

Pemberian Monosodium Glutamat Selama Masa Organogenesis Meningkatkan Perkembangan Embrio Cacat pada Mencit

(*ADMINISTRATION OF MONOSODIUM GLUTAMATE DURING TIME OF
ORGANOGENESIS INCREASE EMBRYONIC DEVELOPMENT DEFECTS IN MICE*)

Lisa Savitri, Elfred Rinaldo Kasimo, Rochmad Krissanjaya

Program Studi Teknologi Laboratorium Medis,
Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Kadiri,
Jln Selomangleng No. 1, Pojok, Mojoroto,
Kediri, Jawa Timur, Indonesia 64115
Email: lisasavitri@unik-kediri.ac.id

ABSTRACT

Monosodium glutamate (MSG) usually takes the form of fine crystals and is white in color. The MSG compound is made through a fermentation process from the basic ingredients of starch (wheat) and molasses sugar (cane molasses) which are named as sodium salt and glutamic acid. The administration of MSG while the mice are pregnant is embryotoxic. This study was aimed to determine the toxic effects of MSG on embryo development during organogenesis. In this research the MSG was given to mice began on the seventh day of pregnancy, namely at the organogenesis stage. The MSG treatment doses given were doses of 528 mg/kg BW, 696 mg/kg BW, and 872 mg/kg BW. The variables observed in this study were the number of live or dead fetuses *in utero* on the 18th day of pregnancy, in addition to fetal morphology, fetal weight and fetal skeletal development. The results of the research showed that continuous administration of MSG from the 7th to 16th day of pregnancy caused the MSG to enter the body of the mother mouse, which did not have the ability to neutralize and detoxify chemical compounds so that it accumulated in the mouse embryo. These substances reach the embryo through the blood vessels and affect the development of the mouse fetus. This research shows that there is an effect of MSG on the development of mouse fetuses (*Mus musculus*) during the organogenesis period, including eye defects (microphthalmia and anophthalmia), mild hydrocephalus, number of metacarpals, number of metatarsals, and unequal length of cervical vertebrae. Abnormalities in the development of mouse fetuses during the organogenesis period increased in line with increasing doses of MSG given and varied between treatments. The higher the dose of MSG given to pregnant mice, the fewer the number of viable fetuses. It can be concluded that MSG affects the development of mouse fetuses during organogenesis.

Keywords: monosodium glutamate; MSG; organogenesis period; embryo development; mice

ABSTRAK

Monosodium glutamate (MSG) biasanya berbentuk kristal halus dan berwarna putih. Senyawa MSG dibuat melalui proses fermentasi dari bahan dasar pati (gandum) dan gula molasses (tetes tebu) yang diberi nama sebagai garam natrium dan asam glutamat. Pemberian MSG selama induk mencit bunting bersifat embriotoksik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek toksik MSG pada perkembangan embrio selama masa organogenesis. Penelitian pemberian MSG terhadap mencit dimulai pada kebuntingan hari ketujuh yaitu pada tahap organogenesis. Perlakuan dosis MSG yang diberikan adalah dosis 528 mg/kg BB, 696 mg/kg BB, dan 872 mg/kg BB. Peubah yang diamati dalam penelitian ini adalah jumlah fetus hidup atau mati dalam rahim pada kebuntingan hari ke-18, di samping morfologi fetus, bobot fetus dan perkembangan tulang rangka fetus. Hasil

penelitian menunjukkan bahwa pemberian MSG yang dilakukan secara terus menerus sejak kebuntingan hari ke-7 hingga 16 membuat MSG tersebut masuk ke dalam tubuh induk mencit yang tidak memiliki kemampuan untuk menetralkan dan mendetoksifikasi senyawa-senyawa kimia sehingga terakumulasi pada embrio mencit. Zat-zat tersebut mencapai embrio melalui pembuluh darah dan memengaruhi perkembangan fetus mencit. Penelitian ini menunjukkan bahwa ada pengaruh MSG terhadap perkembangan fetus mencit (*Mus musculus*) selama periode organogenesis di antaranya yaitu kecacatan pada mata (mikroftalmia dan anoftalmia), hidrosefalus ringan, jumlah metakarpal, jumlah metatarsal, dan ruas *cervikal vertebrae* tidak sama panjang. Abnormalitas perkembangan fetus mencit selama periode organogenesis meningkat sejalan dengan peningkatan dosis MSG yang diberikan dan bervariasi antar perlakuan. Semakin tinggi dosis MSG yang diberikan pada induk mencit bunting, maka semakin sedikit jumlah fetus yang hidup. Dapat disimpulkan bahwa MSG memengaruhi perkembangan fetus mencit selama masa organogenesis.

Kata-kata kunci: monosodium glutamat; MSG; masa organogenesis; perkembangan embrio mencit

PENDAHULUAN

Monosodium glutamate (MSG) merupakan salah satu jenis asam amino non esensial yang merupakan bagian dari kerangka utama dari berbagai jenis molekul protein yang terdapat dalam makanan, baik yang bersumber dari nabati maupun hewani (Winarno, 1994). Total pemakaian MSG di beberapa Negara cukup tinggi seperti di Jepang kira-kira sampai 15.000 ton per tahun, Korea 30.000 ton per tahun, dan di Indonesia 17.000 ton per tahun (Dhinda, 1981).

Penelitian mengenai efek toksik dari MSG ini menunjukkan hasil yang mengejutkan. Dari berbagai macam penelitian yang dilakukan pada neonatal dengan pemberian MSG dosis besar melalui suntikan diketahui bahwa MSG dapat menyebabkan kerusakan sistem saraf dan mata pada bagian retina, menyebabkan kemandulan pada jantan dan betina, akibat penurunan bobot uterus dan testis, serta kerusakan fungsi reproduksi (Takasaki, 1979).

Nizamuddin (2000) telah melakukan penelitian mengenai efek toksik pemberian MSG pada tikus jantan. Kelompok perlakuan diberi MSG dengan dosis 2.400 mg/kg BB, 4.800 mg/kg BB, dan 9.600 mg/kg BB dalam 4 mL akuades, sedangkan kelompok kontrol diberi 4 mL akuades tanpa MSG dan tanpa diberi apa pun. Dari hasil penelitiannya, setelah pemberian dilakukan selama 49 hari ternyata MSG dapat memengaruhi proses spermatogenesis. Dari penjelasan tersebut maka dipandang perlu penelitian, dengan tujuan untuk mengetahui secara lebih jelas efek toksik MSG pada perkembangan embrio selama periode organogenesis.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikroskop stereo, mikroskop cahaya, kaca pembesar, botol selai, plakon, pinset, alat bedah, papan bedah, cawan petri, *syringe*, *feeding tube*, tempat minum mencit, dan kandang.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah empat ekor mencit betina, dan empat ekor mencit jantan. Pakan yang diberikan kepada mencit adalah pelet susu A, sedangkan alas kandang menggunakan sekam padi. Air minum diberikan secara *ad libitum* dan kebutuhan bahan lain untuk penelitian ini antara lain larutan garam dapur (NaCl) 0,9%, kalium hidroksida (KOH) 1%, alkohol 96%, Alizarin Red S 0,25%, gliserol murni, MSG (Sasa®, PT Sasa Inti, Sidoarjo, Indonesia), aquades, dan larutan Bouin.

Persiapan Larutan Penelitian. Tahap persiapan melibatkan beberapa langkah untuk mempersiapkan bahan dan alat yang diperlukan sebelum melakukan eksperimen. Pertama, dibuat beberapa larutan yang digunakan selama percobaan. Larutan MSG dibuat dengan dosis 528 mg/kg BB, 696 mg/kg BB, dan 872 mg/kg BB. Selain itu, disiapkan juga larutan untuk proses penjernihan.

Perlakuan Hewan Coba. Selanjutnya, dipersiapkan juga pengamatan siklus berahi/estrus mencit. Dilakukan proses *lavage* untuk mengetahui tahapan siklus estrus. Mencit betina dikawinkan dengan mencit jantan dengan cara diletakkan pada kandang masing-masing sepasang dan kemudian diamati ada tidaknya sumbat vagina/*vaginal plug*. Jika terdapat sumbat vagina, pada saat diamati, hari tersebut dianggap sebagai hari ke-0 kebuntingan.



Gambar 1. Induk mencit betina perlakuan dengan fetur pada uterus



Gambar 5. Fetus mencit perlakuan dosis MSG



Gambar 2. Fetus pada setelah perlakuan dosis MSG



Gambar 6. Kelainan *cervical vertebra* pada fetus



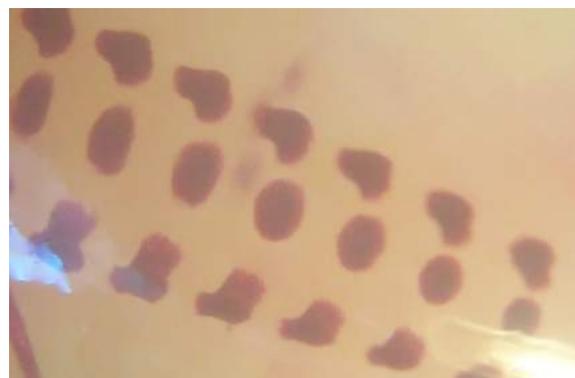
Gambar 3. Induk mencit betina pada perlakuan dosis MSG



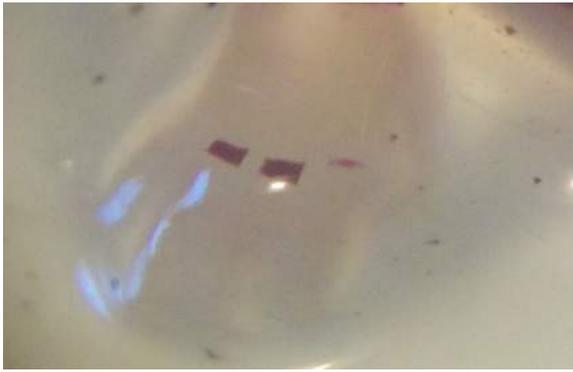
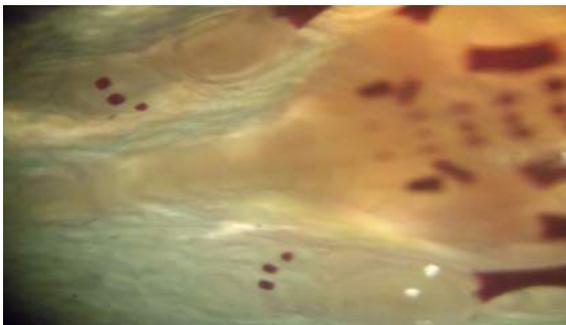
Gambar 7. Kelainan *thoracis vertebra* pada fetus



Gambar 4. Fetus pada perlakuan dosis MSG



Gambar 8. *Lumbar vertebrae*

Gambar 9. *Metacarpal* kananGambar 10. *Metacarpal* kanan dan kiriGambar 11. *Metatarsal* kanan dan kiri

Gambar 12. Irisan ke-1 yang menunjukkan hidrocephali



Gambar 13. Irisan ke-4 yang menunjukkan hidrocephali



Gambar 14. Irisan ke-3 yang menunjukkan adanya kelainan bentuk dan ukuran bola mata

Setelah tahap persiapan, dilanjutkan dengan tahap perlakuan. Pada hari ke-7 hingga ke-16 kebuntingan, mencit betina dicekoki (*gavage*) dengan menggunakan sonde lambung untuk memasukkan larutan MSG dengan volume 0,5 mL per mencit. Pada hari kebuntingan ke-18, mencit dikorbankan nyawanya (*sacrificed*) kemudian dibedah dengan metode dislokasi servikalis dan dihitung jumlah fetus yang hidup dan mati yang ada dalam uterus. Jumlah fetus yang diresorpsi (proses alamiah janin (fetus) yang sedang berkembang dalam rahim induk mencit diresorpsi atau diserap kembali oleh tubuh induk sebelum mencapai tahap kelahiran) juga dihitung. Selanjutnya, morfologi fetus tersebut diamati dan masing-masing fetus tersebut ditimbang.

Selanjutnya, dilakukan pewarnaan terhadap rangka fetus mencit untuk mengamati pengaruh pemberian MSG terhadap perkembangan fetus mencit selama periode organogenesis. Fetus mencit dibilas dengan larutan NaCl 0,9% dan organ viseral fetus dibuang. Kemudian, fetus mencit difiksasi dengan alkohol selama satu minggu dan direndam dalam KOH 1% selama 24 jam. Setelah

itu, fetus dicelupkan dalam larutan Alizarin Red S 0,25% selama 24 jam, dibilas dengan KOH 1% selama 24 jam, dan direndam dalam larutan KOH 1% + gliserol dengan perbandingan yang berbeda selama 24.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada mencit yang mendapat perlakuan dosis MSG kesatu menghasilkan sembilan ekor fetus. Kesembilan ekor fetus (Gambar 1-5) tidak terlihat mengalami kecacatan secara morfologi misalnya adanya ekor bengkok dan pendarahan bawah kulit (hematoma). Kesembilan ekor fetus kemudian dibagi menjadi dua kelompok yaitu empat ekor untuk teknik *razor blade section* dan lima ekor untuk pengamatan rangka. Pada empat ekor fetus yang digunakan untuk pengamatan anatomi kepala melalui teknik *razor blade section* ditemukan bahwa pada keempat fetus tidak mengalami kelainan berupa *cleft palate* yang dapat dilihat pada hasil irisan ke-1. Pada irisan bidang ke-3 ditemukan bahwa pada fetus pertama bola mata kanan memiliki ukuran yang lebih besar dibandingkan mata kiri, fetus kedua bola mata kanan menghilang, pada fetus ketiga justru mata kanan memiliki ukuran yang lebih kecil dari mata kiri, sedangkan pada fetus keempat mata normal. Pada irisan bidang keempat ini dapat dilakukan pengamatan adanya kelainan otak, pada keempat fetus, hanya fetus pertama yang ditemukan kelainan yaitu berupa hidrosefalus ringan (Gambar 12 dan 13).

Pada kelima ekor fetus yang digunakan untuk pengamatan skeleton ditemukan beberapa kelainan di antaranya adalah, pada semua fetus mengalami kecacatan pada *cervical vertebrae* (Gambar 6) yaitu ruas kanan dan kiri memiliki panjang yang berbeda. Namun, semuanya memiliki jumlah ruas yang sama yaitu tujuh ruas tulang. Pada pengamatan jumlah ruas *thoracis vertebrae* (Gambar 7) ditemukan perbedaan jumlah ruas yaitu ada yang memiliki 13 ruas, 10 ruas, dan 12 ruas. Pada pengamatan metacarpal (Gambar 9 dan 10) juga ditemukan kelainan yaitu berupa keterlambatan pembentukan tulang yaitu pada kelima fetus rata-rata hanya mengalami penulangan mencapai tiga ruas saja, begitu juga pada pengamatan metatarsal (Gambar 11). Dari pengamatan skeleton ini *sternebrae* dan *lumbar vertebrae* (Gambar 8) tidak ditemukan kelainan yakni ruas-ruas yang ditemukan sudah sesuai dengan banyak ruas seperti pada literature yakni atlas anatomi/embrio.

Pada mencit yang mendapat perlakuan dosis MSG kedua menghasilkan empat ekor fetus. Keempat ekor fetus tidak terlihat mengalami kecacatan secara morfologi misalnya adanya ekor bengkok, atau pendarahan bawah kulit. Keempat ekor fetus kemudian dibagi menjadi dua kelompok yaitu dua ekor untuk teknik *razor blade section* dan dua ekor untuk pengamatan rangka. Pada dua ekor fetus yang digunakan untuk pengamatan anatomi kepala melalui teknik *razor blade section* ditemukan bahwa pada kedua fetus tidak mengalami kelainan berupa *cleft palate* yang dapat dilihat pada hasil irisan ke-1. Pada irisan bidang ke-3 ditemukan bahwa pada fetus pertama, bola mata kanan memiliki ukuran yang lebih besar dibandingkan mata kiri, sedangkan fetus kedua bola mata kanan mengalami kerusakan (Gambar 14). Pada irisan bidang keempat ini dapat dilakukan pengamatan adanya kelainan otak. Namun, pada kedua fetus tidak ditemukan kelainan otak.

Pada kedua ekor fetus yang digunakan untuk pengamatan skeleton ditemukan beberapa kelainan di antaranya adalah, pada semua fetus mengalami kecacatan pada *cervical vertebrae* yaitu ruas kanan dan kiri memiliki panjang yang berbeda namun semuanya memiliki jumlah ruas yang sama yaitu tujuh ruas. Pada pengamatan jumlah ruas *thoracis vertebrae* ditemukan perbedaan jumlah ruas yaitu ada yang memiliki 13 dan 12 ruas. Pada pengamatan metacarpal juga ditemukan kelainan yaitu berupa keterlambatan pembentukan tulang yaitu pada kedua fetus hanya mengalami penulangan mencapai tiga ruas saja, begitu juga pada pengamatan metatarsal. Dari pengamatan skeleton ini *sternebrae* dan *lumbar vertebrae* tidak ditemukan kelainan yakni ruas-ruas yang ditemukan sudah sesuai dengan banyak ruas seperti pada atlas yang dijadikan acuan.

Pemberian MSG selama masa kebuntingan pada induk mencit bersifat embriotoksik. Seperti yang dikemukakan oleh Schardein (1985), bahwa kematian fetus pada awal masa kebuntingan merupakan ciri utama dari toksisitas perkembangan dan kematian yang terjadi berupa embrio resorpsi yang ditandai oleh adanya bekas implantasi, tetapi bila kematian yang terjadi pada akhir kebuntingan maka fetus diresorpsi seluruhnya sehingga dihasilkan fetus yang mengalami maserasi.

Kehilangan praimplantasi diduga karena pemberian MSG mulai 0 hari hingga 16 hari kehamilan dan berlangsung secara terus-menerus tanpa diselingi selang waktu jeda. Keadaan seperti itu dapat mengganggu tahap perkembangan embrio pada waktu pembelahan, sehingga sel-sel embrional tidak dapat mencapai tahap blastokista normal. Hal ini sejalan dengan yang dikemukakan oleh Parthodiharjo (1980) yang menyatakan bahwa perubahan komposisi substansi sangat memengaruhi pertumbuhan embrio dan apabila substansi yang diperlukan embrio tersebut dimasuki zat atau bahan lain yang sifatnya toksik maka zat atau bahan tersebut dapat memasuki sistem peredaran darah kemudian memengaruhi perkembangan sehingga dapat membuat embrio mati.

Kelainan mikrophthalmia merupakan kelainan yang terjadi pada bagian mata yang menyebabkan salah satu bagian lensa mengecil, baik pada sebelah kanan atau pun sebelah kiri (Taylor, 1968). Pada data perlakuan dosis yang besarnya tiga kali dari yang lain juga mengalami kelainan mikrophthalmia, dalam hal ini diduga karena pemberian MSG dapat mengganggu periode organogenesis mata. Pada saat proses diferensiasi jaringan lensa, yakni sel-sel epitel ekuatorial di bagian posterior yang mengelilingi jaringan lensa tidak mengalami pemanjangan ke arah anterior untuk membentuk serabut lensa primer yang akan menutupi seluruh rongga lensa mata, yang akhirnya ternyata membentuk serabut lensa sekunder sehingga lensa mata mengecil (Gilbert, 1993).

Kelainan anophthalmia merupakan kelainan yang menyebabkan kehilangan salah satu bagian mata baik sebelah kanan ataupun sebelah kiri (Taylor, 1968). Terjadinya kelainan anophthalmia ini diduga disebabkan karena pemberian MSG mengganggu terbentuknya kantung optik primer dari dinding otak depan sehingga plakoda lensa tidak dapat berinvaginasi membentuk kantung lensa dalam proses pembentukan mata, sehingga salah satu mata tidak dapat terbentuk pada saat organogenesis mata. Gilbert (1993) menyatakan bahwa mata terbentuk dari dinding otak depan. Pada bagian anterior membentuk kantung optik primer, kemudian sel-sel mesenkim dari kantung optik primer tersebut menginduksi lapisan ektoderm hingga membentuk plakoda lensa. Plakoda lensa tersebut mengalami invaginasi juga membentuk cawan optik sehingga sel-sel mesenkim dari cawan optik yang berada di bagian posterior membentuk tangkai optik sehingga akhirnya membentuk mata.

Tingkat kejadian dari munculnya hidrosephalus meningkat sejalan dengan peningkatan dosis MSG yang diberikan. Hal ini mungkin disebabkan karena MSG yang diberikan bersamaan pada saat pembentukan otak. Taylor (1968) menyatakan bahwa hidrosephalus ada dua macam yaitu hidrosephalus internal yang ditandai oleh terjadinya pengumpulan cairan otak secara tidak normal di dalam ventrikel otak, dan hidrosephalus eksternal yang ditandai oleh penimbunan cairan otak di permukaan otak dan durameter.

SIMPULAN

Pemberian MSG memengaruhi perkembangan fetus mencit selama periode organogenesis. Pemberian MSG dapat menimbulkan kecacatan pada mata (mikrophthalmia dan anoftalmia), hidrosefalus ringan, jumlah metakarpal, jumlah metatarsal, dan ruas *cervikal vertebrae* tidak sama panjang. Abnormalitas perkembangan fetus mencit selama periode organogenesis meningkat sejalan dengan peningkatan dosis MSG yang diberikan dan bervariasi antar perlakuan.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian dengan pengamatan pengaruh pemberian zat toksik lain selama masa organogenesis terhadap perkembangan embrio mencit, sehingga dapat dibandingkan dengan pemberian MSG.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Laboratorium Perkembangan Hewan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Malang atas kesempatan dan fasilitas penelitian yang diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Eweka AO, Om'iniabohs FAE. 2007. Histological Studies of the Effects of Monosodium Glutamate on the Ovaries of Adult Wistar Rats. *The Internet Journal of Gynecology and Obstetrics* 8: 2.
- Bakke JL, Lawrence N, Bennet J, Robinson S, Bowers CY. 1978. Late Endocrine effect of administering monosodium glutamate

- to neonatal rats. *Neuro Endocrinology* 26(4): 220-228
- Camihort G, Dumm CG, Luna G, Ferese C, Jurado S, Moreno G, Spinedi E, Console G. 2004. Relationship between pituitary and Adipose Tissue after Hypothalamic denervation in the female rats. *Cells Tissues Organ* 179:192-201
- Deddy. 2009. *Analgesik dan Anti-Inflamasi Pada Kehamilan*. (online) <http://deddyfarmasi2005.wordpress.com/2009/12/24pankreatitis-2/> diakses tanggal 2 Mei 2023
- Fatimah D, Mukarromah L, Hijaz MN, Khamdiyah N. 2007. *Monosodium Glutamat (MSG)*. (online) <http://mL.scribd.com/doc/26623327/Monosodium-Glutamat-Msg> diakses tanggal 2 Mei 2023
- Gilbert SG, Burbacher TM, Rice DC. 1993. Effects of *in utero* methylmercury exposure on a spatial delayed alternation task in monkeys. *Toxicology and Applied Pharmacology* 123: 130-136,
- Stegink LD, Filer J Jr, Baker GL. 1973. Monosodium Glutamate Metabolism in the Neonatal Pig: Effect of Load on Plasma, Brain, Muscle and Spinal Fluid Free Amino Acid Levels. *Journal of Nutrition* 103: 1138-1145,
- Lipovac MN, Holland T, Poleksic A; Killian C, Lajtha A. 2003. The possible role of glutamate uptake in metaphit-induced seizures. *Neurochem Res* 28(5): 723-731
- Megawati D, Sutarno, Listyawati S. 2005. Siklus Estrus dan Struktur Histologis Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) setelah Pemberian Monosodium Glutamate (MSG) Secara Oral. *Biosmart* 7(1): 47-52.
- Partodihardjo S. 1980. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Jakarta. Mutiara Jakarta
- Rodriguez-Sierra J, Sridaran R, Blake C. 1980. Monosodium glutamate disruption of behavior and endocrine function in the female rat. *Biology of Reproduction* 3: 228-235
- Sadler TW. 1988. *Embriologi Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Sanabria ERG, Pereira MFS, Dolnikoff MS, Andrade TS, Ferreira AT, Cavalheiro EA, Fernandes MJS. . 2002. Deficit in hippocampal long-term potentiation in monosodium glutamate-treated rats. *Brain Res Bull* 59(1): 47-51.
- Schardein JL. 1985. Chemically induced birth defects. *Drug and Chemical Toxicology* 20824772474
- Simon RA. 2000. Additive-induced urticaria : experience with monosodium glutamate (MSG). *J Nutr*130(4S Suppl): 1063-6S
- Tafelski TJ, Lamperti, A. 1997. The effects of a single injection of monosodium glutamate on the reproductive neuroendokrin axis of the female hamster. *Biology of Reproduction* 17: 404-411
- Taylor. 1986. *Practical Teratology*. London: Academic Press
- Tenzer A, Handayani N, Lestari U, Listyorini D, Judani T, Ghofur A. 2001. *Petunjuk Praktikum Perkembangan Hewan*. Malang : Universitas Negeri Malang.
- Wilson JG. 1973. Principles of Teratology. In *Pathobiology of Development or Ontogeny Revisited*. Perrin EVD, Finegold MJ (Ed). Baltimore. Williams & Wilkins Co.
- Winarno. (1995). *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama,
- Yu L, Zhang Y, Ma R, Bao L, Fang J, Yu T. 2006. Potent protection of Ferulic acid againts excitotoxic effect of maternal intragastric administration of monosodium glutamate at a late stage of pregnancy on developing mouse fetal brain. *Eur Neuropsychopharmacol* 16(3): 170-177