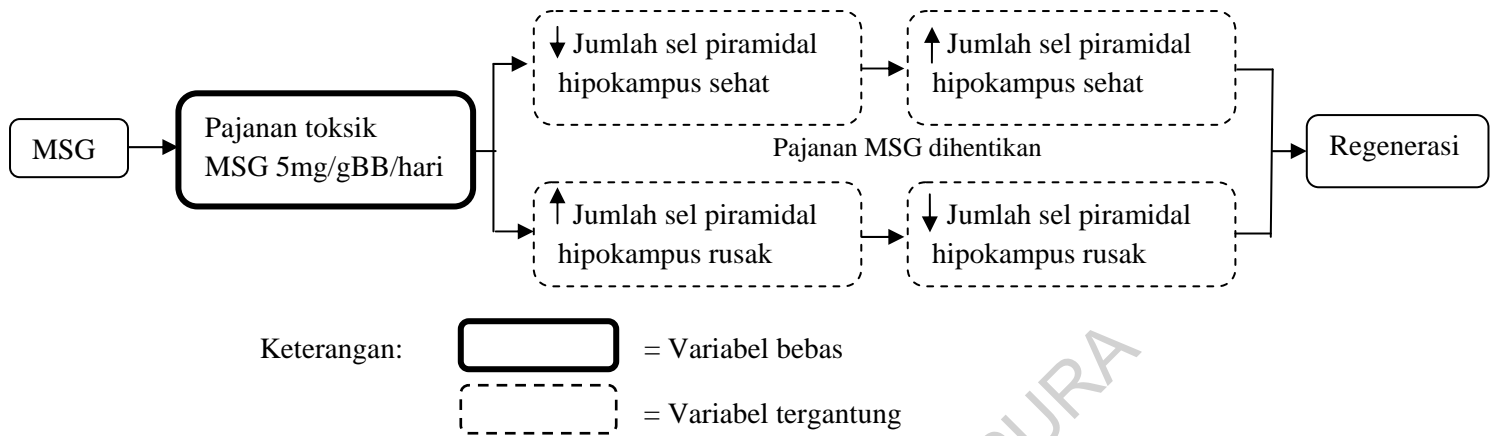
UNIVERSITAS TANJUNGPURA

## 2.4 KERANGKA TEORI



Gambar 2.9. Kerangka teori

## 2.5 KERANGKA KONSEP



Gambar 2.10. Kerangka konsep

## 2.6 HIPOTESIS

Sel piramidal hipokampus yang rusak mampu mengalami regenerasi setelah penghentian pajanan toksik MSG.