

GANGGUAN SPERMATOGENESIS SETELAH PEMBERIAN MONOSODIUM GLUTAMAT PADA MENCIT (*Mus musculus L.*)

THE DISTURBANCE ON SPERMATOGENESIS AFTER ADMINISTRATION OF MONOSODIUM GLUTAMATE ON MICE (*Mus musculus L.*)

**A.A.Sg.A SUKMANINGSIH, I GUSTI AYU MANIK ERMAYANTI,
NGURAH INTAN WIRATMINI, NI WAYAN SUDATRI**

*Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Udayana, Kampus Bukit Jimbaran
Email: asukmaningsih@yahoo.com*

INTISARI

Penelitian mengenai pemberian monosodium glutamat (MSG) pada 32 ekor mencit jantan berusia 12 minggu telah dilakukan untuk mengetahui pengaruh MSG terhadap spermatogenesis pada mencit (*Mus musculus L.*). Mencit dibagi menjadi 4, kelompok sesuai dosis MSG yang digunakan yakni kontrol, 1,5 mg/bb, 3,0 mg/bb dan 4,5 mg/bb. Perlakuan MSG dalam aquades diberikan secara oral setiap hari sekali selama 35 hari. Setelah perlakuan dilakukan pembedahan hewan untuk pembuatan sediaan mikroanatomi testis. Pengamatan dilakukan pada tubulus Seminiferus testis tingkat VII dan VIII yang meliputi jumlah spermatogonia, spermatosit pakiten dan spermatid 15. Hasil penelitian menunjukkan terjadi gangguan spermatogenesis setelah pemberian Monosodium glutamat (MSG). Hal ini dapat terlihat dari hasil analisis data dengan Uji one way Anova dimana terjadi penurunan jumlah spermatosit pakiten secara bermakna ($p < 0,05$). Terjadi pula penurunan jumlah spermatid 15 secara bermakna setelah dianalisis dengan uji Kruskal Wallis dimana ($p < 0,05$). Diduga mekanisme gangguan spermatogenesis bersifat testikuler melalui terbentuknya radikal bebas dan stress oksidatif pada testis.

Kata kunci : MSG, Mus musculus L., Spermatogenesis

ABSTRACT

This study was conducted to investigate the effect of monosodium glutamate (MSG) on spermatogenesis of male experimental mice using 32 twelve-week old mice. They were divided randomly into 4 groups, each group consisted of 8 mice. One group was used as control, three groups were used as treatment, which received 1.5 mg/g body weight/day, 3 mg/g body weight/day and 4.5 mg/g body weight/day of MSG solution in distilled water for 35 days. The result showed that MSG treatment led to disturbance on spermatogenesis by reduction in some of the parameter studied. There was a significant ($p < 0.05$) decrease in the number of pachytene spermatocyte and spermatid 15, whereas the decrease in spermatogonia was insignificant ($p > 0.05$).

Keywords : MSG, Mus musculus L., Spermatogenesis

PENDAHULUAN

Monosodium glutamat (MSG) berupa bubuk kristal berwarna putih sejak lama telah digunakan sebagai bahan tambahan pada berbagai jenis makanan di berbagai negara. Kandungan garam natrium asam glutamat pada MSG berfungsi sebagai penguat dan penyedap rasa bila ditambahkan terutama pada makanan yang mengandung protein. Glutamat adalah salah satu jenis asam amino penyusun protein dan merupakan komponen alami dalam setiap makhluk hidup baik dalam bentuk terikat maupun bebas. Semua makanan yang mengandung protein seperti daging, ikan, susu dan tanaman banyak mengandung glutamat. Glutamat yang masih terikat dengan asam amino lain sebagai protein tidak memiliki rasa tetapi dalam bentuk bebas memiliki rasa gurih. Semakin tinggi kandungan glutamat bebas dalam suatu makanan, semakin kuat rasa gurihnya. Glutamat bebas dalam makanan sehari-hari umumnya rendah, sehingga untuk memperkuat cita rasa perlu adanya tambahan

bumbu-bumbu yang kaya kandungan glutamat bebas. Glutamat bebas tersebut bereaksi dengan ion natrium membentuk garam MSG.

Diketahui komposisi senyawa MSG adalah 78% glutamat, 12% natrium dan 10% air (Winarno, 2004). MSG bila larut dalam air ataupun saliva akan berdisosiasi menjadi garam bebas dan menjadi bentuk anion dari glutamat. Glutamat akan membuka channel Ca^{2+} pada neuron yang terdapat *taste bud* sehingga memungkinkan Ca^{2+} bergerak ke dalam sel dan menimbulkan depolarisasi reseptor dan potensial aksi yang sampai ke otak lalu diterjemahkan sebagai rasa lezat (Siregar, 2009). Pada tahun 1995 MSG telah digolongkan sebagai bahan tambahan makanan yang aman seperti garam, cuka dan *baking powder* tetapi penggunaannya dibatasi sebanyak 120 mg/kg berat badan/hari oleh FDA dan WHO (Ardyanto, 2004). Pada mulanya masyarakat Jepang, Korea, Cina dan Thailand hanya menggunakan MSG sebanyak 30 – 60 mg. Setelah harga MSG menjadi murah, penggunaan MSG menyebar ke seluruh dunia termasuk Indonesia, penggunaan MSG

menjadi tidak wajar dan berlebihan dengan takaran 100 – 300 mg. Hasil survei Yayasan Lembaga Konsumen Indonesia (YLKI) pada tahun 1990an menemukan bahwa para pedagang mie bakso, mie pangsit dan mie rebus di Jakarta menggunakan MSG sebanyak 1840 – 3400 mg/mangkok (Setiawati, 2008).

Prawiroharjono (2000) telah melakukan penelitian di Indonesia mengenai penggunaan MSG pada makanan untuk sarapan pagi, siang dan malam sebanyak 1,5 -3,0 gram per hari menunjukkan tidak terdapat gejala MSG *Complex syndrom* (Ardyanto, 2004) seperti rasa panas di leher, lengan dan dada, sakit kepala, pusing, mual, muntah dan berebar debar. Tetapi penggunaan secara berlebihan dapat menimbulkan gangguan lambung, gangguan tidur dan mual-mual. Bahkan beberapa orang ada yang mengalami reaksi alergi berupa gatal, dan panas. MSG juga dapat memicu hipertensi, asma, kanker diabetes, kelumpuhan serta penurunan kecerdasan. MSG sebanyak 4 mg/g bb pada tikus menyebabkan terjadinya peningkatan kadar MDA (malondialdehid) pada hati, ginjal, dan otak (Farombi dan Onyema, 2006).

Penelitian Vinodini *et al.* (2008) mengenai pemberian MSG 4 gram/ kg berat badan pada tikus jantan menunjukkan penurunan berat testis, jumlah spermatozoa dan peningkatan jumlah spermatozoa rusak di epididimis dibandingkan dengan kontrol. Pemberian MSG 4 mg/g berat badan terhadap sistem reproduksi secara intraperitoneal pada tikus yang baru lahir sampai berusia 10 hari dan diperiksa pada usia prapubertas menunjukkan terjadinya hiperleptinemia, hiperadiposit, peningkatan kadar kortikosteron, penurunan berat testis, serta penurunan kadar FSH, LH, dan tiroid (Nayanatara dan Vinodini, 2008)

Spermatogenesis adalah suatu proses perkembangan sel-sel spermatogenik yang membelah beberapa kali dan akhirnya berdiferensiasi menghasilkan spermatozoa. Sel-sel spermatogenik terdiri atas spermatogonium, spermatisit primer, spermatisit sekunder, dan spermatid yang tersebar dalam empat sampai delapan lapisan yang menempati ruangan antara lamina basalis dan lumen tubulus. Spermatogenesis dibedakan menjadi tiga tahap yaitu tahap spermatisitogenesis atau tahap proliferasi, tahap meiosis dan tahap spermiogenesis.

Waktu yang dibutuhkan untuk menyelesaikan setiap langkah perkembangan sel spermatogenik berbeda, oleh karena itu akan terjadi berbagai bentuk kombinasi sel dari berbagai jenis perkembangan sel – sel germinal di dalam tubulus seminiferus. Kombinasi ini terjadi pada setiap bagian tubulus seminiferus disebut sebagai asosiasi sel dan membentuk stadium epitel seminiferus. Oakberg dan Rugh telah membagi epitel germinal tubulus seminiferus menjadi 12 tingkat yaitu tingkat I – XII (Hess *et al.*, 2008). Spermatogenesis pada mencit memerlukan waktu selama 35,5 hari setelah menempuh 4 kali daur epitel seminiferus. Lama satu daur epitel seminiferus pada mencit adalah 207 ± 6 jam (Johnson and Everitt, 1990). Susunan sel-sel spermatogenik pada epitel tubulus seminiferus pada mencit telah diklasifikasikan oleh Oakberg (Hess *et al.*, 2008)). Spermatogonia terdapat pada seluruh tingkat epitel tubulus seminiferus. Spermatisit primer muncul pada

tingkat VI dan VII. Pada tingkat VII sampai tingkat XII ditemukan dua lapisan spermatisit primer dalam tubulus seminiferus. Lapisan spermatisit yang lebih muda terletak lebih dekat dengan membran basal. Lapisan ini merupakan spermatisit dalam fase istirahat yang ditemukan pada tingkat VII dan awal tingkat VIII. Spermatisit sekunder dalam waktu yang singkat hanya terdapat pada tingkat XII dan mulai memasuki tahap spermatid. Spermatogenesis memerlukan waktu lebih dari satu daur siklus epitel seminiferus. Tingkat 1- 8 dari spermiogenesis tumpang tindih dengan tingkat 13 - 16. Pada tingkat I tubulus seminiferus terdapat spermatid tingkat 13. Tingkat II dan III tubulus seminiferus mengandung spermatozoa tingkat 14. Sedangkan spermatozoa tingkat 15 ditemukan dalam tingkat IV - VI. Spermatozoa tingkat 16 ditemukan pada tingkat VII dan VIII tubulus seminiferus. Pada tingkat VIII spermatozoa matang dikeluarkan ke lumen.

Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian MSG terhadap proses spermatogenesis pada mencit (*Mus musculus L.*).

MATERI DAN METODE

Tiga puluh dua ekor mencit jantan usia 12 minggu dengan berat badan 25 – 30 g dikelompokkan secara acak menjadi 4 kelompok perlakuan MSG yang dilarutkan dalam aquades dengan dosis 0 mg MSG/g bb (KO, sebagai kontrol. hanya diberikan aquades) ; 1,5 mg MSG /g bb (P1) ; 3 mg MSG/g bb (P2) ; 4,5 mg MSG/g bb (P3). Perlakuan diberikan secara oral (*gavage*) sebanyak 0,2 ml/ekor dengan menggunakan spuit injeksi berkanal volume 1 ml setiap hari sekali selama 35 hari. Selama pemeliharaan makanan berupa pellet dan minuman disediakan secara *ad libitum*. Pada hari ke 36, dilakukan pembedahan dengan membunuh mencit secara dislokasi leher. Testis diambil untuk pengamatan spermatogenesis. Sediaan mikroanatomi testis dibuat dengan menggunakan metode paraffin. Larutan fiksatif yang digunakan adalah buffer formalin. Pewarnaan dengan menggunakan Haematoxylin Ehrlich-Eosin.

Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah spermatogonia, spermatisit pakiten dan spermatid 15 pada tubulus seminiferus tingkat VII dan VIII. Hasil pengamatan spermatogenesis dianalisis dengan uji one way Anova untuk data berdistribusi normal dan memiliki varians yang homogen. Bila terdapat perbedaan yang bermakna dilanjutkan dengan uji LSD. Data dengan varians yang tidak homogen dianalisis dengan uji Kruskal Wallis. Bila terdapat perbedaan bermakna dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney U.

HASIL

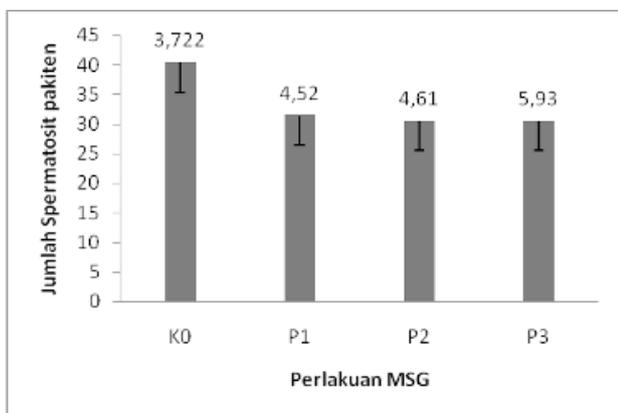
Berdasarkan hasil analisis data didapatkan bahwa terjadi penurunan jumlah spermatisit pakiten dan spermatid 15 secara bermakna dan penurunan jumlah spermatogonia secara tidak bermakna pada tubulus seminiferus yang diberi perlakuan MSG secara oral dibandingkan dengan kontrol.

Pada Tabel 1. dapat dilihat bahwa nilai mean jumlah spermatogonia menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna ($P > 0,05$) dengan F hitung 3,270 dimana $Ko = 38,54$, $P1 = 37,21$, $P2 = 34,25$ dan $P3 = 31,33$. Nilai mean jumlah spermatisit pakiten menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$) dengan F hit. = 8,081 dimana $Ko = 40,37$, $P1 = 31,46$, $P2 = 30,454$ dan $P3 = 30,54$. Setelah dilanjutkan dengan uji LSD dengan Post Hoc Test didapatkan bahwa di antara kelompok perlakuan MSG terjadi perbedaan tidak bermakna terhadap jumlah spermatisit pakiten.

Tabel 1. Hasil analisis perbedaan rerata mean Spermatogonia dan spermatisit pakiten dengan uji one way Anova

Variabel	Perlakuan			
	Ko	P1	P2	P3
Spermatogonia	38,54 ^a ± 5,20	37,21 ^a ± 4,34	37,25 ^a ± 4,78	31,33 ^a ± 5,50
Spermatisit pakiten	40,37 ^a ± 3,72	31,46 ^b ± 4,52	30,54 ^b ± 4,61	30,54 ^b ± 5,93

Huruf sama pada kolom sama menunjukkan perbedaan tidak bermakna. KO (kontrol); P1 (1,5 mg MSG /g bb); P2 (3 mg MSG/g bb); P3 (4.5 mg MSG/g bb)



Gambar 1. Diagram batang jumlah spermatisit pakiten pada testis mencit (*Mus musculus L.*) kelompok kontrol dan perlakuan setelah pemberian MSG selama 35 hari. KO (kontrol); P1 (1,5 mg MSG /g bb); P2 (3 mg MSG/g bb); P3 (4.5 mg MSG/g bb)

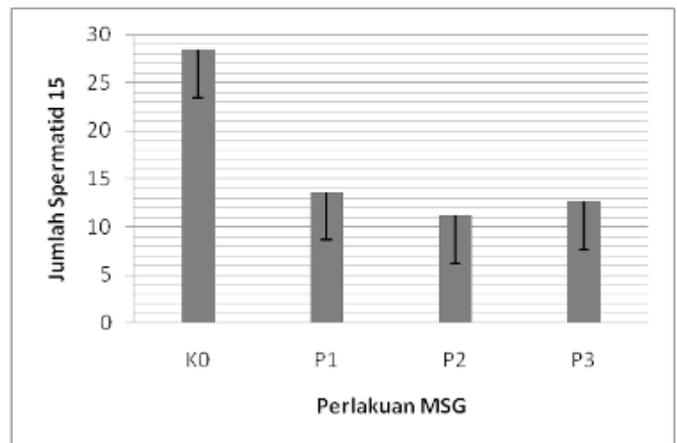
Pada Tabel 2. ranking nilai mean jumlah spermatisit menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$) dengan nilai Chi square = 17,78 dimana $Ko = 28,50$, $P1 = 13,63$, $P2 = 11,25$ dan $P3 = 12,63$. Setelah dilanjutkan dengan Uji Mann Whitney U (tabel 3) terdapat perbedaan tidak bermakna di antara semua kelompok perlakuan MSG yaitu antara P1 dan P2, P1 dan P3 serta P2 dan P3 menunjukkan nilai ($p > 0,05$).

Tabel 2. Analisis Perbedaan Rerata Spermatisit dengan Uji Kruskal Wallis

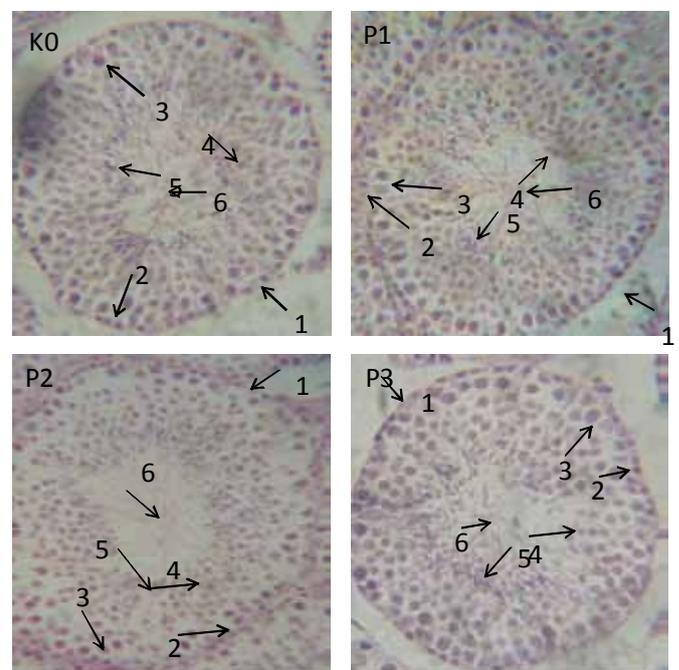
Variabel	Perlakuan	Rangking Mean	Chi Square	P
Spermatisit	KO	28,50	17,78	0,002
	P1	13,63		
	P2	11,25		
	P3	12,63		

Tabel 3. Hasil Analisis Perbedaan Spermatisit di Antara Kelompok Perlakuan dengan Uji Mann Whitney

Variabel	Perlakuan	Nilai Z	Nilai p
Spermatisit	KO vs p1	-3,411	0,001
	KO vs p2	-3,411	0,001
	KO vs P3	-3,411	0,001
	P1 vs P2	-4,2	0,674
	P1 vs P3	-5,2	0,600
	P2 vs P3	-6,3	0,529



Gambar 2. Diagram batang jumlah spermatisit pada testis mencit (*Mus musculus L.*) kelompok kontrol dan perlakuan setelah pemberian MSG selama 35 hari. KO (kontrol); P1 (1,5 mg MSG /g bb); P2 (3 mg MSG/g bb); P3 (4.5 mg MSG/g bb)



Gambar 3. Sayatan melintang tubulus seminiferus testis tingkat VII- VIII pada mencit setelah pemberian MSG. KO = kelompok kontrol. P1 = kelompok perlakuan 1,5 mg/bb. P2 = kelompok perlakuan 3,0 mg/bb. P3. Kelompok perlakuan 4,5 mg/bb. 1. Membran basalis. 2 spermatisit. 3. Spermatisit pakiten. 4. Spermatisit bundar. 5. Spermatisit 15. 6 lumen dan spermatozoa.

PEMBAHASAN

MSG menyebabkan terjadinya gangguan spermatogenesis dimana terjadi penurunan jumlah spermatisit pakiten dan spermatisit. Gangguan spermatogenesis dapat terjadi melalui 3 mekanisme bersifat antifertilitas yaitu ; pretestikuler, testikuler dan post testikuler. Mekanisme pretestikuler menghambat spermatogenesis melalui poros hipotalamus , hipofisis dan testis. LH yang menurun dalam serum akan mereduksi testosteron intratestikuler yang diikuti oleh penurunan

FSH sehingga produksi sperma terhambat. Penelitian mengenai pemberian MSG sebanyak 4 mg/g bb pada tikus menyebabkan penurunan kadar hormon testosteron plasma tetapi tidak menimbulkan perubahan morfologi tubulus seminiferus (Igwebuikwe *et al.*, 2011). Tetapi penelitian yang dilakukan oleh Das dan Ghosh (2010) pemberian MSG sebanyak 2 mg/bb pada tikus baru lahir menunjukkan adanya peningkatan jumlah spermatisit pakiten secara bermakna, sel Leydig lebih besar, dan diameter tubulus seminiferus mengecil dibandingkan kontrol. Pemberian MSG sebanyak 4 mg/bb pada mencit menyebabkan penurunan jumlah sel Leydig tetapi tidak menyebabkan penurunan jumlah spermatozoa (Siregar, 2009)

Gangguan spermatogenesis melalui mekanisme testikuler bersifat sitotoksik. MSG menyebabkan terbentuknya radikal bebas yang berlebih dan menimbulkan stress oksidatif. Penelitian mengenai pemberian MSG 4 mg./g bb selama 6 hari pada tikus usia 10 minggu menunjukkan adanya peningkatan radikal bebas secara bermakna pada kelenjar timus (Pavlovic, 2007). Penelitian oleh Nayanatara dan Vinodini (2008), pemberian MSG 4 g/kg bb pada tikus putih secara intraperitoneal menyebabkan penurunan berat testis, peningkatan kadar peroksidase lipid yang ditandai dengan pembentukan senyawa aldehid terutama MDA dan kerusakan oksidatif serta penurunan asam askorbat testis. Defisiensi asam askorbat telah lama dihubungkan dengan jumlah spermatozoa yang rendah, peningkatan jumlah spermatozoa abnormal, dan penurunan motilitas spermatozoa (Suparni, 2009). Testis sebagai tempat berlangsungnya spermatogenesis bersifat sangat rentan terhadap proses oksidasi oleh radikal bebas. Radikal bebas ini akan menimbulkan gangguan pada spermatogenesis dan membran spermatozoa. Membran sel spermatogenik mengandung sejumlah besar asam lemak tak jenuh rantai ganda. Bila radikal bebas yang terbentuk bertemu dengan asam lemak tak jenuh ganda dalam membran sel, akan terjadi reaksi peroksidasi lipid dari membran sel tersebut yang mengakibatkan peningkatan fluiditas membran, gangguan integritas membran dan inaktivasi ikatan membran dengan enzim dan reseptor. Hal ini akan menyebabkan peningkatan kerusakan sel termasuk spermatozoa (Suhadi, 1996), berkurangnya ATP intraseluler dengan cepat sehingga berakibat kerusakan aksonema, penurunan viabilitas spermatozoa, meningkatnya kerusakan morfologi midpiece serta kehilangan kemampuan kapasitas dan reaksi akrosom spermatozoa (Sikka, 1996).

Berdasarkan hal tersebut, penurunan jumlah spermatisit pakiten dan spermatisit 15 pada penelitian ini diduga MSG menyebabkan terbentuknya radikal bebas dan stress oksidatif serta peroksidasi lipid pada testis. Hal ini menimbulkan kerusakan sel sel spermatogenik pada tubulus Seminiferus. Sel spermatogenik yang rusak akan difagositasi oleh sel sertoli dan menyebabkan penurunan jumlah spermatisit 15 dan spermatisit pakiten. Diketahui juga Spermatisit sangat sensitif terhadap pengaruh luar dan cenderung mengalami kerusakan pada tahap pakiten (Johnson and Everitt, 1990).

SIMPULAN

MSG dapat menyebabkan gangguan spermatogenesis dengan menurunkan jumlah spermatisit pakiten dan spermatisit melalui mekanisme testikuler. Diduga terbentuk radikal bebas dan stress oksidatif pada testis yang mengakibatkan kerusakan sel spermatogenik.

KEPUSTAKAAN

- Ardyanto, T.D. 2004. MSG dan Kesehatan : Sejarah, Efek dan Kontroversinya. Inovasi Vol 1/XVI/ Agustus.
- Cahyadi W. 2008. Analisis dan Aspek Kesehatan. Bahan Tambahan Pangan. Edisi kedua. PT Bumi Aksara, Jakarta.
- Das, R.S., S.K. Ghos. 2010. Long term effects of monosodium glutamate on spermatogenesis following neonatal exposure in albino mice – a histological study. Nepal Med. Coll. J. 12(3): 149-153
- Farombi, E.O., O.O. Onyena. 2006. Monosodium Glutamate-Induced Oxidative Damage and Genotoxicity in The Rat: Modulatory Role of Vitamin C, Vitamin E and Quercetin. Hum. Exp. Toxicol. 25: 251-259
- Hess R.A., L.R. de Franco. 2008. Spermatogenesis and Cycle of The Seminiferous Epithelium *in* Molecular Mechanism in Spermatogenesis. Edited by C.Y. Cheng. Landes Bioscience and Springer, London.
- Igwebuikwe, U.M., I. S. Ochiogu, B. C. Ihedinihu, J.E. Ikokide., I.K. Idika. 2011. The Effect of Oral Administration o MSG on The testicular Morphology and Cauda Epididymal Sperm Reserves of Young and Adult Male Rats. Veterinarski Arhiv 81 (4) 525 – 534.
- Johnson, M., B. Everitt. 1988. Essential Reproduction. 3rd ed. Blackwell Sci. Pub. Oxford London Edinburgh. p 50 – 200.
- Nayanatara, A.K., N.A Vinodini, G. Damodar, B. Ahemed, C.R. Ramaswamy, Shabarianth B.M. Ramesh. 2008. Role of ascorbic acid in monosodium glutamate mediated effect on testicular weight, sperm morphology and sperm count, in rat testis. J. Chinese Clin. Med. 3: 1-5
- Prawirohardjono, W., Dwiprahasto., I Astuti., Indwiani, S. Hadiwandowo. 2000. The administration to Indonesians of monosodium L-glutamate in Indonesian foods: An assessment of Adverse Reactions in a Randomized Double-Blind, Crossover, Placebo Controlled Study. J. Nutrition 130, 1074S-1076S
- Setiawati, F.S.N. 2008. Dampak Penggunaan MSG Terhadap Kesehatan Lingkungan. Orbith 4: 453 – 459
- Sikka, C.S. 1996. Oxidative Stress and Role of Antioxidants in Normal and Abnormal Sperm Function. Department of Urology, Tulane University School of Medicine, New Orleans, Louisiana. USA.
- Siregar, J.H. 2009. Pengaruh Pemberian Vitamin C Terhadap Jumlah Sel Leydig dan Jumlah Sperma Mencit Jantan Dewasa (*Mus musculus L*) Yang Terpapar Monosodium Glutamat (MSG) Tesis Pascasarjana. Universitas Sumatra Utara.
- Suhadi, K. 1996. Spesies Oksigen Reaktif dan Kualitas Spermatozoa. Medika. Vol.10. : 174 - 177
- Suparni. 2009. Pengaruh Pemberian Vitamin C Terhadap Jumlah Sperma dan Morfologi Sperma Mencit Jantan Dewasa Yng dipaparkan Monosodium Glutamat (MSG). Tesis Pascasarjana. Universitas Sumatra Utara.
- Vinodini, N.J., A.J Nayanatara., G Damodara., B.J Ahamed., C Ramaswany., 2008. Effect Of Monosodium Glutamate Induced Oxidative Damage on Rat Testis. J. Chinese Clin. Med. 3. 370 – 373.