



**POTENSI TEH HIJAU (*Camelia sinensis* L.) DALAM PERBAIKAN
FUNGSI HEPAR, GINJAL, DAN TESTIS PADA MENCIT YANG
DIINDUKSI MONOSODIUM GLUTAMAT (MSG)**

**Oleh :
Reza Anindita
24020110400004**

TESIS

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai derajat master (M.Si) pada
Program Magister Biologi Pasca Sarjana Universitas Diponegoro Semarang

**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS MATEMATIKA
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
FEBRUARI, 2013**

HALAMAN PENGESAHAN I

Judul Tesis : Potensi Teh Hijau (*Camelia sinensis* L.) dalam Perbaikan Fungsi Hepar, Ginjal, dan Testis pada Mencit yang Diinduksi Monosodium Glutamat (MSG)

Nama Mahasiswa : Reza Anindita

NIM : 24020110400004

Program Studi : Magister Biologi

Tanggal Lulus : 15 Februari 2013

Menyetujui :

Pembimbing I

Dr. Tri Retnaningsih S, M.App.Sc
NIP.196404291989032001

Pembimbing II

Dr. Nanik Heru Suprapti, M.Si
NIP.195512291982032001

Mengetahui :

Ketua Jurusan Biologi

Dr. Munifatul Izzati, M.Sc
NIP.195810141986032001

Ketua Program Studi Magister Biologi

Dr. Tri Retnaningsih S, M.App.Sc
NIP.196404291989032001

HALAMAN PENGESAHAN II

Potensi Teh Hijau (*Camelia sinensis* L.) dalam Perbaikan Fungsi Hepar Ginjal, dan Testis pada Mencit yang Diinduksi Monosodium Glutamat (MSG)

Disusun oleh :

Nama : Reza Anindita
NIM : 24020110400004

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 15 february 2013
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui

Ketua

Dr.Tri Retnaningsih S, M.App.Sc

Tanda tangan



Anggota

1. Dr. Nanik Heru Suprpti, M.Si



2. Dr. Munifatul Izzati, M.Sc



3. Dr. Enny Yusuf WY, MP



HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

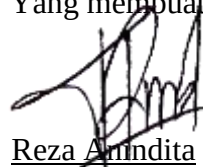
Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama Mahasiswa : Reza Anindita
NIM : 24020110400004
Program Studi : Magister Biologi
Judul Tesis : Potensi Teh Hijau (*Camelia sinensis* L.) Dalam
Perbaikan Fungsi Hepar, Ginjal, dan Testis pada
Mencit yang diinduksi Monosodium Glutamat (MSG)

Menyatakan bahwa :

Tesis yang ditulis asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik (Magister, baik di Universitas Diponegoro maupun perguruan tinggi lainnya).

Semarang, Februari 2013
Yang membuat pernyataan



Reza Anindita
NIM 24020110400004

ABSTRAK

Reza Anindita. 24020110400004. Potensi Teh Hijau (*Camelia sinensis* L.) dalam Perbaikan Fungsi Hepar, Ginjal, dan Testis pada Mencit yang diinduksi Monosodium Glutamat (MSG). Di bawah bimbingan Tri Retnaningsih Soeprbowati dan Nanik Heru Suprpti.

Monosodium glutamat (MSG) merupakan salah satu bahan aditif sintetis yang banyak digunakan oleh manusia sebagai penyedap rasa pada makanan. Penggunaan MSG dalam jumlah yang optimal dapat meningkatkan transmisi impuls syaraf untuk mendukung fungsi koordinasi dan regulasi, namun penggunaan dalam jumlah berlebihan dapat menginduksi terjadinya stres oksidatif sehingga memicu kerusakan dan penurunan fungsi organ tubuh. Teh hijau sebagai antioksidan alami berpotensi menghambat terjadinya stres oksidatif akibat induksi MSG secara berlebihan. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis potensi teh hijau (*Camelia sinensis* L.) dalam memperbaiki fungsi hepar, ginjal, dan testis pada mencit yang diinduksi MSG secara berlebihan dan mengkaji kondisi histologis hepar, ginjal, dan testis yang diberi seduhan daun teh hijau pada mencit yang mengalami stres oksidatif akibat induksi MSG secara berlebihan. Penelitian dilakukan selama 30 hari dengan hewan uji mencit jantan strain Balb/c berjumlah 28 ekor. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial. Faktor pertama, pemberian MSG dengan dua level perlakuan. Faktor kedua, pemberian teh hijau dengan dua level perlakuan. Tiap perlakuan diulang sebanyak 7x, terdiri dari P0 sebagai kontrol yang diberi akuades 0,5 ml/ekor/hr, P1 yang diberi teh hijau 0,015 gr/ekor/hari, P2 yang diberi MSG 0,84 gr/ekor/hr, P3 yang diberi MSG 0,84 gr/ekor/hr dan teh hijau 0,015 gr/ekor/hr. Hasil penelitian menunjukkan bahwa induksi MSG dosis 0,84 gr/ekor/hr memberi dampak pada penurunan bobot hepar, ginjal, testis, diameter atau tebal tubulus seminiferus, motilitas atau jumlah spermatozoa, peningkatan diameter hepatosit, glomerulus, tubulus proksimalis, kadar SGPT dan SGOT secara nyata. Adapun, pemberian teh hijau dosis 0,015 gr/ekor/hr belum berpengaruh secara nyata terhadap peningkatan bobot hepar, ginjal, testis, tebal atau diameter tubulus seminiferus, motilitas atau jumlah spermatozoa, penurunan diameter glomerulus, tubulus proksimalis, kadar SGPT atau SGOT pada mencit, baik yang diinduksi MSG maupun tanpa MSG. Hasil penelitian ini juga menunjukkan adanya interaksi antara MSG dan teh hijau terhadap diameter hepatosit, sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian teh hijau dosis 0,015 gr/ekor/hr mampu memperbaiki kerusakan hepatosit yang disebabkan oleh induksi MSG dosis 0,084 gr/ekor/hr.

Kata kunci : MSG, Teh hijau, hepar, ginjal, dan testis

ABSTRACT

Reza Anindita. 24020110400004. The Potential Green Tea (*Camelia sinensis* L.) in Improvement Liver Function, kidney, and testis in mice induced Monosodium Glutamate (MSG). Under the guidance of Tri Retnaningsih Soeprbowati and Nanik Heru Suprapti.

Monosodium glutamate (MSG) is one of the synthetic additives that are widely used by humans as a flavor enhancer in foods. The use of MSG in optimal amounts can increase the transmission of nerve impulses to support the coordination and regulatory functions, but the use of excessive amounts can induce oxidative stress that triggers damage and decreased body organ function. Green tea is a natural antioxidant potential to inhibit the induction of oxidative stress caused by excessive MSG. This study aims to analyze the potential of green tea (*Camelia sinensis* L.) in improving liver function, kidney, and testis in mice induced by excessive MSG and assess the condition of histologic liver, kidney, and testis were given green tea leaves steeping in mice that had induction of oxidative stress caused by excessive MSG. The study was conducted for 30 days with test animals male mice strain Balb/c numbered 28 individuals. This study used a completely randomized design (CRD) factorial. The first factor, with two levels giving MSG treatment. The second factor, administration green tea with two levels of treatment. Each treatment was repeated 7x, consist of P0 as controls who were given distilled water 0.5 ml/day, P1 were given green tea 0.015 g/day, P2 given MSG 0.84 g/day, P3 was given MSG 0.84 g/day and 0.015 g of green tea g/day. The results showed that the induction dose of MSG 0.84 g /day have an impact on reduction in weight liver, kidney, testis, seminiferous tubule diameter or thickness, the number or motility of spermatozoa, increase diameter hepatocytes, glomeruli, proximal tubules, levels SGPT and SGOT significantly different. Meanwhile, the administration of green tea dose 0.015 g/day have not significant different on the increased weight of the liver, kidney, testis, thickness or diameter of the seminiferous tubules, the number or motility of spermatozoa, decreased diameter of glomeruli, proximal tubules, ALT or AST levels in mice, induced either MSG or without MSG. The results also showed an interaction between MSG and green tea against hepatocyte diameter, so it can be concluded that the administration of green tea dose 0.015 g/day were able to repair the damage caused by the induction of hepatocyte MSG dose 0.084 g/day.

Keywords: Green tea, MSG, testis, liver, and kidneys

DAFTAR SINGKATAN

Nama Singkatan	Singkatan
MSG	Monosodium Glutamat
MDA	Malonaldialdehida
BUN	Blood Urea Nitrogen
SOD	Superoksida Dismutase
FAO	Food Addative assosiation
WHO	World Health Organization
ADI	Acceptable Daily Intake
FDA	Food and Drug Administration
FASEB	The Federation of American Societies for Experimental Biology
NMDA	N-metil-D-Aspartat
ROS	Reactive Oxygen Species
DNA	Deoxyribonukleatida
ROO	Radikal Peroksida
ROOH	Radikal Hidroperoksida
GSH	Glutation
ATP	Adenosin Triphospat
pH	Potensial Hidrogen
SGPT	Serum Glutamik Piruvat Transaminase
SGOT	Serum Glutamik Oksaloasetat Transaminase
DPPH	Dipenil Pikril Hidrazil
ABP	Androgen Binding Protein

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	iii
ABSTRAK.....	iv
ABSTRACT.....	v
DAFTAR SINGKATAN.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
 I. PENDAHULUAN.....	 1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	6
1.3. Tujuan Penelitian	7
1.4. Manfaat Penelitian	7
 II. TINJAUAN PUSTAKA.....	 8
2.1. Monosodium Glutamat (MSG).....	8
2.2. Radikal Bebas dan Stres Oksidatif	11
2.3. Respons Histopatologi Hepar, Ginjal, dan Testis pada Kondisi Stres Oksidatif yang Diinduksi oleh Monosodium Glutamat	13
a. Respon Histopatologi Hepar pada Kondisi Stres Oksidatif yang Diinduksi oleh MSG	14
b. Respon Histopatologi Ginjal pada Kondisi Stres Oksidatif yang Diinduksi oleh MSG	16
c. Respons Histopatologi Testis pada Kondisi Stres Oksidatif yang diinduksi oleh MSG	18
2.4. Teh Hijau (<i>Camelia sinensis</i>)	20
2.5. Antioksidan Flavonoid	23
2.6. Mekanisme <i>Scavenging</i> Flavonoid terhadap Radikal Bebas.....	26
2.7. Kerangka Pemikiran	28
2.8. Hipotesis	29
 III. METODE PENELITIAN	 30
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	30
3.2. Rancangan Penelitian.....	30
3.3. Bahan dan Alat Penelitian.....	31
3.4. Aklimasi Hewan Uji	31
3.5. Penentuan dosis dan pemberian MSG serta seduhan daun teh hijau.....	31
3.6. Preparasi dan penentuan kadar Serum glutamik piravat	

transaminase (SGPT) dan Serum Glutamik oksaloasetat Transaminase SGOT	32
3.7. Isolasi epididimis	33
a. Penentuan persentase motilitas spermatozoa.....	33
b. Penghitungan jumlah spermatozoa.....	34
3.8. Preparasi pembuatan sediaan histologi pada testis, hepar dan Ginjal.....	34
3.9. Prosedur pengukuran diameter hepatosit, glomerulus atau tubulus proksimalis ginjal, dan diameter atau tebal tubulus seminiferus testis	35
3.10. Analisis Data	36
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	37
4.1. Hepar	37
4.1.1. Bobot Hepar	37
4.1.2. Kadar SGPT dan SGOT	39
4.1.3. Diameter hepatosit	42
4.2. Ginjal.....	49
4.2.1. Bobot ginjal.....	49
4.2.1. Diameter glomerulus dan tubulus proksimalis	51
4.3. Testis	57
4.3.1. Bobot testis.....	58
4.3.2. Motilias dan Jumlah Spermatozoa	60
4.3.2. Diameter dan tebal tubulus seminiferus.....	64
V. SIMPULAN DAN SARAN	71
5.1. Simpulan	71
5.2. Saran	71
DAFTAR PUSTAKA.....	73
LAMPIRAN.....	81

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Struktur molekul MSG.....	9
2.2. Mekanisme asam glutamat dalam mempengaruhi kematian sel	11
2.3. Degenerasi hepatosit pada hepar yang diinduksi oleh MSG	15
2.4. Mekanisme degenerasi atau pembengkakan pada sel ginjal yang disebabkan oleh MSG.....	18
2.5. Mekanisme penurunan fungsi testis yang disebabkan oleh MSG.....	20
2.6. Struktur kimia senyawa katekin pada teh hijau	21
2.7. Struktur molekul flavonoid	25
2.8. Struktur kimia kelompok flavonoid	26
2.9. Reaksi <i>Scavenging</i> radikal bebas oleh flavonoid.....	27
2.10. Mekanisme <i>scavenging</i> DPPH oleh flavonoid	27
2.11. Kerangka pemikiran penelitian	28
4.1. Hasil rata-rata bobot hepar antar kelompok perlakuan pada mencit jantan	38
4.2. Hasil rata-rata kadar SGPT antar kelompok perlakuan pada mencit jantan	39
4.3. Hasil rata-rata kadar SGOT antar kelompok perlakuan pada mencit jantan	40
4.4. Hasil rata-rata diameter hepatosit antar kelompok perlakuan pada mencit jantan	43
4.5. Irisan melintang histologis hepar pada mencit yang diberi aquades sebagai kontrol menunjukkan distribusi hepatosit normal.....	47
4.6. Irisan melintang histologis hepar setelah pemberian seduhan daun teh hijau pada mencit yang tidak diinduksi MSG menunjukkan distribusi hepatosit normal	47
4.7. Irisan melintang histologis hepar pada mencit yang diinduksi MSG tanpa diberi seduhan daun teh hijau menunjukkan degenerasi hepatosit pada lokasi sekitar vena sentralis	48
4.8. Irisan melintang histologis hepar yang diberi seduhan daun teh hijau pada mencit yang diinduksi MSG menunjukkan adanya regenerasi hepatosit normal di sekitar vena sentralis	48
4.9. Hasil rata-rata bobot ginjal antar kelompok perlakuan pada mencit jantan	50
4.10. Hasil rata-rata diameter glomerulus antar kelompok perlakuan pada mencit jantan	52
4.11. Hasil rata-rata diameter tubulus proksimalis antar kelompok perlakuan pada mencit jantan.....	52
4.12. Irisan melintang histologis ginjal pada mencit yang diberi aquades sebagai kontrol menunjukkan glomerulus dan tubulus proksimalis normal	55

4.13. Irisan melintang histologis ginjal yang diberi teh hijau pada mencit tanpa induksi MSG menunjukkan glomerulus dan tubulus proksimalis normal	56
4.14. Irisan melintang histologis ginjal pada mencit yang diinduksi MSG tanpa diberi seduhan daun teh hijau menunjukkan degenerasi glomerulus dan tubulus proksimalis	56
4.15. Irisan melintang histologis ginjal setelah pemberian seduhan daun teh hijau pada mencit yang diinduksi MSG menunjukkan distribusi glomerulus dan tubulus proksimalis normal	57
4.16. Hasil rata-rata bobot testis antar kelompok perlakuan pada mencit jantan	58
4.17. Hasil rata-rata motilitas spermatozoa antar kelompok perlakuan pada mencit jantan	61
4.18. Hasil rata-rata jumlah spermatozoa antar kelompok perlakuan pada mencit jantan	61
4.19. Hasil rata-rata diameter tubulus seminiferus antar kelompok perlakuan.....	65
4.20. Hasil rata-rata tebal tubulus seminiferus antar kelompok perlakuan..	65
4.21. Irisan melintang histologis testis pada mencit yang diberi akuades menunjukkan tubulus seminiferus normal	68
4.22. Irisan melintang histologis testis setelah diberi teh hijau pada mencit yang tidak diinduksi MSG menunjukkan tubulus seminiferus berisi populasi spermatogonia, spermatosit, dan spermatozoa yang memenuhi lumen.....	69
4.23. Irisan melintang histologis testis pada mencit yang diinduksi MSG tanpa diberi seduhan daun teh hijau menunjukkan tubulus seminiferus berisi populasi spermatogonia dan spermatozoa yang berkurang dan tidak memenuhi lumen	69
4.24. Irisan melintang histologis testis pada mencit yang diberi seduhan daun teh hijau setelah diinduksi MSG	70

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
2.1.	Perbandingan komposisi kimia antara teh hijau dan teh hitam.....	21
2.2.	Sumber makanan yang mengandung flavonoid.....	24

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Konversi Dosis Manusia Dan Hewan.....	81
2. Volume Maksimal bahan Uji Pada Pemberian Per Oral	82
3. Foto Hasil Kegiatan Penelitian	83
4. Prosedur kalibrasi skala mikrometer okuler	88
5. Prosedur Analisis kadar SGPT dan SGOT	89
6. Hasil pemeriksaan SGPT dan SGOT.....	91
7. Hasil analisis data uji deskriptif dan anova dua faktor pada bobot hepar	92
8. Hasil analisis data uji deskriptif dan anova dua faktor pada kadar SGPT	92
9. Hasil analisis data uji deskriptif dan anova dua faktor pada kadar SGOT	93
10. Hasil analisis data uji deskriptif dan anova dua faktor pada diameter hepatosit	94
11. Hasil analisis data uji deskriptif dan anova dua faktor pada bobot ginjal.....	94
12. Hasil analisis data uji deskriptif dan anova dua faktor pada diameter glomerulus.....	95
13. Hasil analisis data uji deskriptif dan anova dua faktor pada diameter tubulus proksimalis	96
14. Hasil analisis data uji deskriptif dan anova dua faktor pada bobot testis	96
15. Hasil analisis data uji deskriptif dan anova dua faktor pada motilitas spermatozoa.....	97
16. Hasil analisis data uji deskriptif dan anova dua faktor pada jumlah spermatozoa	98
17. Hasil analisis data uji deskriptif dan anova dua faktor pada diameter tubulus seminiferus	98
18. Hasil analisis data uji deskriptif dan anova dua faktor pada tebal tubulus seminiferus.....	99
19. Profil morfologi spermatozoa mencit (<i>Mus musculus</i> L) jantan strain Balb/c	100
20. Surat Keterangan telah melakukan penelitian di Universitas Negeri Semarang	101
21. Data Motilitas Spermatozoa	102
22. Data Jumlah Spermatozoa	103
23. Data Bobot Testis, Hepar, dan Ginjal	104
24. Data Diameter hepatosit, Glomerulus, dan Tubulus Proksimalis.....	105
25. Data Diameter dan Tebal Tubulus Seminiferus.....	106

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang

Monosodium glutamat (MSG) merupakan salah satu bahan aditif sintetis yang banyak digunakan oleh manusia sebagai penyedap rasa pada makanan. Penggunaan MSG terus mengalami peningkatan dari tahun ke tahun (Elpiana, 2011). Penggunaan MSG di beberapa negara maju dan berkembang berkisar 0,3-1,0 gr/hr. Data lain menunjukkan bahwa penggunaan MSG di Amerika Serikat mencapai 0,35 gr/hr, India 0,4 gr/hr, Jepang 1,6 gr/hr, Korea 2,3 gr/hr, Taiwan 3 gr/hr, dan Indonesia 0,6 gr/hr (Geha *et al.* 2000).

Adapun asosiasi bahan aditif telah memasukkan MSG sebagai bahan tambahan makanan dengan jumlah konsumsi harian sebanyak 120 mg/bb/hr. Nilai ini menjadi acuan dalam menentukan batas aman konsumsi pada manusia, yaitu apabila bobot tubuh manusia sebesar 50 kg maka batas aman konsumsi MSG sebesar $120 \text{ mg} \times 50 = 6000 \text{ mg}$ atau 6 gr/hr (Sabri *et al.* 2006).

Penggunaan MSG dalam jumlah optimal dapat bermanfaat meningkatkan transmisi impuls syaraf sehingga mendukung fungsi koordinasi dan regulasi, namun penggunaan dalam jumlah berlebihan dapat berdampak pada efek sitotoksik dan mengganggu fungsi koordinasi serta regulasi sistem syaraf. Penggunaan MSG dalam jumlah berlebihan selain mempunyai efek sitotoksik dan mengganggu fungsi sistem syaraf juga dapat

menginduksi terjadinya stres oksidatif di dalam tubuh (Noor dan Mourad, 2010).

Stres oksidatif merupakan salah satu faktor penting penyebab terjadinya penurunan derajat kesehatan pada manusia. Stres oksidatif dapat disebabkan oleh berbagai macam faktor, antara lain aktivitas berlebihan, infeksi suatu penyakit, toksisitas suatu obat, bahan polutan di udara, bahan pangan yang tercemar oleh toksin, dan bahan aditif yang terdapat pada makanan (Geha *et al.* 2000).

Stres oksidatif adalah gangguan keseimbangan antara kapasitas antioksidan dan oksidan di dalam tubuh. Stres oksidatif dapat memicu terbentuknya radikal bebas dan rantai reaksi radikal bebas yang berpotensi menyebabkan kerusakan dan penurunan fungsi berbagai organ di dalam tubuh (Wahsha *et al.* 2012). Radikal bebas bersifat reaktif, menyerang secara acak, dan tidak selektif pada berbagai bahan organik yang merupakan komponen penyusun penting membran sel dan organel-organel intraseluler (Perron dan Brumaghim, 2009).

Terjadinya kerusakan pada membran sel dan organel intraseluler menyebabkan penurunan fungsi organ di dalam tubuh, terutama organ-organ yang sangat rentan terkena serangan radikal bebas. Beberapa organ yang diketahui bersifat rentan terkena serangan radikal bebas adalah hepar, ginjal, dan testis (Pavlovic *et al.* 2007).

Hepar merupakan organ tubuh yang berfungsi sebagai tempat sekresi empedu, ekskresi metabolit, penyimpanan lipid dan glikogen, sintesis

protein, dan detoksifikasi. Terkait dengan peran multifungsi, ketersediaan nutrisi, dan oksigen yang tinggi pada hepar menyebabkan organ ini sangat mudah mengalami stres metabolik sebagai dampak dari proses detoksifikasi atau faktor eksogen yang memicu stres oksidatif. Salah satu faktor eksogen yang berpotensi memicu stres oksidatif pada hepar adalah MSG. Bukti penelitian melaporkan, pemberian MSG 400 mg/ekor/hr pada tikus jantan memperlihatkan adanya perubahan histologis berupa nekrosis, hemoragi pada hepatosit, dan kongesti sinusoid yang ditandai peningkatan jumlah sel Kupffer pada hepar. Pengaruh MSG pada hepar juga diteliti Bhattacharya *et al.* (2011) dengan menggunakan mencit yang diinduksi MSG dosis 2 mg/ekor/hr selama 75 hari secara oral. Hasil penelitian menemukan adanya kerusakan inti hepatosit, inflamasi, dan peningkatan diameter hepatosit pada hepar.

Organ tubuh lain yang bersifat rentan terkena radikal bebas adalah ginjal. Keterlibatan ginjal dalam proses eliminasi dan ekskresi sisa metabolit dan bahan-bahan yang bersifat toksik memungkinkan komponen penyusun ginjal sangat rentan terkena stres oksidatif akibat induksi MSG secara berlebihan (Mader, 2001; Isnaeni, 2006). Bukti penelitian melaporkan bahwa induksi MSG dosis 3 mg/ekor/hr menyebabkan inflamasi atau degenerasi glomerulus dan tubulus ginjal (Al-Agha, 2008).

Penelitian lain juga menunjukkan bahwa pemberian MSG dosis 4 gr/ekor/hr secara intraperitoneal pada tikus jantan selama 15 hari dan 30 hari memperlihatkan adanya penurunan bobot testis, kadar asam askorbat,

peningkatan jumlah spermatozoa abnormal dan malondialdehida (MDA) di dalam testis (Vinodini *et al.* 2008). Testis merupakan organ reproduksi jantan dengan bagian dalam yang terbagi menjadi lobulus-lobulus berisi tubulus seminiferus. Tubulus seminiferus terdiri atas bagian basal dan lumen serta dipisahkan oleh *tight junction* yang dibentuk sel-sel sertoli. Keberadaan sel sertoli mempunyai peran penting dalam mendukung pembelahan mitosis dan meiosis pada setiap tahap spermatogenesis. Dinamika tahap ini menyebabkan komponen dan sel-sel penyusunan testis sangat rentan mengalami stres oksidatif akibat induksi MSG secara berlebihan (Marieb, 2006; Paul, 2007).

Berbagai cara telah dilakukan dalam upaya menghambat resiko penurunan fungsi organ tubuh yang disebabkan oleh radikal bebas akibat induksi MSG secara berlebihan. Dimitrios (2006) menyatakan bahwa pemberian antioksidan dapat menurunkan produksi radikal bebas di dalam tubuh. Antioksidan adalah senyawa yang berpotensi mencegah rantai reaksi radikal bebas di dalam tubuh. Berbagai macam antioksidan meliputi, superoksida dismutase, katalase, glutathion peroksidase, vitamin A, D, E, dan C, namun penggunaan antioksidan tersebut masih terkendala oleh keterbatasan bahan dan harga yang tidak terjangkau oleh masyarakat.

Mengacu kondisi tersebut, upaya penanganan stres oksidatif dapat dilakukan menggunakan bahan herbal atau tanaman obat. Berbagai contoh tanaman herbal, yaitu kunyit, meniran, sambiloto, mengkudu, dan teh hijau. Tanaman herbal, selain mudah diperoleh juga diyakini mengandung bahan

antioksidan yang relatif aman dan telah banyak digunakan oleh masyarakat secara turun-temurun (Devasagayam *et al.* 2004).

Teh hijau (*Camelia sinensis*) merupakan salah satu jenis tanaman herbal yang berasal dari Cina. Tanaman ini banyak dibudidayakan di Asia Tenggara sebagai bahan baku pembuatan obat tradisional (*herbal medicine*). Konsumsi teh hijau secara teratur dapat meningkatkan sistem pertahanan dan memperbaiki fungsi organ tubuh. Hal ini disebabkan teh hijau mengandung polifenol dalam jumlah yang tinggi. Bukti penelitian melaporkan bahwa kandungan polifenol pada daun teh hijau lebih tinggi dibanding teh hitam. Persentase kandungan polifenol pada daun teh hijau sebanyak 30-40 %, sedangkan pada daun teh hitam sebanyak 3-10 % (Zowail *et al.* 2009).

Salah satu jenis polifenol penting adalah flavonoid. Flavonoid terdiri dari berbagai jenis, seperti flavonol, flavones, flavonem, isoflavon, antosianin dan katekin. Sebagai bahan bioaktif, antosianin dan katekin berfungsi menangkap radikal bebas sehingga dapat menghambat terjadinya kerusakan pada membran sel (Chaturvedula dan Prakash, 2011). Mekanisme ini lebih efektif dibanding vitamin C dan E (Heim *et al.* 2002). Bukti penelitian tentang efektifitas teh hijau menunjukkan bahwa pemberian teh hijau dosis 455 mg/ekor/hr pada penderita hemodialiasis mampu menurunkan kadar radikal bebas secara nyata dibanding kelompok perlakuan pemberian vitamin C dan E dosis 500 mg/ekor/hr (Hsu *et al.* 2007).

Bukti penelitian melaporkan, pemberian ekstrak daun teh hijau dosis 40 mg/ekor/hr pada mencit yang diinduksi nikotin dapat menurunkan

diameter hepatosit (Gawish *et al.* 2012). Pemberian teh hijau juga berpengaruh pada ginjal yang diinduksi gentamisin. Hasil penelitian tersebut melaporkan bahwa pemberian ekstrak daun teh hijau sebesar 300 mg/ekor/hr pada tikus yang diinduksi gentamisin mampu menurunkan *blood urea nitrogene* (BUN), kreatinin, superoksida dismutase (SOD), dan katalase yang disertai penurunan diameter glomerulus dan tubulus ginjal (Raheem *et al.* 2010).

Bukti penelitian lain menunjukkan, pemberian ekstrak teh hijau dosis 500 mg/ekor/hr pada mencit yang diinduksi *doxorubicin* mampu mengembalikan motilitas dan jumlah spermatozoa secara nyata (Sato *et al.* 2010). Penambahan ekstrak teh hijau dosis 40 mg/ekor/hr juga berpengaruh dalam meningkatkan diameter dan tebal tubulus seminiferus pada mencit yang diinduksi nikotin (Raheem *et al.* 2010).

Berdasarkan potensi dan mekanisme yang dimiliki daun teh hijau, penelitian ini dilakukan dengan harapan bahwa pemberian seduhan daun teh hijau dapat berpotensi memperbaiki fungsi hepar, ginjal, dan testis yang diinduksi monosodium glutamat.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, permasalahan yang muncul adalah bagaimana pengaruh seduhan daun teh hijau (*Camelia sinensis*) terhadap bobot hepar, diameter hepatosit, kadar SGPT, SGOT, bobot ginjal, glomerulus, tubulus proksimalis, bobot testis, diameter atau tebal tubulus

seminiferus, jumlah, dan motilitas spermatozoa pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi oleh MSG.

1.3. Tujuan Penelitian

- a. Menganalisis potensi teh hijau (*Camelia sinensis*) dalam memperbaiki fungsi hepar, ginjal, dan testis pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi MSG secara berlebihan.
- b. Mengetahui kondisi histologis hepar, ginjal, dan testis yang diberi seduhan daun teh hijau pada mencit yang mengalami stres oksidatif akibat induksi MSG secara berlebihan.

1.4. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi informasi ilmiah tentang potensi teh hijau (*Camelia sinensis*) dalam memperbaiki fungsi hepar, ginjal, dan testis yang diinduksi oleh MSG secara berlebihan. Apabila teh hijau terbukti efektif dalam menghambat peningkatan radikal bebas di dalam tubuh maka teh hijau dapat dijadikan bahan baku pembuatan obat yang berpotensi mengatasi penyakit degeneratif di dalam tubuh.

BAB II

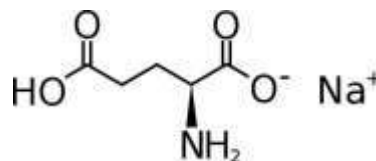
TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Monosodium Glutamat (MSG)

MSG diisolasi pertama kali oleh Ikeda pada tahun 1909 dari garam metalik asam glutamat pada tumbuhan laut genus *Laminaria*. MSG memiliki sensasi rasa spesifik karena mengandung *L-glutamate* dan *5'ribonucleotida*. MSG biasa digunakan sebagai penyedap rasa pada produk makanan kemasan dengan merek dagang, seperti ajinomoto, sasa, vetsin, dan miwon (Linderman *et al.* 2002 ; Sing dan Ahluwalia 2005).

MSG adalah garam natrium dari asam glutamat sebagai salah satu asam amino non-esensial yang bersifat larut dalam air. Disosiasi MSG di dalam tubuh oleh air menyebabkan terbentuknya anion yang berpotensi memicu pembukaan kanal Ca^{2+} pada sel perasa lidah sehingga menimbulkan depolarisasi reseptor yang diikuti terjadinya potensial aksi. Kondisi ini selanjutnya akan dipersepsikan oleh otak dan menghasilkan respons berupa sensasi rasa lezat (Narayanan *et al.* 2010).

Secara alami MSG dihasilkan di dalam tubuh dan berperan penting pada metabolisme sel (Nosseir *et al.* 2008). Geha *et al.* (2000) melaporkan, MSG termasuk komponen utama dari protein yang banyak ditemukan pada berbagai makanan, seperti daging, ikan, susu, dan beberapa sayuran. Struktur molekul MSG ($\text{C}_5\text{H}_8\text{NNaO}_4$) dapat ditunjukkan pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1. Struktur molekul MSG
(Garattini, 2000).

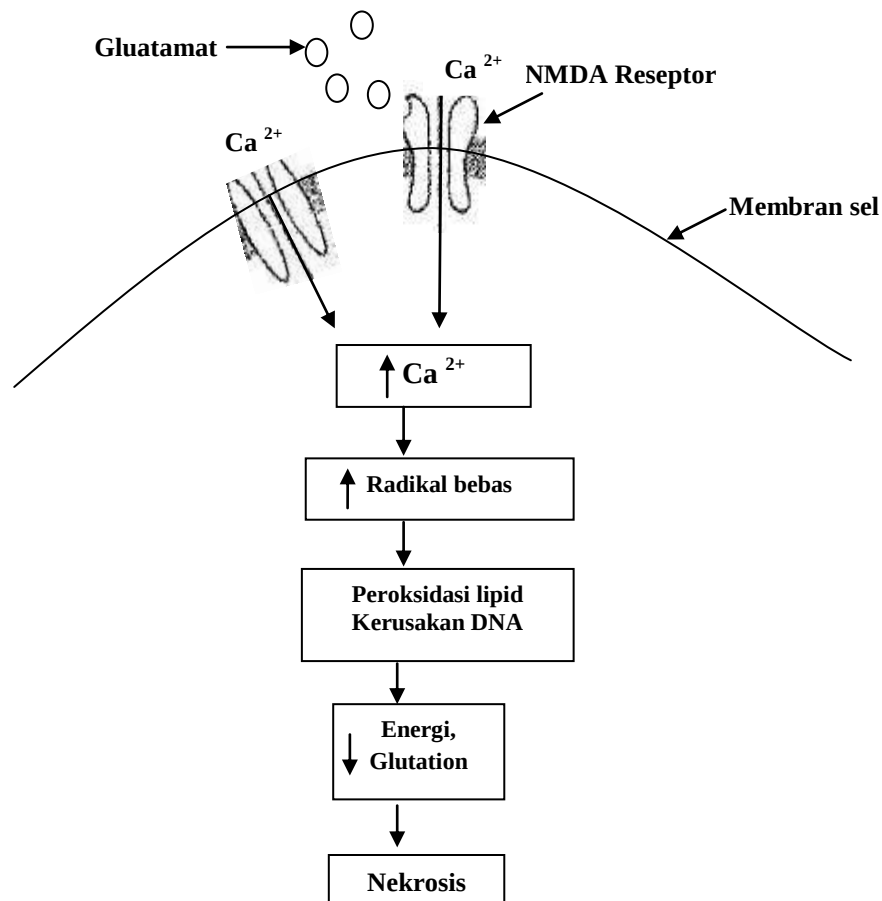
Food Additive Asosiation (FAO) dan *World Health Asosiation* (WHO) telah memasukkan MSG sebagai bahan aditif dengan *acceptable daily intake* (ADI) sebanyak 120 mg/bb/hr. Nilai tersebut menjadi batas bagi penggunaan MSG pada makanan yang boleh dikonsumsi oleh manusia. Batas aman MSG yang dapat dikonsumsi manusia tidak melebihi 6000 mg atau 6 gram per hari (Sabri *et al.* 2006). Lembaga pangan di Amerika Serikat atau FDA (*Food and Drugs Administration*) juga mengkategorikan MSG sebagai bahan aditif yang aman dikonsumsi untuk manusia, namun tingginya tingkat permintaan produksi makanan lezat telah berdampak pada penggunaan MSG secara berlebihan yang berpotensi menimbulkan dampak negatif bagi tubuh (Anggara, 2000).

Fakta mengenai dampak negatif penggunaan MSG secara berlebihan ditemukan di negara Cina pada tahun 1968. Penggunaan MSG secara berlebihan dapat menyebabkan kejang pada leher belakang yang menjalar ke lengan dan punggung, badan lemah serta gangguan fungsi jantung. Gejala ini dikenal dengan *Chinese restaurant syndrome* (Geha *et al.* 2000). Dampak negatif tersebut merupakan efek sitotoksik penggunaan MSG secara berlebihan. Bukti ini selanjutnya digunakan sebagai acuan untuk melakukan

penelitian lebih lanjut tentang efek toksik penggunaan MSG secara berlebihan sesuai dengan kondisi tubuh hewan uji. FASEB (*The Federation of American Societies for Experimental Biology*) (2012) melaporkan, konsumsi MSG dengan dosis lebih dari 3 gr/bb/hr pada manusia intoleran berdampak negatif pada penurunan derajat kesehatan.

Pavlovic *et al.* (2010) menemukan bukti bahwa MSG dapat berfungsi sebagai neurotransmitter di dalam sistem saraf pusat. MSG juga berperan sebagai sumber energi dan substrat untuk sintesis glutathione di dalam tubuh, namun bukti lain menunjukkan bahwa penggunaan MSG secara berlebihan dapat memicu peningkatan spesies oksigen reaktif yang menyebabkan stres oksidatif, peroksidasi lipid, penurunan fungsi sel atau *cell injury*, bahkan menginduksi kematian sel (Ramanathan *et al.* 2007; Ibrahim *et al.* 2011).

Ada dua mekanisme asam glutamat dalam menginduksi kematian sel, yaitu eksitotoksik dan oksidatif. Mekanisme eksitotoksik melibatkan peningkatan aktivasi reseptor glutamat berupa N-metil-D-Aspartat (NMDA) pada membran sel yang memicu peningkatan influks Ca^{2+} , sedangkan jalur oksidatif ditandai terjadinya penurunan kadar glutathione sebagai akibat produksi ROS atau *reactive oxygen species* secara berlebihan. Kondisi ini pada akhirnya dapat menginduksi kerusakan oksidatif pada berbagai organ tubuh, seperti testis, hepar, dan ginjal (Marwa dan Manal, 2011). Mekanisme asam glutamat dalam menginduksi kematian sel ditunjukkan pada Gambar



Gambar 2.2. Mekanisme asam glutamat dalam mempengaruhi kematian sel (Marwa dan Manal, 2011).

2.2. Radikal Bebas dan Stres Oksidatif

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mempunyai sifat tidak stabil karena mempunyai satu elektron atau lebih yang tidak berpasangan pada orbit terluarnya. Dalam memperoleh pasangan elektron, radikal bebas menjadi sangat reaktif. Semakin reaktif, radikal bebas akan menyerang secara acak pada komponen organik, seperti lipid, karbohidrat, protein, dan DNA atau *deoxyribonukleatida* melalui mekanisme rantai reaksi radikal bebas yang berdampak pada kerusakan membran sel, modifikasi protein, deaktivasi

enzim, dan kerusakan DNA (Rudzinska *et al.* 2005; Dimitrios 2006 ; Cahyadi 2008).

Radikal bebas merupakan hasil metabolisme di dalam sel tubuh yang dipicu oleh berbagai macam faktor, antara lain radiasi sinar ultraviolet, asap rokok, bahan aditif pada makanan, seperti natrium benzoat, asam sitrat, benzaldehida, amil asetat, dan MSG (Rudzinska *et al.* 2005). Secara umum radikal bebas dapat ditemukan pada semua sistem biologis. Radikal bebas dapat berupa molekul-molekul anorganik, seperti radikal anion superoksida, hidrogen peroksida (H_2O_2), radikal hidroksil, dan peroksil. Produksi radikal bebas yang berlebihan dapat menyebabkan reaksi berantai yang berdampak pada peroksidasi lipid dan makromolekul lainnya sehingga memicu kematian sel (Droge *et al.* 2002; Arif, 2006).

Peroksidasi lipid merupakan hasil reaksi radikal bebas dengan asam lemak tidak jenuh yang memiliki tiga ikatan rangkap. Reaksi ini diinduksi oleh spesies oksigen reaktif yang disintesis secara alami di dalam tubuh. Salah satu senyawa yang memproduksi spesies oksigen reaktif terbesar pada metabolisme sel adalah hidrogen peroksida (Agarwal *et al.* 2005).

Reaksi peroksidasi lipid terjadi melalui 3 tahap, yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Inisiasi merupakan tahap pembentukan radikal lipid ($R\bullet$) sebagai hasil interaksi antara lipid membran sel dengan spesies oksigen reaktif atau *reactive oxygen species* (ROS). Reaksi antara radikal lipid ($R\bullet$) dengan oksigen dapat menghasilkan radikal peroksida (ROO) atau dikenal sebagai tahap propagasi. Radikal peroksida ($ROO\bullet$) selanjutnya akan

bereaksi dengan atom hidrogen dari lipid membran sel lainnya yang menghasilkan hidroperoksida (ROOH) dan molekul radikal lipid yang baru ($R\bullet$). Tahap terakhir atau terminasi peroksidasi lipid berupa pemecahan hidroperoksida (ROOH) menjadi senyawa organik, seperti aldehid, keton, alkohol, dan asam. Kondisi ini dapat memicu terjadinya stres oksidatif yang berpengaruh pada perubahan histologis hepar, ginjal, dan testis.

Kim *et al.* (2005) melaporkan bahwa peningkatan produksi radikal bebas dapat menyebabkan stres oksidatif yang berdampak pada kerusakan dan gangguan fungsi permeabilitas membran sel. Stres oksidatif adalah gangguan keseimbangan antara kapasitas antioksidan dengan oksidan di dalam tubuh. Stres oksidatif dapat menimbulkan stres metabolik dan peningkatan degradasi seluler yang diperantarai oleh oksidan turunan dari molekul oksigen (*oxygen-derived oxidants*) yang lebih dikenal dengan istilah spesies oksigen reaktif atau ROS (*reactive oxygen spesies*) (Ozdamara *et al.* 2004).

2.3. Respons Histopatologis Hepar, Ginjal, dan Testis pada Kondisi Stres Oksidatif yang Diinduksi oleh Monosodium Glutamat

Pemberian MSG mempunyai pengaruh terhadap perubahan respons histopatologis berbagai organ tubuh. Respons histopatologis organ tubuh terhadap MSG mempunyai hubungan erat dengan kompleksitas fungsi, dinamika proses metabolisme, dan tingkat konsumsi oksigen. Perubahan respons ini dapat digunakan sebagai indikator stres oksidatif yang ditandai dengan munculnya gangguan orientasi proses metabolisme dan pensinyalan

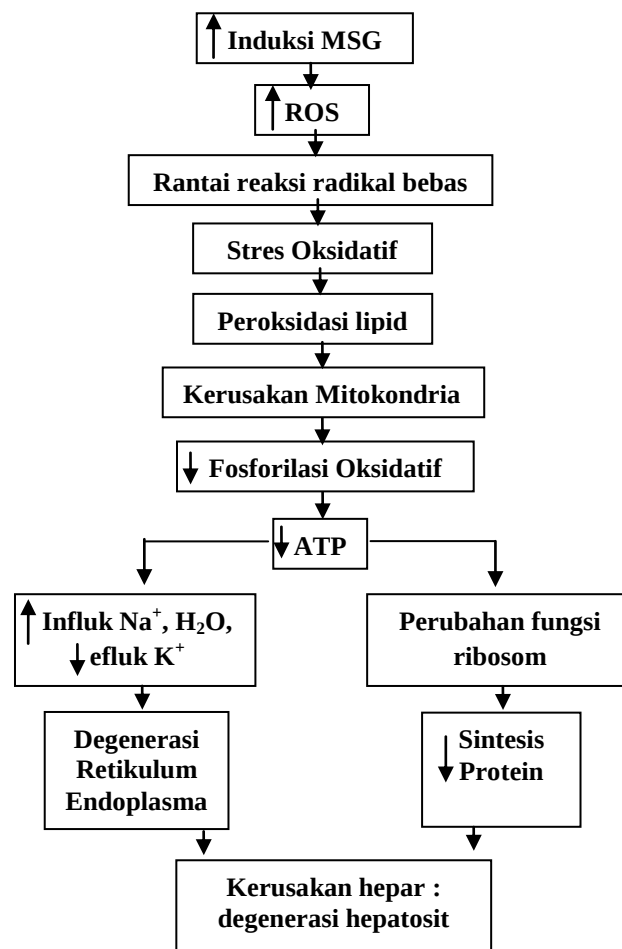
intraseluler yang berdampak pada penurunan berbagai fungsi organ, khususnya pada hepar, ginjal, dan testis (Farombi dan Onyema, 2006). Respons histopatologis yang menunjukkan penurunan fungsi organ dapat berupa pembengkakan sel, atropi, dan kematian sel.

a. Respon Histopatologis Hepar pada Kondisi Stres Oksidatif yang Diinduksi oleh MSG

Hepar merupakan kelenjar terbesar dalam tubuh yang memiliki multifungsi, antara lain sebagai tempat sekresi empedu, ekskresi metabolit, penyimpanan lipid dan glikogen, sintesis protein globulin dan albumin, perombakan sel-sel darah merah, fagositosis, dan detoksifikasi (Subowo, 2002). Hepar memiliki vaskularisasi dari vena porta yang membawa darah kaya nutrisi dan oksigen hasil dari penyerapan usus halus dan arteria hepatica. Vaskularisasi ini menyebabkan tingkat ketersediaan nutrisi dan oksigen sangat optimal untuk mendukung peran multifungsi hepar (Syarifudin, 2009). Berkaitan dengan peran multifungsi, ketersediaan nutrisi dan oksigen yang tinggi pada hepar memungkinkan organ ini sangat rentan mengalami stres metabolik sebagai dampak dari proses detoksifikasi atau faktor eksogen yang memicu stres oksidatif. Salah satu faktor eksogen yang berpotensi memicu stres oksidatif pada hepar adalah MSG.

Hasil penelitian menemukan bukti bahwa penggunaan MSG secara berlebihan berpotensi menyebabkan degenerasi hepatosit pada hepar. Degenerasi hepatosit diawali dengan terjadinya peroksidasi lipid pada

membran hepatosit yang beresiko mengganggu keseimbangan transport aktif ion Na^+/K^+ . Kondisi ini menyebabkan ion Na^+ yang terdapat di bagian dalam membran sel tidak dapat ditransport keluar sel. Akibatnya, terjadi akumulasi ion Na^+ intraseluler yang memicu pembengkakan mitokondria, dilatasi retikulum endoplasma, dan penghancuran organel intraseluler yang berakibat pada kematian hepatosit (Dinis *et al.* 2004; Onyema *et al.* 2006; Lu, 2008). Degenerasi hepatosit pada hepar akibat induksi MSG ditunjukkan pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3. Degenerasi hepatosit pada hepar yang disebabkan oleh MSG.
(Lu, 2008).

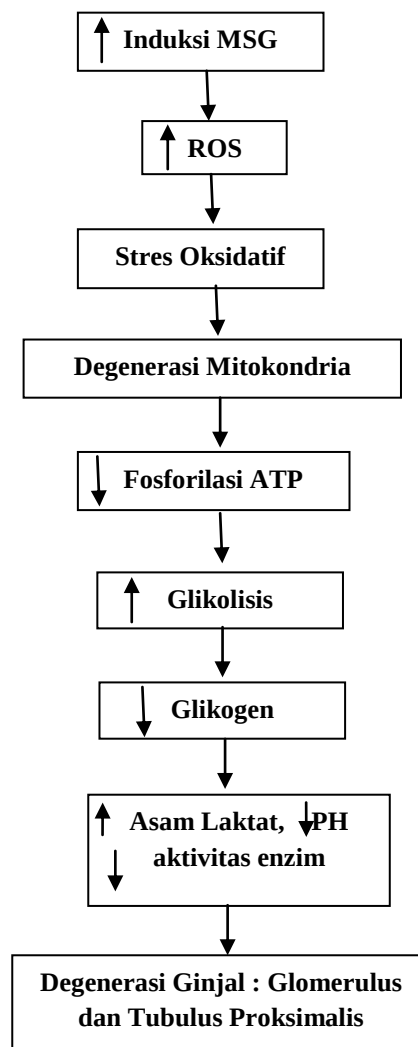
b. Respon Histopatologis Ginjal pada Kondisi Stres Oksidatif yang Diinduksi oleh MSG

Ginjal merupakan salah satu organ utama pada sistem ekskresi yang mempunyai peran penting dalam pemeliharaan keseimbangan volume dan komposisi cairan ekstraseluler di dalam tubuh. Ginjal memiliki struktur anatomi yang terdiri atas dua bagian, yaitu nefron dan pembuluh penyalur dengan bagian distal membentuk pelvis renalis yang terintegrasi dengan ureter. Permukaan luar pada ginjal dilapisi kapsula yang mengandung serabut kolagen dan elastis yang tersusun secara rapat, sedangkan bagian dalam terdiri dari jaringan ikat longgar. Ginjal tersusun atas komponen glomerulus dan tubulus renalis yang terlibat dalam proses eliminasi dan ekskresi sisa metabolit dan bahan-bahan yang bersifat toksik. Kedua proses ini melibatkan mekanisme transport lintas membran yang didukung oleh sistem enzim dan ketersediaan energi melalui konsumsi oksigen dalam jumlah tinggi. Kondisi ini memungkinkan komponen penyusun ginjal sangat rentan terhadap stres oksidatif. Salah satu bahan yang diketahui dapat memicu terjadinya stres oksidatif pada komponen penyusun ginjal adalah MSG (Mader, 2001; Isnaeni, 2006; Al-Agha, 2008).

Bukti penelitian melaporkan bahwa pemberian MSG dosis 4 gr/ekor/hr pada tikus jantan berpengaruh pada perubahan histopatologis dan biokimia, seperti pembengkakan glomerulus dan tubulus proksimalis, peningkatan kadar serum *glutamic oxaloacetic transaminase* (SGOT), *blood urea nitrogene* (BUN), kreatinin, malonaldialdehid (MDA),

superoksida dismutase (SOD), dan glutathion (GSH). Parameter tersebut dapat digunakan sebagai indikator terjadinya peroksidasi lipid dan penurunan fungsi ginjal yang disebabkan induksi MSG secara berlebihan (Inkielewicz dan Krechniak, 2003; Vinodini *et al.* 2010).

Degenerasi ginjal akibat induksi MSG secara berlebihan diawali dengan peningkatan produksi ROS pada mitokondria. ROS dapat memicu terbentuknya radikal bebas lanjutan yang memicu terjadinya rantai reaksi radikal bebas. Kondisi ini menyebabkan terjadinya gangguan proses oksidasi-fosforilasi, rantai transport elektron, dan penurunan ATP intraseluler. Melalui jalur respirasi anaerob, mitokondria menjamin ketersediaan ATP intraseluler dari jalur glikolisis. Hal ini berdampak pada penurunan cadangan glikogen, akumulasi asam laktat, penurunan pH, dan aktivitas enzim intraseluler. Perubahan biokimia tersebut dapat memicu peroksidasi lipid yang berakibat pada peningkatan influk Na^+ dan H_2O ke dalam sel. Gangguan ini selanjutnya menyebabkan pembengkakan dan degenerasi sel, baik pada glomerulus atau tubulus proksimalis ginjal (Al-Agha, 2012). Mekanisme pembengkakan dan degenerasi sel pada ginjal dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4. Mekanisme degenerasi atau pembengkakan pada sel ginjal yang disebabkan oleh MSG (Al-Agha, 2012).

c. Respons Histopatologis Testis pada Kondisi Stres Oksidatif yang diinduksi oleh MSG

Testis merupakan organ reproduksi jantan dengan permukaan luar dilapisi oleh kapsula padat berwarna putih yang disebut tunika albuginea. Tunika ini terdiri dari saraf dan pembuluh darah. Bagian dalam testis mempunyai septa yang terbagi ke dalam lobulus-lobulus berisi tubulus seminiferus. Tubulus seminiferus terdiri atas bagian basal dan lumen serta

dipisahkan oleh *tight junction* yang dibentuk sel-sel sertoli. Keberadaan sel sertoli mempunyai peran penting dalam mendukung pembelahan mitosis dan meiosis pada setiap tahap spermatogenesis. Dinamika tahap ini menyebabkan komponen dan sel-sel penyusunan testis sangat rentan mengalami stres oksidatif (Marieb, 2006; Paul, 2007).

Stres oksidatif yang diinduksi MSG berpengaruh pada peningkatan produksi ROS di dalam testis. Kondisi ini berakibat pada penurunan kadar asam askorbat sebagai antioksidan seluler sehingga memicu gangguan spermatogenesis pada tubulus seminiferus testis (Eweka dan Inabohs, 2005). Bukti penelitian melaporkan, pemberian MSG sebesar 4 gr/ekor/hr selama 30 hari pada tikus jantan dapat memicu kondisi stres oksidatif yang ditandai dengan penurunan kadar asam askorbat, gangguan spermatogenesis, dan penurunan fungsi testis secara menyeluruh (Gambar 2.5.). Berdasarkan pengamatan respons histopatologis testis ditemukan adanya kerusakan pada spermatogonium atau *germ cell*, peningkatan abnormalitas, dan penurunan jumlah spermatozoa (Nayanatara *et al.* 2008). Bukti penelitian lain melaporkan bahwa pemberian MSG secara berlebihan dapat menyebabkan stres oksidatif yang berdampak pada degenerasi atau penurunan jumlah spermatogonia, penyusutan diameter, dan tebal epitel tubulus seminiferus secara signifikan (Dash dan Gosh, 2012).



Gambar 2.5. Mekanisme penurunan fungsi testis yang disebabkan MSG (Cruz *et al.* 2012).

2.4. Teh Hijau (*Camellia sinensis*)

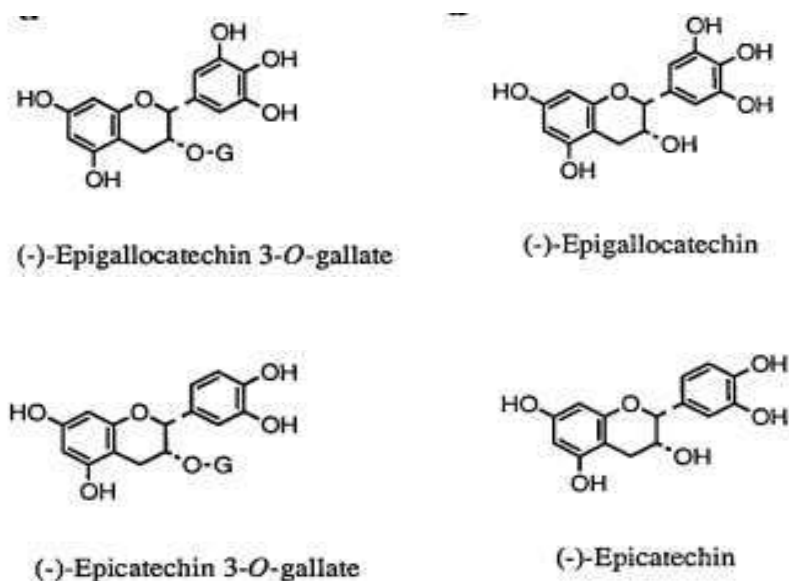
Teh hijau merupakan tanaman herbal dari Cina yang telah banyak dibudidayakan di Asia Tenggara sebagai bahan baku obat tradisional. Bukti empiris menunjukkan bahwa teh hijau dapat meningkatkan sistem pertahanan tubuh dan memperbaiki fungsi organ, lebih baik dibanding teh hitam (Sasazuki *et al.* 2004; Zowail *et al.* 2009). Potensi ini mempunyai keterkaitan dengan kadar flavonoid dan komposisi kimiawi penyusunnya (Tabel 2.1.).

Tabel 2.1. Perbandingan komposisi kimia antara teh hijau dan teh hitam

Komponen	Teh hijau (%)	Teh hitam (%)
Protein	15	15
Asam amino	4	4
Serat	26	26
Karbohidrat	7	7
Lipid	7	7
Pigmen	2	2
Mineral	5	5
Komponen fenol	30	5
Oksidasi komponen fenol	0	25

Chacko *et al.* (2010)

Chacko *et al.* (2010) melaporkan bahwa teh hijau memiliki kadar polifenol dalam jumlah yang tinggi, terutama dari jenis flavonoid (katekin), lebih tinggi dibanding teh hitam. Katekin memiliki sifat larut dalam air, tidak berwarna, dan membawa rasa pahit. Terdapat empat kelompok katekin pada teh hijau, yaitu epigallocatekin galat, epigallocatekin, epikatekin galat, dan epikatekin. Struktur kimia kelompok senyawa katekin ditunjukkan pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6. Struktur kimia senyawa katekin pada teh hijau
(Roach *et al.* 2011).

Tabel 2.1. menunjukkan bahwa teh hijau memiliki kadar fenol yang lebih tinggi dibanding teh hitam. Bukti penelitian menunjukkan bahwa kadar fenol pada teh hijau mempunyai korelasi dengan dua enzim yang berperan dalam proses oksidasi, yaitu polifenol oksidase dan polifenol peroksidase. Kedua enzim ini menjadi inaktif oleh proses pemanasan. Inaktivasi kedua enzim ini menyebabkan katekin tidak dapat dikonversi menjadi teafavin dan tearubigin yang memungkinkan kadar katekin tetap tinggi dalam teh hijau (mendapat perlakuan pemanasan). Sebaliknya, teh hitam yang tidak mendapat perlakuan pemanasan memungkinkan polifenol oksidase dan polifenol peroksidase aktif dalam mendegradasi katekin yang berakibat kadar katekin pada teh hitam lebih rendah dibanding teh hijau (Roach *et al.* 2011). Demeule *et al.* (2002) melaporkan bahwa kadar katekin dalam teh hijau berkisar 30-40 %, sedangkan pada teh hitam 3-10 %.

Beberapa penelitian melaporkan bahwa adanya katekin yang terkandung di dalam daun teh hijau berpotensi menghambat kerusakan pada organ tubuh. Mahmood dan Hamid (2012) melaporkan, pemberian teh hijau dosis 100 mg/ekor/hr selama 30 hari berhasil menurunkan diameter hepatosit pada tikus yang diberi dietilnitrosamina. Bukti lain menunjukkan, pemberian teh hijau dosis 15 gr/ekor/hr mampu mencegah kerusakan hepar yang ditandai penurunan kadar serum glutamik piruvat transaminase atau SGPT dan serum glutamik oksaloasetat transaminase atau SGOT pada tikus yang diinduksi leflunomida (Issabeagloo *et al.* 2012).

Potensi teh hijau dalam memperbaiki fungsi organ tubuh juga ditunjukkan pada ginjal. Hal ini dibuktikan melalui hasil penelitian Yokozawa *et al.* (2012) yang melaporkan bahwa pemberian teh hijau dosis 15 gr/ekor/hr dapat menurunkan diameter glomerulus, tubulus ginjal, peroksidasi lipid, dan meningkatkan kadar superoksida dismutase pada tikus yang diinduksi ciromazin dan chlorpirifos. Potensi nefroproteksi pada teh hijau disebabkan adanya epigallocatekin galat sebagai antioksidan yang berfungsi menghambat stres oksidatif di dalam organ tubuh.

Pemberian teh hijau selain mampu menghambat penurunan fungsi ginjal juga berpotensi memperbaiki fungsi testis. El-Shahat (2009) melaporkan, pemberian ekstrak daun teh hijau dosis 15 gr/ekor/hr mampu menurunkan tingkat kerusakan pada testis tikus yang diinduksi cadmium. Bukti penelitian lain menunjukkan, pemberian ekstrak daun teh hijau dosis 500 mg/ekor/hr selama 28 hari mampu menghambat penurunan motilitas dan jumlah spermatozoa pada mencit yang mengalami stres hipertermia.

2.5. Antioksidan Flavonoid

Antioksidan adalah senyawa yang berpotensi menghambat reaksi oksidasi, mampu mengikat radikal bebas, dan mencegah rantai reaksi radikal bebas di dalam tubuh. Berdasarkan reaksinya, antioksidan dikelompokkan menjadi antioksidan enzimatis dan non-enzimatis. Antioksidan enzimatis meliputi, superoksida dismutase, katalase, glutathione, dan peroksidase. Antioksidan non-enzimatis meliputi, vitamin A, D, E, C, dan flavonoid (Rohdiana, 2001; Sunarni, 2005).

Flavonoid merupakan salah satu antioksidan non-enzimatis dari kelompok polifenol yang banyak ditemukan pada berbagai macam tanaman. Flavonoid terdapat dalam jumlah melimpah pada bagian biji, bunga, buah, dan daun. Berbagai macam sumber makanan yang mengandung flavonoid dapat dilihat pada Tabel 2.2. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsumsi makanan yang banyak mengandung flavonoid berpengaruh pada penurunan radikal bebas di dalam tubuh. Flavonoid diketahui memiliki gugus hidroksil yang memiliki kemampuan menghambat, memutus, dan menghentikan rantai reaksi radikal bebas (*scavenging*) di dalam tubuh (Middleton *et al.* 2000; Ren *et al.* 2003).

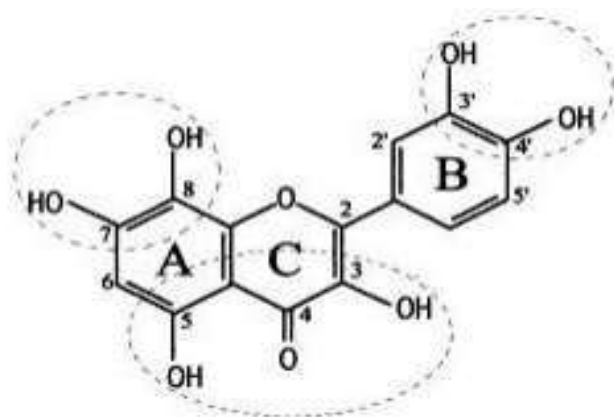
Tabel 2.2. Sumber makanan yang mengandung flavonoid

No	Sub kelas flavonoid	Sumber makanan
1	Flavonol	Bawang, brokoli, anggur merah, teh, apel, ceri
2	Flavones	Peterseli
3	Flavonones	Jeruk
4	Katekin	Apel, teh
5	Antosianin	Ceri, anggur, kacang kedelai
6	Isoflavon	Kacang-kacangan

Ren *et al.* (2003)

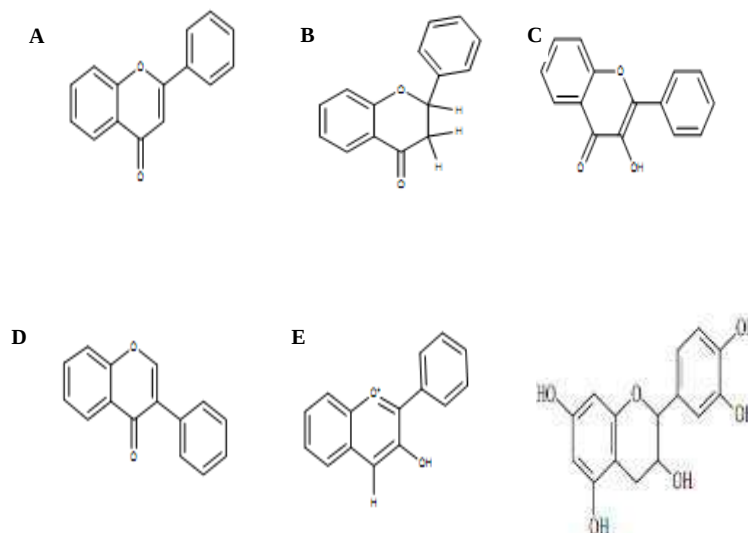
Cao *et al.* (1998) melaporkan bahwa gugus hidroksil (OH) pada flavonoid bersifat antioksidatif. Gugus OH pada ketiga cincin aromatis, yang meliputi cincin A (5, 7 dan 8), cincin B (3' dan 4'), dan cincin C (3) berperan sebagai donor elektron terhadap radikal bebas. Adapun ikatan rangkap pada gugus karbon C2 dan C3 dengan gugus keto pada C4 berperan meningkatkan fungsi *scavenging*, sedangkan gugus C3-OH, C5-OH, dan gugus karbonil

(C4=O) berfungsi melokalisasi dan menstabilisasi radikal bebas (Gambar 2.7.).



Gambar 2.7. Struktur molekul flavonoid
(Cao *et al.* 1998; Chusnie dan Lamb, 2005)

Heim *et al.* (2002) melaporkan bahwa susunan dan jumlah gugus hidroksil (OH) pada struktur flavonoid mempunyai korelasi dengan tingkat aktivitas antioksidan. Struktur dasar flavonoid terdiri atas dua cincin benzena (A dan B) dan satu cincin piran (C) heterosiklik. Adapun jumlah dan letak gugus hidroksil pada cincin C atau variasi susunan cincin A dan B menjadi dasar pembagian kelompok flavonoid, seperti flavon, flavones, flavonol, isoflavon, antosianin, dan katekin. Katekin memiliki jumlah gugus hidroksil yang lebih banyak dibandingkan jenis flavonoid lainnya, sehingga katekin merupakan jenis flavonoid dengan fungsi *scavenging* paling efektif terhadap radikal bebas (Cook dan Samman, 2006). Struktur berbagai macam kelompok flavonoid dapat dilihat pada Gambar 2.8.



Gambar 2.8. Struktur kimia kelompok flavonoid, A. Flavon, B. Flavones
C. Flavonol, D. Isoflavon, E. Antosianin, dan F. Katekin
(Cook dan Samman, 2006).

2.6. Mekanisme *Scavenging* Flavonoid terhadap Radikal Bebas

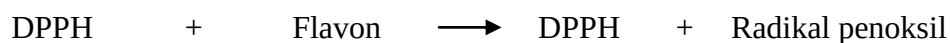
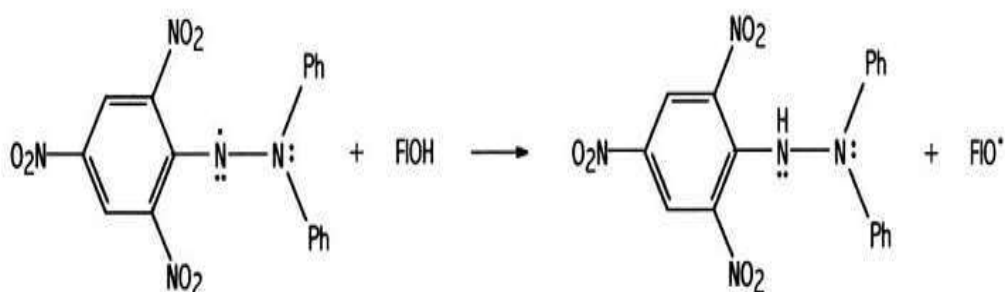
Mekanisme flavonoid dalam menghambat stres oksidatif dilakukan dengan cara *scavenging* radikal bebas. Fungsi *scavenging* radikal bebas disebabkan adanya gugus hidroksil (OH) pada struktur flavonoid. Gugus hidroksil berperan sebagai donor hidrogen atau elektron pada radikal bebas ($R\bullet$). Pemberian gugus hidrogen pada radikal bebas akan menghasilkan senyawa baru yang lebih stabil. Gugus hidroksil pada flavonoid yang berjumlah lebih dari satu akan memacu aktivitas *scavenging* radikal bebas. Aktivitas *scavenging* radikal bebas dimulai dengan pemberian atom hidrogen (H) dari gugus hidroksil flavonoid (FIOH) yang menghasilkan molekul radikal flavonoid (FIO $\bullet$) dan molekul stabil (RH). Hasil radikal flavonoid (FIO $\bullet$) memiliki reaktivitas lebih rendah dibanding radikal bebas ($R\bullet$). Reaksi selanjutnya, radikal flavonoid (FIO $\bullet$) akan berikatan dengan radikal lainnya

menjadi senyawa non reaktif (Sandhar *et al.* 2011). Reaksi sederhana *scavenging* radikal bebas pada flavonoid dapat dilihat pada gambar 2.9.



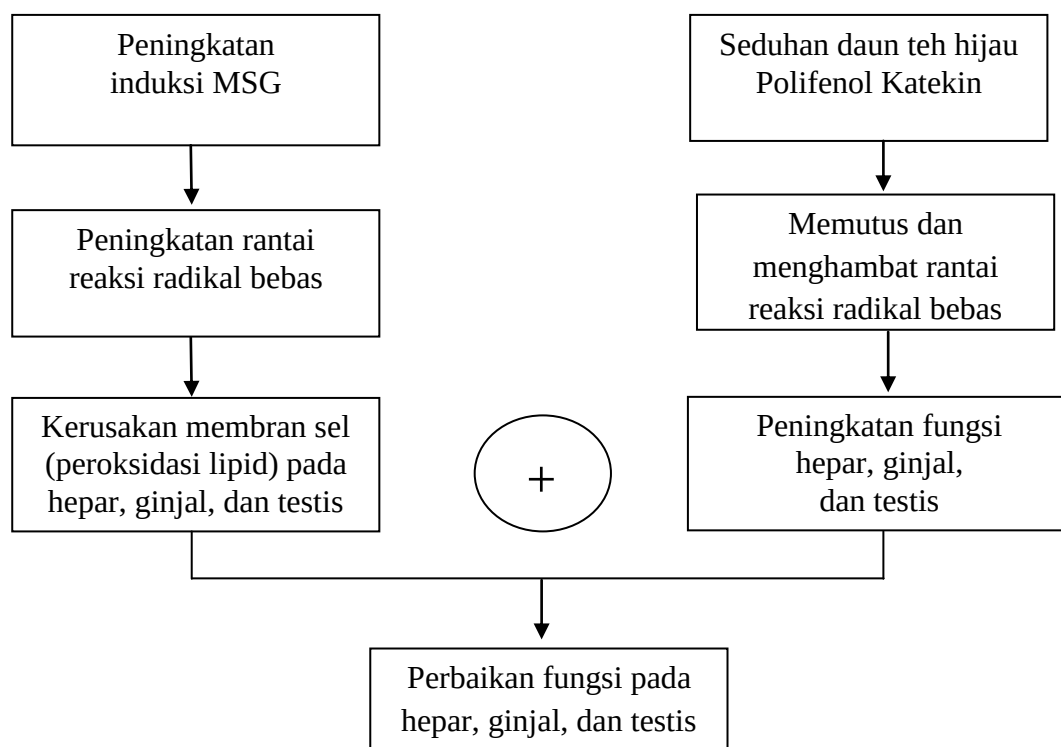
Gambar 2.9. Reaksi *Scavenging* radikal bebas oleh flavonoid
(Amic *et al.* 2003).

Salah satu contoh mekanisme *scavenging* flavonoid terjadi pada senyawa radikal bebas 1,1-dipenil-2-pikril-hidrazil (DPPH). DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang digunakan dalam uji kemampuan antioksidan flavonoid. Mekanisme *scavenging* DPPH oleh flavonoid diawali dengan pemberian atom hidrogen dan transfer elektron dari gugus hidroksil (OH) flavonoid pada DPPH. Interaksi antara gugus hidroksil dan DPPH akan menetralkan DPPH menjadi DPPHH dan radikal penoksil flavonoid yang lebih stabil dibanding DPPH (Waji dan Sugrani, 2009). Mekanisme *scavenging* DPPH oleh flavonoid dapat dilihat pada gambar 2.10.



Gambar 2.10. Mekanisme *scavenging* DPPH oleh flavonoid
(Amic *et al.* 2002).

2.7. Kerangka Pemikiran



Gambar 2.11. Kerangka pemikiran penelitian

Gambar 2.11. menunjukkan bahwa induksi MSG secara berlebihan dapat mengakibatkan peningkatan radikal bebas di dalam tubuh. Kondisi tersebut memicu terjadinya stres oksidatif dan menimbulkan dampak peroksidasi lipid organ tubuh, khususnya pada hepar, ginjal, dan testis. Upaya penanggulangan peningkatan produksi radikal bebas dapat dilakukan dengan cara pemberian seduhan daun teh hijau sebagai antioksidan eksogen. Teh hijau mengandung katekin yang berfungsi memutus dan menghambat rantai reaksi radikal bebas akibat induksi MSG secara berlebihan. Adanya katekin, menyebabkan pemberian seduhan daun teh hijau diduga mampu memperbaiki fungsi organ tubuh, khususnya pada hepar, ginjal, dan testis.

2.8. Hipotesis

Monsodium Glutamat (MSG) adalah penyedap rasa yang digunakan pada berbagai makanan dengan komponen *L-Glutamic acid* sebagai asam amino non-esensial, namun penggunaan MSG secara berlebihan dapat memicu terjadinya stres oksidatif yang berdampak pada penurunan fungsi organ tubuh, khususnya pada hepar, ginjal, dan testis. Salah satu upaya untuk memperbaiki penurunan fungsi organ tubuh dapat dilakukan dengan pemberian teh hijau (*Camelia sinensis*). Teh hijau mengandung flavonoid katekin yang berpotensi menghambat rantai reaksi radikal bebas akibat induksi MSG secara berlebihan.

Berdasarkan kajian resiko dampak dari MSG dan potensi yang dimiliki oleh teh hijau dapat dirumuskan hipotesis bahwa teh hijau (*Camelia sinensis*) berpotensi mempertahankan fungsi organ tubuh, khususnya pada hepar, ginjal, dan testis akibat induksi MSG secara berlebihan.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Biologi dan Struktur Fungsi Hewan Universitas Diponegoro dan Laboratorium Fisiologi Hewan Universitas Negeri Semarang dari bulan Maret-April 2012.

3.2. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial. Faktor pertama yaitu pemberian MSG dengan dua level perlakuan, sedangkan faktor kedua, yaitu pemberian teh hijau dengan dua level perlakuan. Tiap perlakuan diulang sebanyak 7x dengan perincian sebagai berikut :

- a. Kelompok Po terdiri dari 7 ekor mencit yang diberi akuades 0,5 ml/ekor/hr selama 30 hari
- b. Kelompok P1 terdiri dari 7 ekor mencit yang diberi MSG 0,84 gr/ekor/hr selama 30 hari
- c. Kelompok P2 terdiri dari 7 ekor mencit yang diberi teh hijau 0,015 gr/ekor/hr selama 30 hari
- d. Kelompok P3 terdiri dari 7 ekor mencit yang diberi kombinasi MSG 0,84 gr/ekor/hari dan teh hijau 0,015 gr/ekor/hr selama 30 hari.

3.3. Bahan dan alat penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi, teh hijau, MSG, pakan pelet komersial, garam fisiologis (NaCl 0,9 %), meyer albumin, formalin, etanol, akuades, hematoksin, dan eosin. Alat yang digunakan dalam penelitian adalah kandang mencit dan perlengkapannya, jarum *gavage*, satu set alat bedah, gelas arloji, cawan petri, timbangan digital, pipet, bilik hitung *improved Neubauer*, wadah sampel organ, dan satu set alat pembuatan sediaan histologis.

3.4. Aklimasi hewan uji

Penelitian diawali dengan aklimasi mencit jantan strain *Mus musculus* selama satu minggu di Laboratorium Fisiologi Hewan Universitas Negeri Semarang. Selama aklimasi, mencit percobaan dipelihara dalam kandang secara individu pada kondisi lingkungan yang homogen. Kandang mencit terbuat dari bahan plastik yang ditutup dengan kawat kasa. Dasar kandang dilapisi dengan sekam padi dan diganti setiap tiga hari. Pakan mencit berupa pelet komersial, sedangkan air minum berupa akuades yang diberikan secara *ad libitum*.

3.5. Penentuan dosis dan pemberian MSG serta seduhan daun teh hijau

Penentuan dosis MSG mengacu pada dosis yang memicu kerusakan testis tikus, yaitu 6 gr/ekor/hr (Eweka dan Iniabohs, 2008). Dosis MSG pada mencit dihitung dengan menggunakan tabel konversi tikus ke mencit. Nilai konversi dari tikus ke mencit adalah 0,14, sehingga diperoleh dosis MSG

untuk mencit, yaitu $0,14 \times 6 \text{ gr} = 0,84 \text{ gr/ekor/hr}$. Sebelum perlakuan, dilakukan pembuatan stok larutan MSG sebanyak 16,8 gr MSG yang dilarutkan ke dalam air panas sebanyak 20 ml. Larutan MSG 0,5 ml diberikan secara oral untuk masing-masing mencit.

Penentuan dosis seduhan daun teh hijau dalam penelitian ini mengacu dosis yang diberikan pada tikus, yaitu 0,108 gr/ekor/hr (Dewi, 2007). Dosis seduhan daun teh hijau pada mencit dihitung dengan menggunakan tabel konversi tikus ke mencit. Nilai konversi dari tikus ke mencit adalah 0,14, sehingga diperoleh dosis seduhan daun teh hijau untuk mencit, yaitu $0,108 \times 0,14 = 0,015 \text{ gr/ekor/hr}$ (Ngatidjan, 1991). Sebelum perlakuan, dilakukan pembuatan stok seduhan daun teh hijau sebanyak 0,3 gr teh hijau yang diseduh dengan air panas sebanyak 20 ml. Seduhan daun teh hijau diberikan pada mencit secara oral dengan volume 0,5 ml.

3.6. Preparasi dan penentuan kadar serum glutamik piruvat transaminase (SGPT) dan serum glutamik oksaloasetat transaminase (SGOT)

Pada akhir perlakuan, mencit dibius dengan menggunakan eter dan dilanjutkan dengan pengambilan sampel darah dari sinus orbitalis. Sampel darah dimasukkan ke dalam apendrof dengan volume 1 ml, kemudian dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit untuk mendapatkan serum. Penentuan kadar SGPT dan SGOT menggunakan sampel serum darah yang diukur dengan metode spektrofotometer pada panjang gelombang 340 nm sesuai hasil penelitian Ibrahim *et al.* (2011) dengan beberapa modifikasi di Laboratorium Kesehatan Semarang.

3.7. Isolasi epididimis

Pada akhir perlakuan mencit dikorbankan dan dilanjutkan isolasi saluran reproduksi. Sampel epididimis diperoleh dengan cara memotong epididimis, yaitu duktus yang melekat pada testis, berwarna putih kekuningan, terdiri atas bagian kaput, korpus, dan kauda. Sampel epididimis selanjutnya dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi larutan garam fisiologis. Dilakukan *splicing* duktus epididimis sampai diperoleh suspensi spermatozoa, Hasil suspensi kemudian digunakan untuk penentuan motilitas dan jumlah spermatozoa mengacu pada metode yang dilakukan oleh Chodidjah *et al.* (2009), Enny dan Koen (2001)

a. Penentuan persentase motilitas spermatozoa

Penentuan persentase motilitas spermatozoa diawali dengan koleksi suspensi spermatozoa ke dalam gelas arloji yang berisi 1 ml larutan garam fisiologis. Suspensi spermatozoa kemudian ditetaskan di atas gelas objek dan diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 40x. Penentuan persentase motilitas spermatozoa menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Motilitas spermatozoa} = \frac{\text{Spermatozoa progresif}}{\text{Spermatozoa total}} \times 100 \%$$

Chodidjah *et al.* (2009)

b. Penghitungan Jumlah spermatozoa

Penghitungan jumlah spermatozoa dilakukan dengan cara meneteskan suspensi spermatozoa pada bagian bilik hitung *improved Neubeur* yang dapat dijelaskan sebagai berikut.

- 1) Satu kotak kecil hemositometer mempunyai sisi 0,05 mm dengan kedalaman kotak 0,1 mm sehingga diketahui volume kotak kecil tersebut adalah $0,05 \times 0,05 \times 0,1 = 0,00025 \text{ mm}^3$.
- 2) Kotak kecil yang digunakan untuk penghitungan spermatozoa berjumlah 80 kotak yang dilambangkan dengan huruf E.
- 3) Tahap penghitungan jumlah spermatozoa diawali dengan penentuan faktor pengenceran sebanyak 100 kali. Tahap berikutnya adalah penentuan faktor koreksi volume spermatozoa yang dihitung berdasarkan perbandingan nilai antara total volume 80 kotak kecil dengan total volume yang diinginkan (0,02:1). Hasil perbandingan tersebut diperoleh faktor koreksi volume sebesar 50. Tahap akhir diperoleh rumus penghitungan jumlah spermatozoa:

$$E \times 50 \times 100 = 5000 E/\text{mm}^3$$

Enny dan Koen (2001).

3.8. Preparasi pembuatan sediaan histologis hepar, ginjal, dan testis

Pada akhir perlakuan mencit dikorbankan, dilanjutkan dengan isolasi organ, yang meliputi hepar, ginjal, dan testis. Beberapa organ tersebut kemudian difiksasi ke dalam formalin 10% selama 24 jam. Tahap berikutnya dilakukan pembuatan sediaan histologis hepar, ginjal, dan testis di

Laboratorium Struktur dan Fungsi Hewan Universitas Diponegoro Semarang. Langkah pertama pembuatan sediaan histologis, yaitu dehidrasi menggunakan etanol bertingkat (70%, 80%, 95%, dan 100%), dilanjutkan *embedding*, dan pemotongan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 7 μm . Hasil pemotongan kemudian diwarnai menggunakan hematoxilin-eosin dan diamati dengan mikroskop cahaya (Ali, 2007).

3.9. Prosedur pengukuran diameter hepatosit hepar, glomerulus atau tubulus proksimalis ginjal, dan diameter atau tebal tubulus seminiferus testis

Pengukuran diameter hepatosit hepar, glomerulus atau tubulus proksimalis ginjal, dan diameter atau tebal tubulus seminiferus testis pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi dan Struktur Fungsi Hewan Universitas Diponegoro Semarang. Prosedur pengukuran diameter hepatosit hepar, glomerulus atau tubulus proksimalis ginjal, dan diameter atau tebal tubulus seminiferus testis menggunakan mikroskop cahaya dengan lensa okuler yang dilengkapi mikrometer (perbesaran 40x) dengan 2x ulangan.

Diameter hepatosit hepar ditentukan dengan cara menghitung rata-rata diameter hasil pengukuran bagian paling panjang dan pendek dari hepatosit, sedangkan tebal tubulus seminiferus ditentukan dengan cara menghitung rata-rata hasil pengukuran dari bagian paling tebal dan tipis tubulus seminiferus (Nosseir *et al.* 2008). Demikian pula, penentuan diameter glomerulus, tubulus proksimalis ginjal dan tubulus seminiferus testis menggunakan cara seperti pada metode penentuan diameter hepatosit (Zeinab *et al.* 2011; Gawish *et al.* 2012).

3.10. Analisis data

Semua data hasil penelitian dianalisis menggunakan uji deskriptif.

Data selanjutnya dianalisis dengan uji anova dua arah atau *two ways anova* pada taraf 5 % ($P < 0,05$) untuk melihat perbedaan nyata antar kelompok perlakuan dan interaksi dua faktor kelompok perlakuan (Hanafiah, 2012).

BAB IV

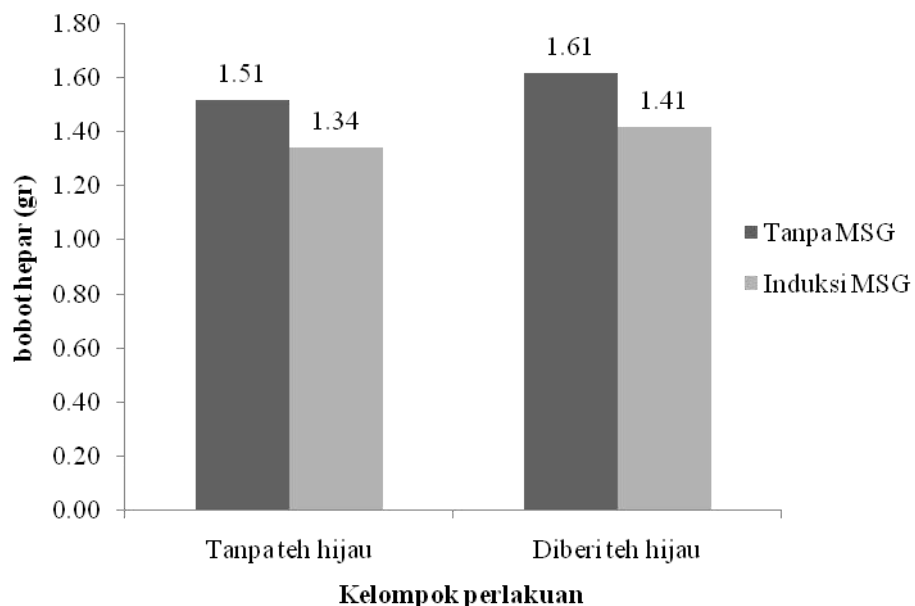
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hepar

Hepar merupakan organ tubuh yang memiliki multifungsi sebagai tempat sekresi empedu, ekskresi metabolit, penyimpanan lipid, glikogen, sintesis protein, fagositosis, dan detoksifikasi. Terkait aktivitas multifungsi, menyebabkan organ ini sangat rentan terkena senyawa asing yang memicu gangguan fungsi pada hepar (Syaifudin, 2009). Salah satu faktor eksogen pemicu kerusakan pada hepar, yaitu MSG. Induksi MSG secara berlebihan dapat mengakibatkan stres oksidatif yang menimbulkan dampak kerusakan pada hepar. Stres oksidatif dapat dihambat dengan pemberian seduhan daun teh hijau yang dibuktikan melalui parameter hasil penelitian ini, antara lain bobot hepar, kadar serum glutamik piruvat transaminase atau SGPT, serum glutamik oksaloasetat transaminase atau SGOT, dan diameter hepatosit.

4.1.1. Bobot hepar

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian seduhan daun teh hijau mampu meningkatkan bobot hepar pada mencit yang diinduksi MSG maupun tanpa MSG. Analisis statistik menunjukkan perbedaan tidak nyata ($P > 0,05$) pada bobot hepar yang diberi seduhan daun teh hijau baik pada mencit yang diinduksi MSG maupun tanpa induksi MSG (lampiran 7). Hasil rata-rata bobot hepar antar kelompok perlakuan dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1. Hasil rata-rata bobot hepar antar kelompok perlakuan pada mencit jantan

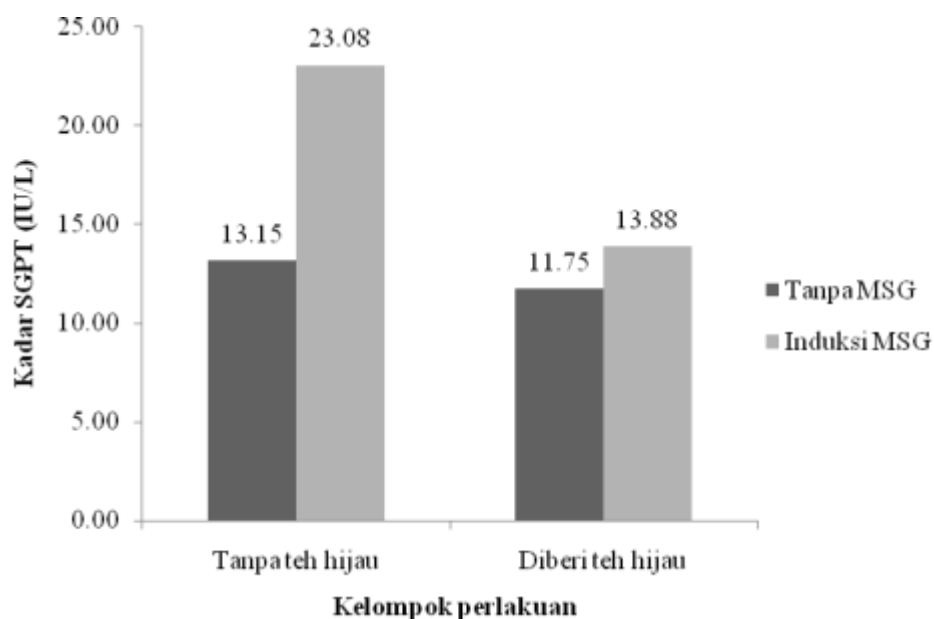
Hepar merupakan organ tubuh yang disusun oleh sel-sel hepatosit. Perubahan hepatosit akibat induksi senyawa asing akan berpengaruh pada bobot hepar. Bukti penelitian menunjukkan bahwa induksi MSG dosis 0,84 gr/ekor/hr mengakibatkan penurunan bobot hepar. Bukti penelitian ini sesuai hasil penelitian El-Agouza (2010) yang melaporkan bahwa induksi MSG 400 mg/ekor/hr memicu terjadinya apoptosis atau kematian hepatosit yang berakibat pada penurunan bobot hepar pada tikus.

Hasil penelitian ini juga membuktikan bahwa pemberian seduhan daun teh hijau pada mencit yang diinduksi MSG maupun tanpa induksi MSG mampu meningkatkan bobot hepar (Gambar 4.1). El-Daly (2011) melaporkan, teh hijau mengandung flavonoid yang

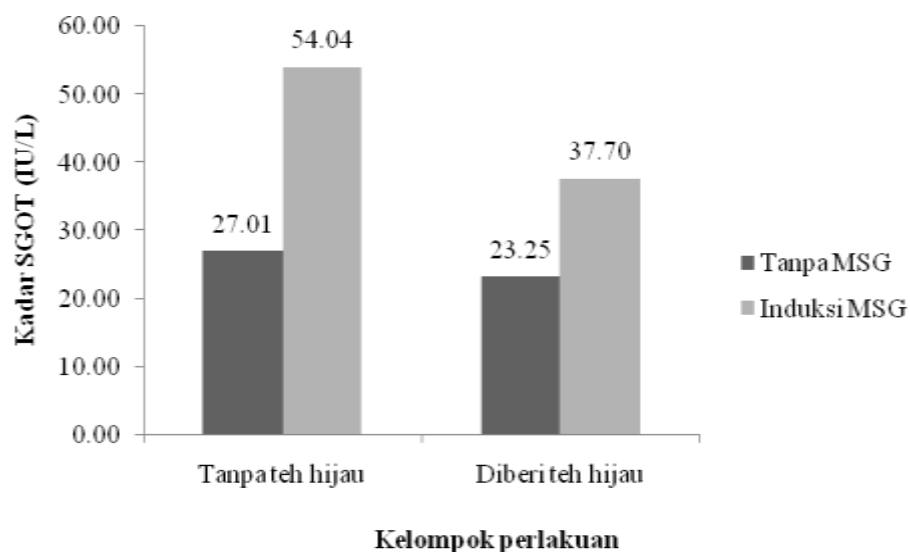
berfungsi melindungi membran sel dari serangan radikal bebas. Flavonoid berperan penting dalam memutus rantai reaksi radikal bebas dan menghambat apoptosis atau nekrosis hepatosit, sehingga pemberian seduhan daun teh hijau mampu meningkatkan bobot hepar.

4.1.2. Kadar SGPT dan SGOT

Hasil uji kadar SGPT dan SGOT menunjukkan bahwa pemberian seduhan daun teh hijau mampu menurunkan kadar SGPT dan SGOT pada mencit yang diinduksi MSG maupun tanpa induksi MSG (Gambar 4.2. dan 4.3.). Analisis statistik menunjukkan perbedaan tidak nyata ($P < 0,05$) pada kadar SGPT dan SGOT yang diberi seduhan daun teh hijau pada mencit, baik yang diinduksi MSG maupun tanpa induksi MSG (Lampiran 8 dan 9).



Gambar 4.2. Hasil rata-rata kadar SGPT antar kelompok perlakuan pada mencit jantan



Gambar 4.3. Hasil rata-rata kadar SGOT antar kelompok perlakuan pada mencit jantan

Gangguan fungsi pada hepar ditandai dengan peningkatan kadar SGPT dan SGOT di dalam serum. SGPT merupakan enzim transaminase yang berfungsi mengkatalisis alanin dan α -ketoglutarat menjadi piruvat dan glutamat, sedangkan SGOT berperan mengkatalisis aspartat dan α -ketoglutarat menjadi glutamat dan oksaloasetat. Kedua enzim tersebut dilepaskan ke dalam sirkulasi darah apabila terjadi kerusakan pada hepar. Peningkatan enzim SGPT dan SGOT dapat disebabkan oleh berbagai senyawa yang berpotensi toksik di dalam hepar (Wahyuni, 2005). Hasil penelitian menunjukkan, induksi MSG dosis 0,84 gr/ekor/hr berakibat pada peningkatan kadar SGPT dan SGOT. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Ibrahim *et al.* (2011) yang melaporkan bahwa induksi MSG dosis 60

mg/ekor/hr pada tikus menyebabkan nekrosis dan apoptosis pada hepar disertai peningkatan kadar SGPT dan SGOT dalam serum.

Marwa dan Manal (2012) melaporkan, ada dua mekanisme asam glutamat dalam menginduksi kematian sel, yaitu melalui jalur eksitotoksik dan oksidatif. Mekanisme eksitotoksik melibatkan peningkatan aktivasi reseptor glutamat N-metil-D-Aspartat (NMDA) pada membran sel yang memicu peningkatan influks Ca^{2+} , sedangkan jalur oksidatif ditandai dengan penurunan kadar glutathione sebagai akibat produksi radikal bebas secara berlebihan. Kondisi ini berdampak pada kerusakan mitokondria sehingga produksi ATP mengalami penurunan. Akibatnya, terjadi aktivasi *caspase* yang memicu apoptosis disertai pelepasan enzim SGPT dan SGOT dalam serum.

Mekanisme apoptosis diawali dengan pelepasan sitokrom c pada mitokondria ke dalam sitoplasma, selanjutnya sitokrom c berikatan dengan protein sitoplasma apaf-1. Ikatan antara sitokrom c dan apaf-1 menyebabkan aktivasi protein *caspase* sebagai eksekutor apoptosis (Madesh dan Hajnoczky, 2001).

Hasil penelitian ini juga membuktikan bahwa pemberian seduhan daun teh hijau dosis 0,015 gr/ekor/hr pada mencit yang diinduksi MSG maupun tanpa induksi MSG mampu menurunkan kadar SGPT dan SGOT (Gambar 4.2 dan 4.3.). Penurunan kadar SGPT dan SGOT merupakan bukti adanya penghambatan stres oksidatif dan

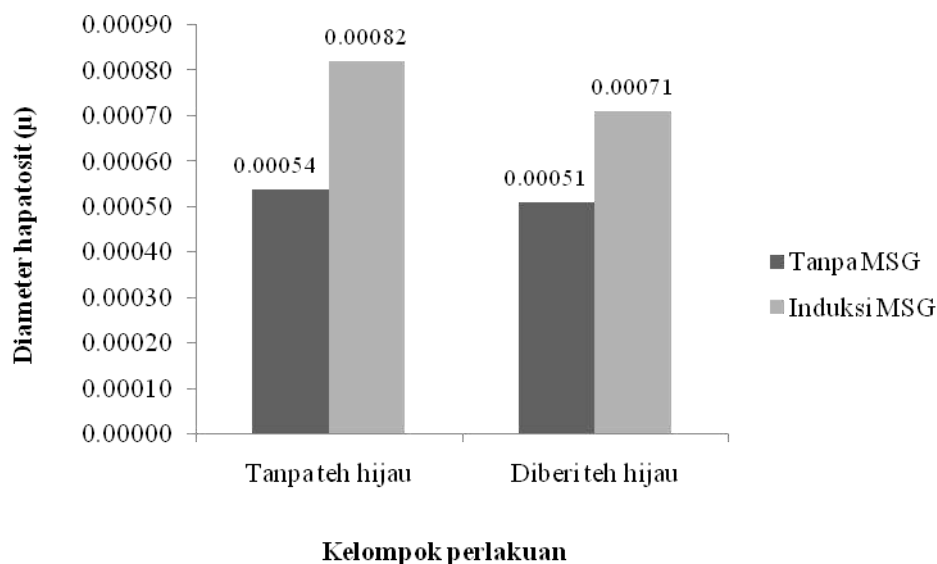
perbaikan fungsi hepar pada mencit yang diinduksi MSG secara berlebihan. Bukti tersebut sesuai hasil penelitian Godwin *et al.* (2010) yang melaporkan bahwa pemberian ekstrak daun teh hijau dosis 3 gr/ekor/hr mampu menurunkan kadar SGPT dan SGOT dalam serum tikus. Bukti penelitian lain menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun teh hijau dosis 1,5 gr/ekor/hr menghasilkan penurunan kadar SGPT dan SGOT pada tikus yang diinduksi leflunomida (Issabeagloo *et al.* 2012)

Singh *et al.* (2010) melaporkan, teh hijau merupakan tanaman herbal yang mengandung polifenol seperti katekin, epikatekin, dan epigallocatekin. Adanya komponen antioksidan polifenol diduga dapat menghambat nekrosis dan apoptosis melalui mekanisme inaktivasi protein *caspase* di dalam sitoplasma, selain itu teh hijau juga mampu menghasilkan peningkatan kadar antioksidan endogen, kandungan protein anti-apoptosis, penurunan kadar SGPT, SGOT, sitokinin, dan produksi ROS pada hepar (Godwin *et al.* 2010; Akbar *et al.* 2012).

4.1.3. Diameter Hepatosit

Hasil pengamatan histologis pada hepar menunjukkan bahwa pemberian seduhan daun teh hijau mampu menurunkan diameter hepatosit pada mencit, baik yang diinduksi MSG maupun tanpa induksi MSG. Analisis statistik menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$) pada diameter hepatosit yang diberi seduhan daun teh hijau baik pada mencit yang diinduksi MSG maupun tanpa induksi MSG

(Lampiran 10). Hasil rata-rata diameter hepatosit antar kelompok perlakuan dapat dilihat pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4. Hasil rata-rata diameter hepatosit antar kelompok perlakuan pada mencit jantan.

Hepatosit merupakan salah satu komponen penyusun hepar yang memiliki bentuk polihedral dengan inti bulat di tengah. Hepatosit berfungsi menyerap bilirubin dari darah yang disekresikan sebagai empedu, protein, dan kolesterol. Secara histologis hepatosit memiliki permukaan yang berhadapan dengan ruang sinusoid. Susunan tersebut, selain menjaga distribusi suplai nutrisi dan oksigen juga menyebabkan hepatosit beresiko terkena senyawa yang berpotensi toksik. Salah satu senyawa yang berpotensi memicu kerusakan pada hepatosit adalah MSG.

MSG merupakan garam natrium dari asam glutamat sebagai salah satu asam amino non-esensial yang bersifat larut dalam air (Narayanan *et al.* 2012). Metabolisme MSG di dalam tubuh dimulai dari rongga mulut, masuk ke dalam lambung, dan terabsorpsi oleh lumen intestinum, selanjutnya dari intestinum MSG akan dibawa ke hepar melalui saluran sirkulasi tunggal atau pembuluh portal dan masuk ke dalam hepatosit sebagai substrat bagi sintesis protein pada hepar (Stegink, 1984).

Mekanisme MSG sebelum memasuki hepatosit diawali dengan aktivasi reseptor glutamat N-metil-D-Aspartat (NMDA) pada membran hepatosit. Aktivasi tersebut menyebabkan terjadinya influksi ion kalsium, natrium, dan efluks kalsium sebagai bentuk homeostatis dari transport lintas membran pada hepatosit, namun jika induksi MSG terjadi secara berlebihan, peningkatan aktivasi reseptor glutamat dapat memacu fosforilasi oksidatif dan transport elektron pada mitokondria disertai peningkatan glikolisis untuk menjamin ketersediaan ATP bagi keseimbangan metabolisme hepatosit. Apabila kondisi ini berlangsung reversibel dapat memicu rantai reaksi radikal bebas dan peroksidasi lipid yang mengakibatkan terjadinya degenerasi atau pembengkakan pada hepatosit (Al-Agha, 2012).

Hasil penelitian ini membuktikan, induksi MSG dosis 0,84 gr/ekor/hr mengakibatkan pembengkakan yang ditandai dengan peningkatan diameter hepatosit. Hasil tersebut didukung oleh

penelitian Bhattacharya *et al.* (2011) yang melaporkan bahwa induksi MSG 2 mg/ekor/hr pada tikus menimbulkan dampak perubahan struktur histologis, seperti pembengkakan atau degenerasi hepatosit pada hepar. Degenerasi hepatosit diawali dengan peningkatan influx ion kalsium, gangguan transport lintas membran, dan pembengkakan sel. Induksi MSG secara berlebihan juga dapat mengakibatkan gangguan keseimbangan antara antioksidan dengan oksidan sehingga memicu kerusakan pada membran hepatosit (Onyema *et al.* 2006).

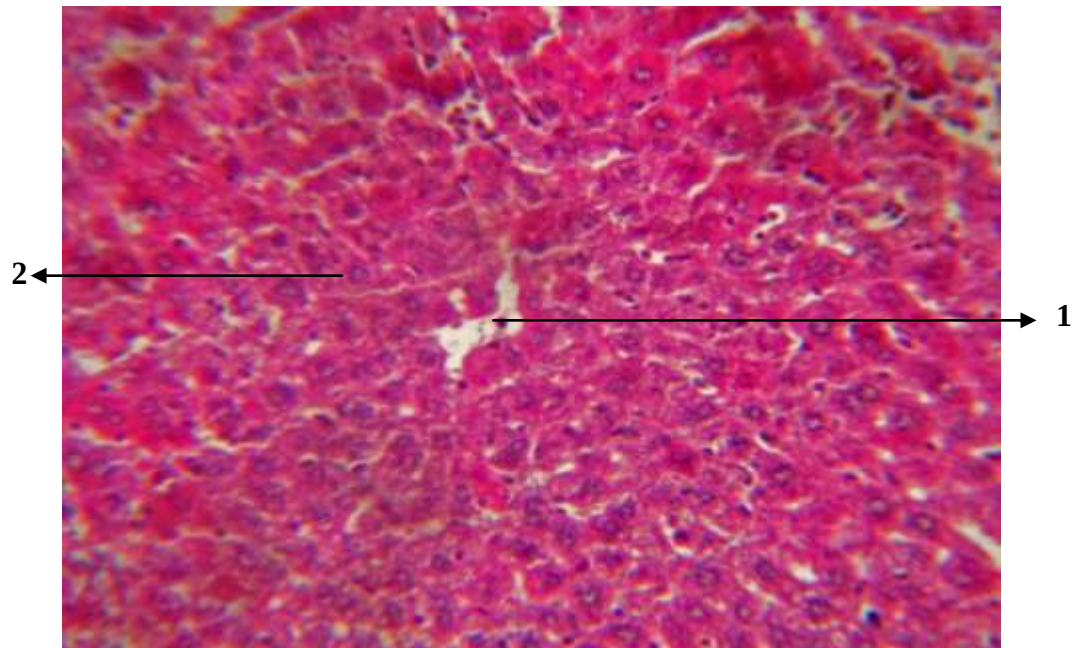
Ibrahim *et al.* (2011) melaporkan, pemberian teh hijau dosis 200 mg/ekor/hr pada tikus dapat mencegah terjadinya degenerasi atau kerusakan hepatosit pada hepar. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa pemberian seduhan daun teh hijau dosis 0,015 gr/ekor/hr pada mencit yang diinduksi MSG maupun tanpa induksi MSG mampu memperbaiki fungsi hepar yang ditandai dengan penurunan diameter hepatosit.

Teh hijau mengandung flavonoid yang berperan sebagai *scavenging* radikal bebas. Peran *scavenging* flavonoid terjadi pada sel induk atau *stem cell* dan hepatosit baru hasil regenerasi sel induk secara mitosis akibat induksi MSG secara berlebihan. Aktivitas *scavenging* tersebut diawali dengan pemberian gugus hidrogen atau elektron pada radikal bebas ($R\bullet$). Pemberian gugus hidrogen pada radikal bebas akan menghasilkan molekul radikal flavonoid ($FIO\bullet$) dan molekul stabil (RH). Radikal flavonoid ($FIO\bullet$) memiliki reaktivitas

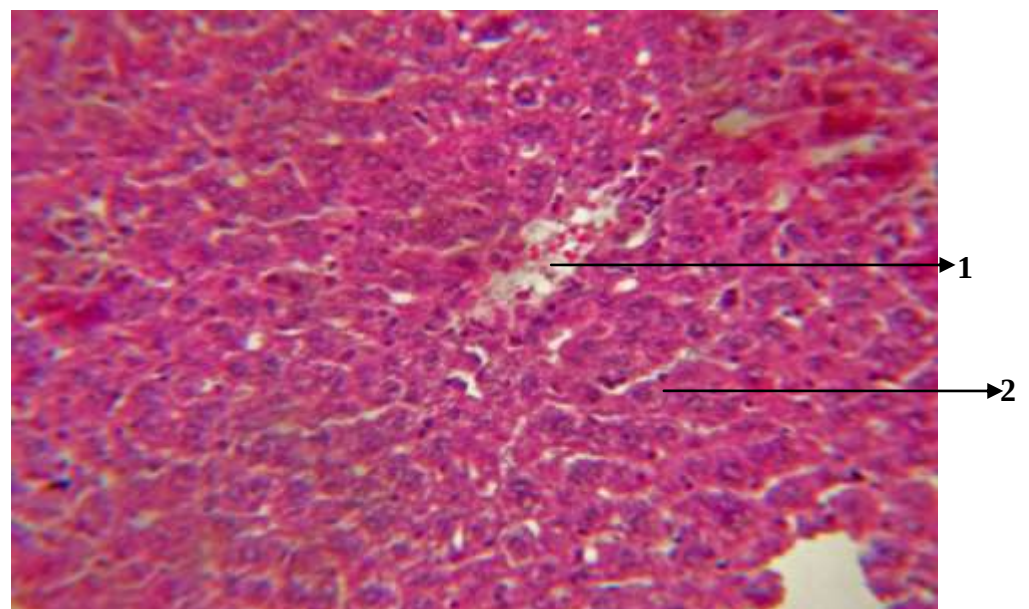
yang lebih rendah dibanding radikal bebas ($R\bullet$). Adapun radikal flavonoid ($FIO\bullet$) akan berikatan dengan radikal lainnya menjadi senyawa non reaktif (Taub, 1996; Michalopoulos, 1997; Sandhar *et al.* 2011).

Zhong *et al.* (2006) melaporkan, regenerasi hepatosit merupakan mekanisme perbaikan yang dikontrol oleh beberapa faktor, antara lain faktor pertumbuhan hepatosit (HGF), faktor pertumbuhan epidermal, faktor nekrosis tumor, interleukin 6 sitokinin, ATP, nutrisi, dan hormonal. Berbagai faktor tersebut dapat memicu pembelahan sel induk secara mitosis apabila hepatosit mengalami kerusakan. Pemberian seduhan daun teh hijau diduga dapat melindungi mitokondria sel induk dari serangan rantai reaksi radikal bebas sehingga ketersediaan ATP yang dibutuhkan untuk regenerasi sel induk menjadi hepatosit baru tetap terjaga dengan baik.

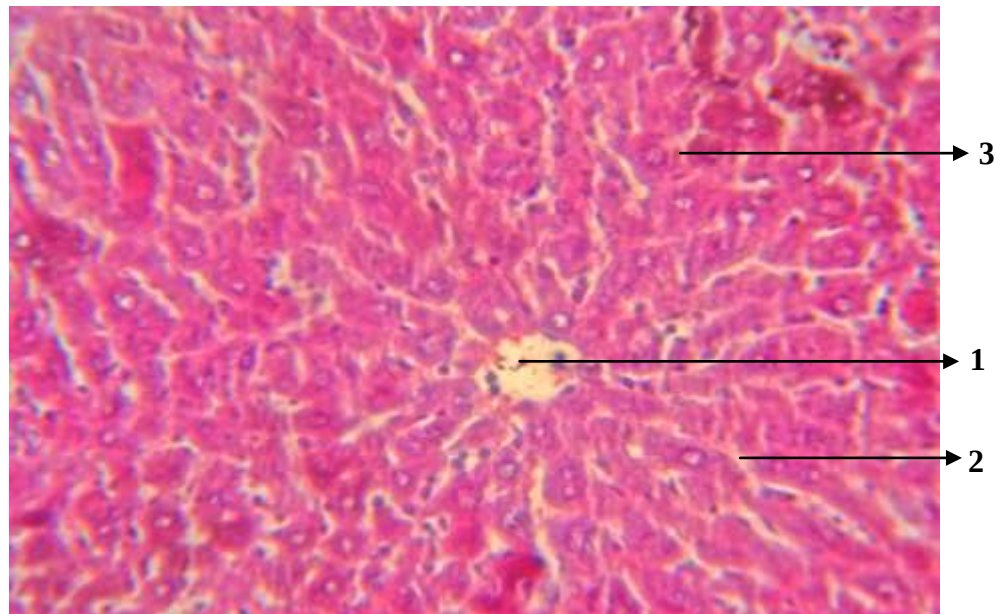
Hasil penelitian ini didukung dengan kondisi histologis pada hepar yang menunjukkan bahwa pemberian MSG dosis 0,84 gr/ekor/hr menyebabkan pembengkakan yang ditandai dengan peningkatan diameter hepatosit pada hepar (Gambar 4.7). Adapun pemberian seduhan daun teh hijau dosis 0,015 gr/ekor/hr pada mencit yang diinduksi MSG dosis 0,84 gr/ekor/hr memperlihatkan adanya penurunan diameter hepatosit pada hepar (Gambar 4.8).



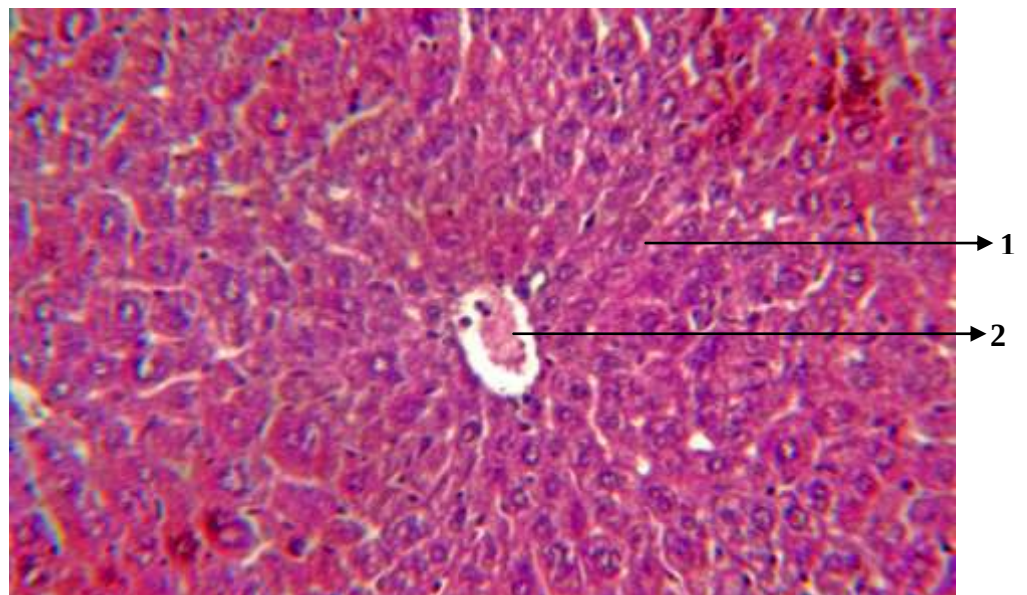
Gambar 4.5. Irisan melintang histologis hepar pada mencit yang diberi akuades sebagai kontrol menunjukkan distribusi hepatosit normal. Pewarnaan H & E dengan perbesaran objektif 40x. keterangan : 1. Vena sentralis 2. Hepatosit normal



Gambar 4.6. Irisan melintang histologis hepar setelah pemberian seduhan daun teh hijau pada mencit yang tidak diinduksi MSG menunjukkan distribusi hepatosit normal. Pewarnaan H&E dengan perbesaran 40 x. Keterangan : 1. Vena sentralis, 2. Hepatosit normal



Gambar 4.7. Irisan melintang histologis hepar pada mencit yang diinduksi MSG tanpa diberi seduhan daun teh hijau menunjukkan degenerasi hepatosit pada lokasi sekitar vena sentralis. Keterangan : 1. Vena sentralis 2. Sinusoid 3. Hepatosit yang mengalami pembengkakan. Pewarnaan H & E dengan perbesaran objektif 40 x.



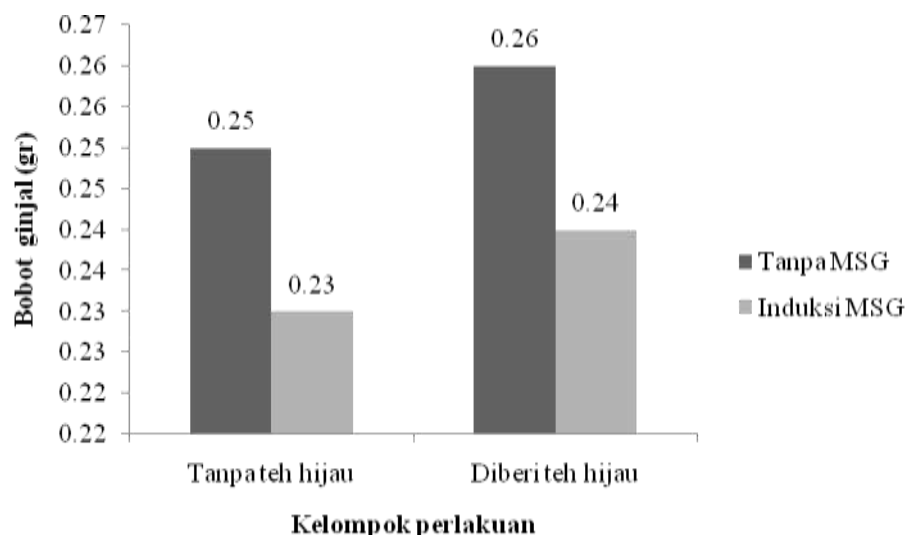
Gambar 4.8. Irisan melintang histologis hepar yang diberi seduhan daun teh hijau pada mencit yang diinduksi MSG menunjukkan adanya regenerasi hepatosit normal di sekitar vena sentralis. Keterangan : 1. Hepatosit normal 2. Vena sentralis. Pewarnaan H & E dengan perbesaran objektif 40 x.

4.2. Ginjal

Ginjal merupakan salah satu organ ekskresi yang tersusun atas komponen glomerulus dan tubulus renalis. Kedua komponen tersebut berperan dalam proses absorpsi dan eliminasi sisa metabolit atau bahan-bahan yang bersifat toksik. Proses absorpsi dan eliminasi pada ginjal melibatkan mekanisme transport lintas membran yang didukung sistem enzim dan ketersediaan energi melalui konsumsi oksigen dalam jumlah yang tinggi. Kondisi ini memungkinkan komponen penyusun ginjal sangat rentan terhadap peningkatan rantai reaksi radikal bebas. Salah satu bahan yang dapat memicu rantai reaksi radikal bebas pada komponen penyusun ginjal adalah MSG. Reaksi radikal bebas dapat dihambat dengan memberikan seduhan daun teh hijau sebagai antioksidan alami yang dibuktikan dalam penelitian ini melalui beberapa parameter, antara lain bobot ginjal, diameter glomerulus, dan tubulus proksimalis.

4.2.1. Bobot Ginjal

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian seduhan daun teh hijau mampu meningkatkan bobot ginjal pada mencit, baik yang diinduksi MSG maupun tanpa induksi MSG. Analisis statistik menunjukkan perbedaan tidak nyata ($P > 0,05$) pada bobot ginjal yang diberi seduhan daun teh hijau pada mencit yang diinduksi MSG maupun tanpa induksi MSG (lampiran 11). Rata-rata bobot ginjal antar kelompok perlakuan dapat dilihat pada Gambar 4.9.



Gambar 4.9. Hasil rata-rata bobot ginjal antar kelompok perlakuan pada mencit jantan.

Bobot ginjal merupakan salah satu parameter yang dapat digunakan untuk mengetahui perubahan fungsi pada ginjal. Perubahan bobot ginjal dipengaruhi oleh berbagai komponen seluler yang berperan dalam proses ekskresi dan eliminasi metabolit tubuh. Kerusakan komponen seluler secara nyata mengakibatkan perubahan bobot ginjal yang berdampak pada gangguan fungsi pada ginjal. Bukti penelitian ini melaporkan, induksi MSG dosis 0,84 gr/ekor/hr menyebabkan penurunan bobot ginjal. Bukti tersebut diperkuat oleh hasil penelitian Vinodini *et al.* (2010) yang menunjukkan bahwa induksi MSG dosis 4 gr/ekor/hr menyebabkan peningkatan malonaldehid (MDA) sebagai indikator stres oksidatif pada ginjal. Tanpa adanya penanganan, stres oksidatif dapat memicu

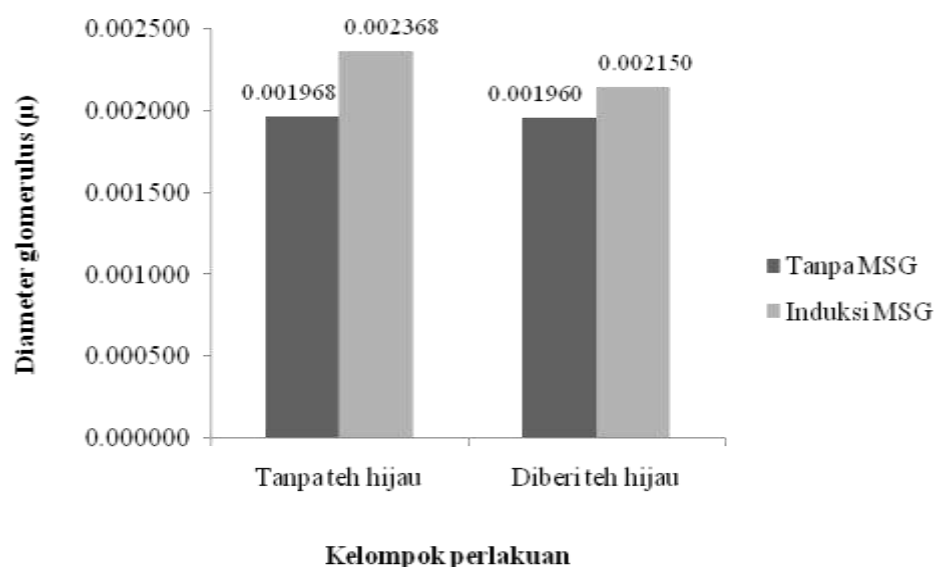
apoptosis atau kematian sel penyusun ginjal yang menimbulkan dampak penurunan bobot ginjal.

Salah satu cara menangani kerusakan komponen seluler pada ginjal dapat dilakukan dengan pemberian seduhan daun teh hijau sebagai antioksidan alami yang dibuktikan melalui hasil penelitian ini, bahwa pemberian seduhan daun teh hijau dosis 0,015 gr/ekor/hr pada mencit yang diinduksi MSG maupun tanpa induksi MSG ternyata mampu memberi peningkatan bobot ginjal. Kadkhodae *et al.* (2005) melaporkan, ketekina yang terkandung pada daun teh hijau berpotensi mengikat dan menghambat rantai reaksi radikal bebas pemicu terjadinya stres oksidatif. Bukti lain menunjukkan, pemberian ekstrak daun teh hijau dapat menghambat stres oksidatif, peroksidasi lipid, dan atrofi yang berpengaruh pada peningkatan bobot ginjal (Silan *et al.* 2007).

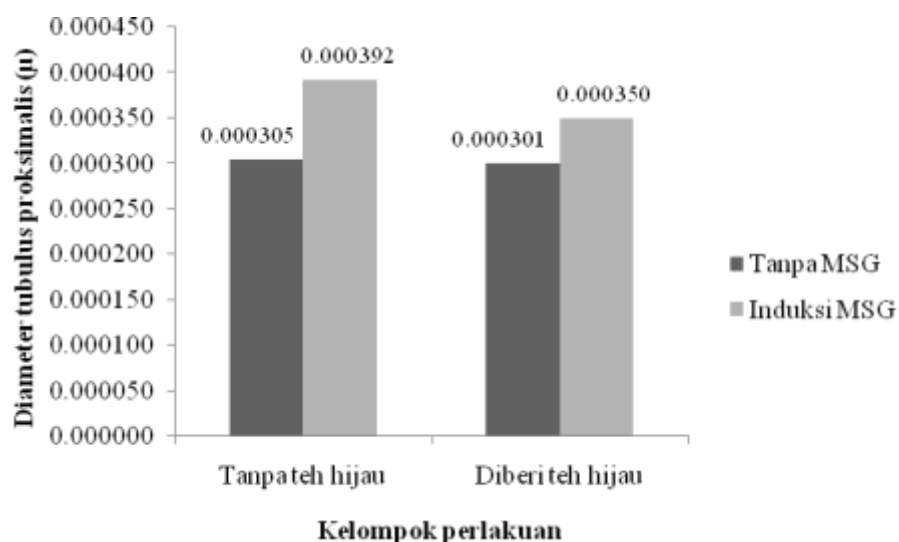
4.2.2. Diameter glomerulus dan tubulus proksimalis

Hasil penelitian ini menemukan bukti bahwa pemberian seduhan daun teh hijau mampu menurunkan diameter glomerulus dan tubulus proksimalis pada mencit yang diinduksi MSG maupun tanpa induksi MSG (Gambar 4.10 dan 4.11). Analisis statistik menunjukkan bahwa pemberian seduhan daun teh hijau menghasilkan perbedaan tidak nyata ($P > 0,05$) pada diameter glomerulus pada mencit yang diinduksi MSG maupun tanpa induksi MSG (Lampiran 12). Adapun, pemberian seduhan daun teh hijau pada diameter tubulus proksimalis

menunjukkan perbedaan secara nyata ($P < 0,05$) pada mencit yang tidak diinduksi MSG, namun belum menunjukkan perbedaan secara nyata ($P > 0,05$) pada diameter tubulus proksimalis mencit yang diinduksi oleh MSG (Lampiran 13).



Gambar 4.10. Hasil rata-rata diameter glomerulus antar kelompok perlakuan pada mencit jantan.



Gambar 4.11. Hasil rata-rata diameter tubulus proksimalis antar kelompok perlakuan pada mencit jantan.

Glomerulus merupakan komponen ginjal yang tersusun atas epitel glomerulus dengan sitoplasma bersifat porus. Glomerulus berfungsi sebagai filtrasi partikel besar yang terkandung di dalam darah. Hasil filtrasi yang dibutuhkan bagi metabolisme tubuh selanjutnya akan diabsorpsi oleh tubulus proksimalis. Adanya aktivitas filtrasi dan absorpsi memungkinkan glomerulus dan tubulus proksimalis sangat rentan terkena senyawa kimia yang berpotensi toksik (Marieb, 2006). Artinya, apabila induksi senyawa tersebut terjadi secara berlebihan dapat memicu kerusakan pada glomerulus dan tubulus proksimalis sehingga menimbulkan gangguan fungsi pada ginjal. Salah satu senyawa kimia yang berpotensi toksik ketika masuk ke dalam ginjal, yaitu MSG.

Proses masuknya MSG pada ginjal secara berurutan dimulai dari rongga mulut, lambung, intestinum, dan mengalir melalui sistem sirkulasi darah menuju vena porta hepatika, kemudian dari vena porta hepatika, darah yang mengandung MSG akan mengalir ke jantung, dan dipompa ke arah arteri ginjal, masuk melewati glomerulus dan tubulus proksimalis. Proses selanjutnya MSG akan mengalami filtrasi, reabsorpsi, sekresi, dan ekskresi pada glomerulus dan tubulus proksimalis sebagai bagian dari metabolisme ginjal. Apabila induksi MSG terjadi secara berlebihan, maka induksi MSG pada ginjal dapat memicu rantai reaksi radikal bebas yang menyebabkan peroksidasi

lipid pada membran sel komponen penyusun ginjal sehingga berpengaruh terhadap gangguan fungsi pada ginjal.

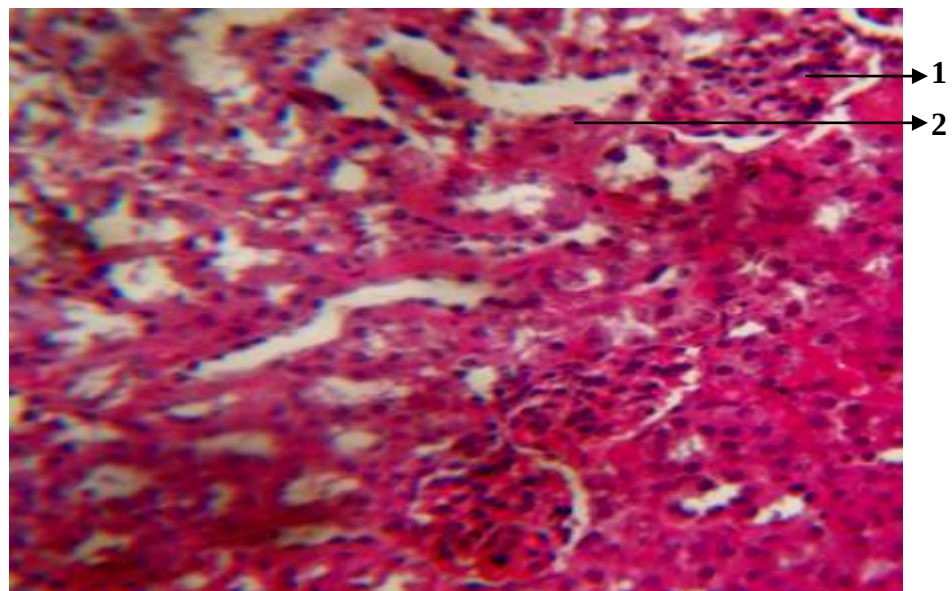
Hasil penelitian ini membuktikan, pemberian MSG dosis 0,84 gr/ekor/hr mengakibatkan peningkatan diameter glomerulus dan tubulus proksimalis pada ginjal. Hal ini didukung oleh penelitian Al-Agha (2012) yang melaporkan bahwa pemberian MSG dosis 3 mg/ekor/hr menyebabkan degenerasi komponen penyusun ginjal, berupa pembengkakan glomerulus dan tubulus proksimalis.

Pembengkakan pada ginjal akibat induksi MSG diawali dengan peningkatan produksi *reaktive oxygen species* (ROS) pada mitokondria. ROS dapat memicu pembentukan radikal bebas lanjutan dan rantai reaksi radikal bebas. Kondisi ini berdampak pada gangguan proses oksidasi-fosforilasi, rantai transport elektron, dan penurunan ATP intraseluler. Akibatnya, terjadi peningkatan glikolisis untuk menjamin ketersediaan ATP intraseluler yang berpengaruh pada penurunan cadangan glikogen, akumulasi asam laktat, penurunan pH, dan aktivitas enzim intraseluler. Perubahan biokimia tersebut dapat memicu peroksidasi lipid yang berakibat pada peningkatan influk Na^+ dan H_2O ke dalam sel. Gangguan ini selanjutnya menyebabkan pembengkakan dan degenerasi sel, baik pada glomerulus atau tubulus proksimalis ginjal (Al-Agha, 2012).

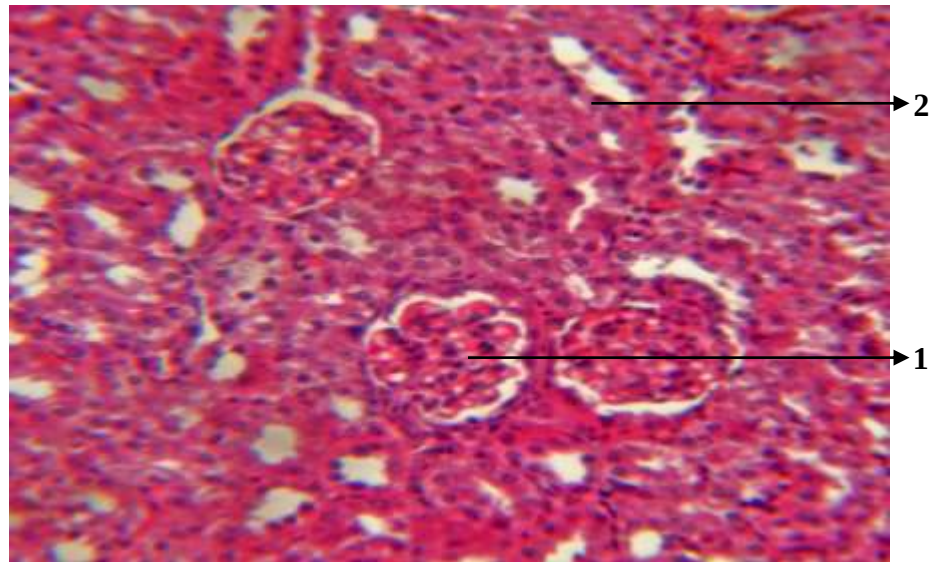
Hasil penelitian juga membuktikan bahwa pemberian seduhan daun teh hijau dosis 0,015 gr/ekor/hr pada mencit yang diinduksi

MSG dosis 0,84 gr/ekor/hr ternyata mampu menurunkan diameter glomerulus dan tubulus proksimalis pada ginjal. Bukti penelitian tersebut sesuai hasil penelitian Sara *et al.* (2009) yang melaporkan bahwa pemberian ekstrak daun teh hijau dosis 3 gr/ekor/hr mampu menghambat peroksidasi lipid, penurunan SOD atau superoksida dismutase, dan katalase di dalam korteks ginjal disertai dengan penurunan diameter glomerulus dan tubulus proksimalis pada mencit yang diinduksi cisplatin.

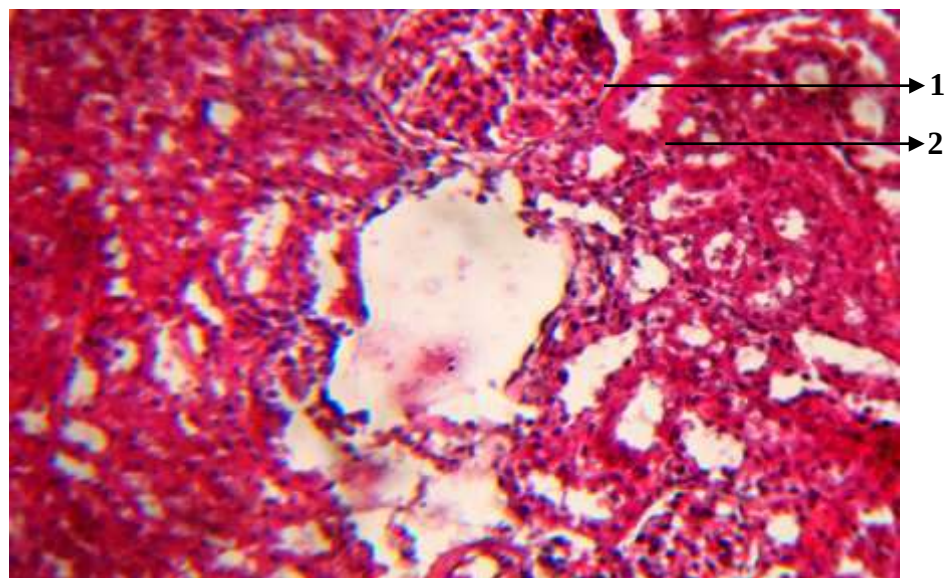
Hasil pengamatan histologis ginjal akibat induksi MSG dosis 0,84 gr/ekor/hr dan pemberian seduhan daun teh hijau dosis 0,015 gr/ekor/hr pada mencit yang diinduksi MSG dosis 0,84 gr/ekor/hr dapat dilihat pada Gambar 4.14 dan 4.15.



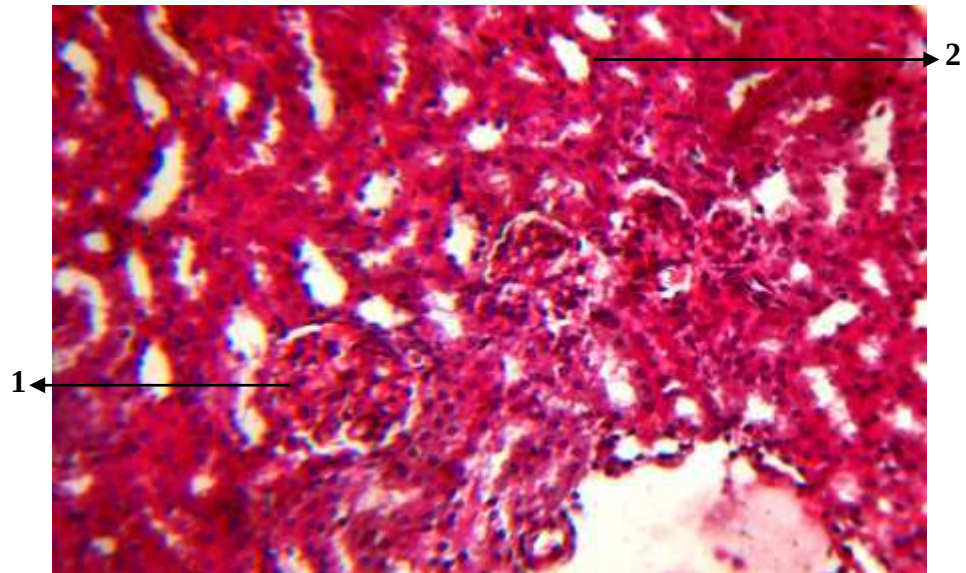
Gambar 4.12. Irisan melintang histologis ginjal pada mencit yang diberi akuades sebagai kontrol menunjukkan glomerulus dan tubulus proksimalis normal. Pewarnaan H & E dengan perbesaran 40 x. keterangan : 1. Glomerulus normal. 2. Tubulus proksimalis normal



Gambar 4.13. Irisan melintang histologis ginjal yang diberi seduhan daun teh hijau pada mencit tanpa induksi MSG menunjukkan glomerulus dan tubulus proksimalis normal. Pewarnaan H&E dengan perbesaran 40 x. Keterangan: 1. Glomerulus normal 2. Tubulus proksimalis normal



Gambar 4.14. Irisan melintang histologis ginjal pada mencit yang diinduksi MSG tanpa diberi seduhan daun teh hijau menunjukkan pembengkakan glomerulus dan tubulus proksimalis. Keterangan : 1. Glomerulus yang mengalami pembengkakan 2. Tubulus proksimalis yang mengalami pembengkakan. Pewarnaan H & E dengan perbesaran objektif 40 x.



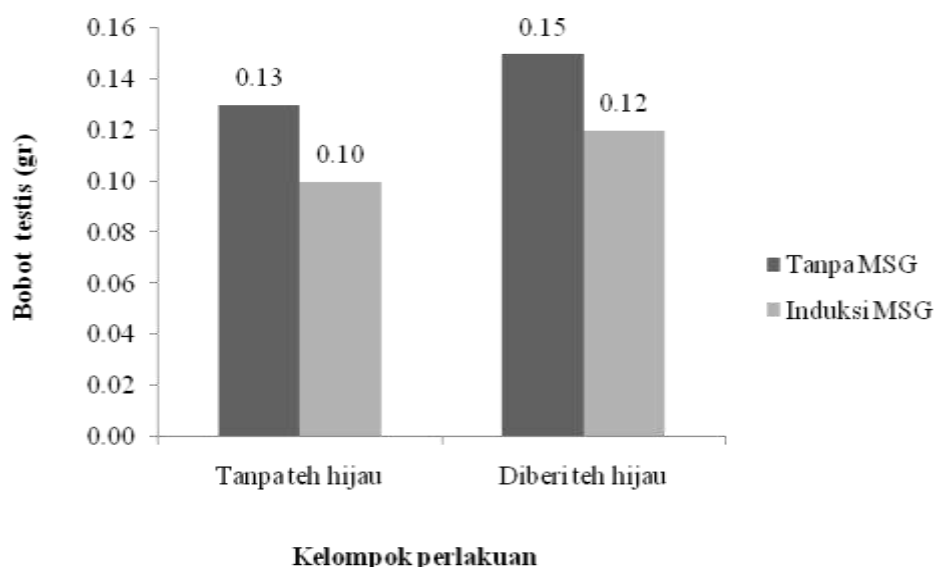
Gambar 4.15. Irisan melintang histologis ginjal setelah pemberian seduhan daun teh hijau pada mencit yang diinduksi MSG menunjukkan distribusi glomerulus dan tubulus proksimalis normal. Keterangan : 1. Glomerulus normal 2. Tubulus proksimalis normal. Pewarnaan H & E dengan perbesaran objektif 40 x.

4.3. Testis

Testis merupakan organ reproduksi jantan dengan struktur bagian dalam berisi tubulus seminiferus. Tubulus seminiferus terdiri atas bagian basal dan lumen serta dipisahkan oleh *tight junction* yang dibentuk oleh sel-sel sertoli. Keberadaan sel sertoli mempunyai peranan penting dalam mendukung pembelahan mitosis dan meiosis pada setiap tahap spermatogenesis. Dinamika tahap ini menyebabkan komponen penyusunan testis sangat rentan mengalami stres oksidatif (Marieb, 2006; Paul, 2007). Salah satu senyawa yang dapat memicu stres oksidatif adalah MSG.

4.3.1 Bobot testis

Hasil penelitian ini melaporkan, pemberian seduhan daun teh hijau mampu meningkatkan bobot testis pada mencit yang diinduksi MSG maupun tanpa induksi MSG (Gambar 4.16). Analisis statistik menunjukkan perbedaan secara nyata ($P < 0,05$) pada bobot testis yang diberi seduhan daun teh hijau pada mencit tanpa induksi MSG (Lampiran 14). Adapun, pemberian seduhan daun teh hijau pada mencit yang diinduksi MSG belum mampu menunjukkan perbedaan secara nyata ($P > 0,05$) (Lampiran 14).



Gambar 4.16. Hasil rata-rata bobot testis antar kelompok perlakuan pada mencit jantan.

Testis merupakan organ reproduksi jantan yang terdiri atas beberapa komponen, antara lain sel Leydig, sertoli, spermatogonia, spermatosit, spermatid, dan spermatozoa. Sel Leydig merupakan komponen jaringan interstisial yang berfungsi mensekresikan

testosteron dan menyusun 10-20% volume testis, sedangkan sel sertoli berperan sebagai nutrisi bagi perkembangan spermatogonia dan membentuk *Androgen Binding Protein* (ABP) untuk perkembangan spermatid. Sekresi ABP akan berinteraksi dengan sekresi testosteron dari sel Leydig sehingga berpengaruh pada sintesis sel-sel spermatogenik. Sel-sel spermatogenik merupakan komponen paling dominan penyusun volume testis. Kerusakan komponen tersebut menyebabkan perubahan bobot testis sehingga menimbulkan dampak gangguan fungsi pada testis.

Hasil penelitian ini menunjukkan, induksi MSG dosis 0,84 gr/ekor/hr memberi dampak pada penurunan bobot testis. Bukti tersebut didukung penelitian Nayatara *et al* (2008) yang melaporkan bahwa induksi MSG mengakibatkan kerusakan epitel germinativum secara nyata sehingga berpengaruh pada penurunan bobot testis. Bobot testis merupakan parameter yang digunakan sebagai indikator perubahan fungsi pada testis. Hal ini disebabkan bobot testis mempunyai korelasi positif dengan aktivitas spermatogenesis di dalam testis. Bukti lain melaporkan, induksi MSG selain memicu atropi atau apoptosis pada sel spermatogenik juga menyebabkan terjadinya kerusakan sel sertoli dan Leydig yang berpengaruh terhadap penurunan bobot testis (Boodnard *et al*. 2001).

Penurunan bobot testis secara progresif dapat dihambat dengan pemberian seduhan daun teh hijau yang berfungsi melindungi

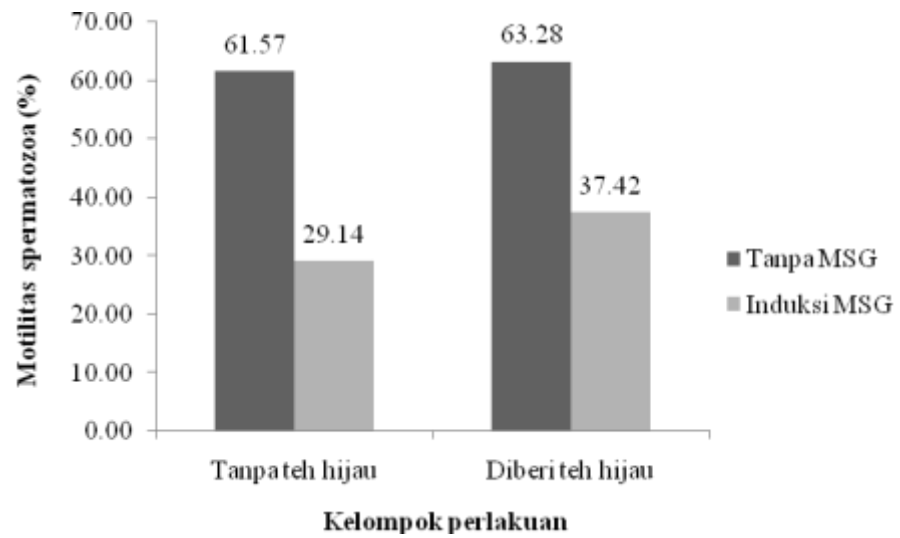
komponen penyusun testis akibat induksi MSG secara berlebihan. Hasil penelitian ini melaporkan, pemberian seduhan daun teh hijau 0,015 gr/ekor/hr mampu memberi peningkatan bobot testis pada mencit yang diinduksi MSG maupun tanpa induksi MSG. Hal ini didukung oleh penelitian Maina *et al.* (2008) yang menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun teh hijau dosis 8 gr/ekor/hr mampu mempertahankan dan meningkatkan spermatogenesis sehingga memberi peningkatan bobot testis pada tikus. Bukti penelitian lain melaporkan, pemberian ekstrak daun teh hijau mampu meningkatkan bobot testis pada tikus, meskipun belum memperlihatkan perbedaan secara nyata (Chandra *et al.* 2011).

Potensi teh hijau dalam menghambat stres oksidatif pada testis disebabkan adanya kandungan polifenol yang berperan sebagai antioksidan alami. Ostrowska *et al.* (2004) melaporkan, teh hijau mampu melindungi komponen penyusun testis dari peroksidasi lipid melalui mekanisme *scavenging* dengan cara menghambat dan memutus rantai reaksi radikal bebas pada testis.

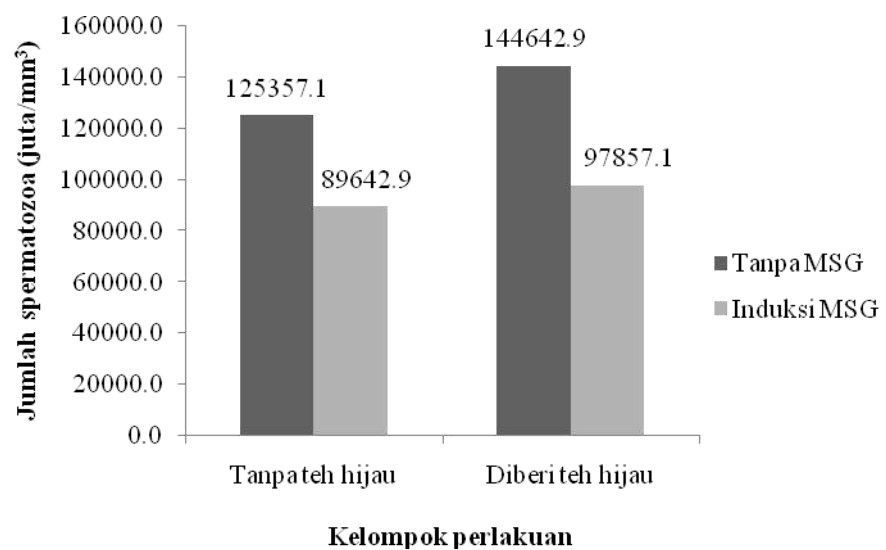
4.3.2. Motilitas dan Jumlah Spermatozoa

Hasil pengamatan motilitas dan jumlah spermatozoa mencit disajikan pada Gambar 4.17 dan 4.18. Hasil penelitian ini menemukan bukti bahwa pemberian seduhan daun teh hijau mampu meningkatkan motilitas dan jumlah spermatozoa pada mencit yang diinduksi MSG maupun tanpa induksi MSG. Analisis statistik menunjukkan perbedaan tidak nyata ($P > 0,05$) pada motilitas dan jumlah spermatozoa yang

diberi seduhan daun teh hijau pada mencit yang diinduksi MSG maupun tanpa MSG (Lampiran 15 dan 16).



Gambar 4.17. Hasil rata-rata motilitas spermatozoa antar kelompok perlakuan pada mencit jantan



Gambar 4.18. Hasil rata-rata jumlah spermatozoa antar kelompok perlakuan pada mencit jantan

Spermatozoa merupakan sel gamet jantan yang tersusun dari dua struktur dasar, yaitu kepala dan ekor. Struktur kepala mengandung substansi hereditas, sedangkan struktur ekor mengandung substansi fibril dengan selubung fibrosa yang berfungsi sebagai pendukung motilitas spermatozoa. Energi untuk motilitas spermatozoa disuplai dalam bentuk ATP atau adenosin trifosfat hasil sintesis dari mitokondria, sehingga kerusakan membran mitokondria akan memicu penurunan ATP yang berpengaruh pada gangguan motilitas spermatozoa (Faranita, 2009).

Induksi MSG secara berlebihan dapat mengakibatkan kerusakan membran sel yang menyebabkan gangguan fungsi spermatozoa. Induksi MSG mampu memicu peningkatan produksi radikal bebas yang berdampak pada terjadinya stres oksidatif. Kondisi ini dapat menimbulkan peroksidasi lipid membran mitokondria sehingga berakibat pada penurunan motilitas dan jumlah spermatozoa.

Mekanisme MSG dalam menurunkan motilitas dan jumlah spermatozoa diawali dengan pembentukan radikal bebas ROS. Peningkatan ROS selanjutnya akan memicu peroksidasi lipid membran mitokondria dan penurunan produksi ATP intraselular yang berpengaruh pada gangguan motilitas spermatozoa. Apabila kondisi ini terus berlanjut dapat menimbulkan kerusakan DNA dan memicu pelepasan sitokrom C yang menyebabkan terjadinya apoptosis atau

kematian sel sehingga berdampak pada penurunan jumlah spermatozoa (Sikka, *et al.* 1996).

Hasil penelitian ini menunjukkan, induksi MSG dosis 0,84 gr/ekor/hr menyebabkan penurunan motilitas dan jumlah spermatozoa secara nyata ($P < 0,05$) (Lampiran 15 dan 16). Beberapa penelitian telah menunjukkan hasil yang mendukung pendapat tersebut. Eweka dan Iniabohs (2008) melaporkan, induksi MSG 6 gr/ekor/hr menimbulkan dampak kerusakan sel-sel sertoli yang memicu penurunan motilitas dan jumlah spermatozoa pada tikus. Induksi MSG 4 gr/ekor/hr telah dilaporkan dapat meningkatkan produksi radikal bebas yang berakibat pada penurunan kadar asam askorbat sebagai antioksidan endogen pada testis. Penurunan kadar asam askorbat secara nyata, selanjutnya akan berpengaruh pada penurunan jumlah spermatozoa (Nayanatara *et al.* 2008).

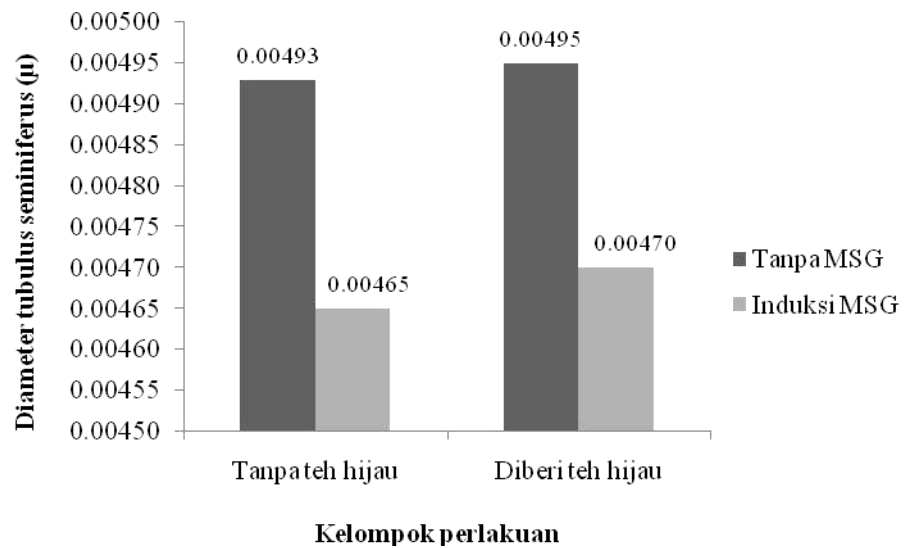
Motilitas dan jumlah spermatozoa testis mempunyai korelasi dengan kadar radikal bebas di dalam tubuh, antioksidan endogen, dan eksogen. Penelitian ini memberi bukti bahwa antioksidan eksogen memberi peningkatan pada motilitas dan jumlah spermatozoa. Gambar 4.17. dan 4.18. menunjukkan bahwa pemberian seduhan daun teh hijau dosis 0,015 gr/ekor/hr pada mencit yang diinduksi MSG maupun tanpa induksi MSG mampu meningkatkan motilitas dan jumlah spermatozoa. Hasil ini sesuai dengan penelitian Zowail *et al.* (2009) yang melaporkan bahwa pemberian ekstrak daun teh hijau dosis 10-15

gr/ekor/hr dapat menurunkan jumlah kematian spermatozoa pada tikus yang diinduksi *enrofloxacin*. Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun teh hijau dosis 500 mg/ekor/hr mampu menurunkan stres oksidatif yang ditandai dengan peningkatan motilitas dan jumlah spermatozoa pada tikus yang diinduksi *dexorubicin* (Sato *et al.* 2008).

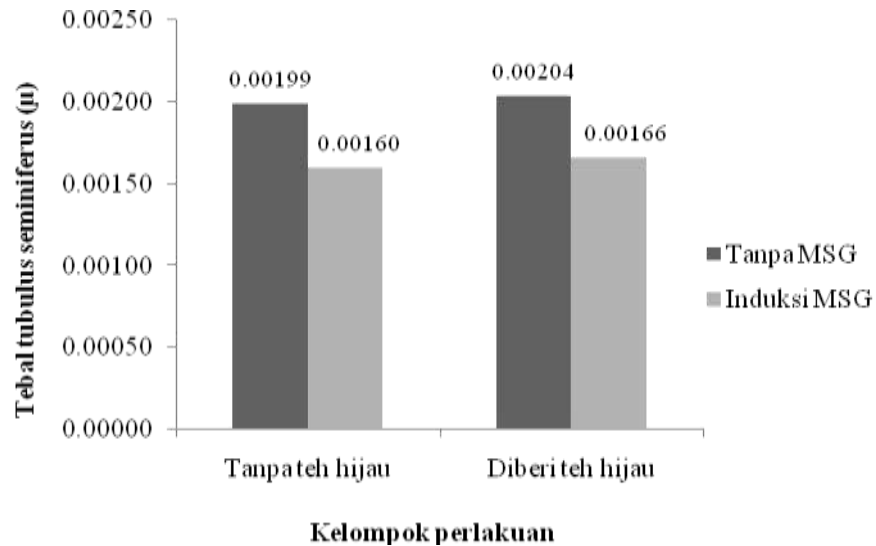
Mekanisme teh hijau dalam menghambat rantai reaksi radikal bebas akibat induksi MSG pada membran spermatozoa dilakukan dengan cara mengikat, memutus, dan mengubah radikal bebas menjadi senyawa yang kurang reaktif. Adanya mekanisme ini akan mempertahankan permeabilitas membran lipid spermatozoa dari serangan rantai reaksi radikal bebas yang bersifat reaktif (Kurniati *et al.* 2012).

4.3.3. Diameter dan tebal tubulus seminiferus

Hasil pengamatan diameter dan tebal tubulus seminiferus melaporkan, pemberian seduhan daun teh hijau mampu meningkatkan diameter dan tebal tubulus seminiferus pada mencit yang diinduksi MSG maupun tanpa induksi MSG (Gambar 4.19. dan 4.20.). Analisis statistik menunjukkan perbedaan tidak nyata ($P > 0,05$) terhadap diameter dan tebal tubulus seminiferus setelah diberi seduhan daun teh hijau pada mencit yang diinduksi MSG maupun tanpa induksi MSG (Lampiran 17 dan 18).



Gambar 4.19. Hasil rata-rata diameter tubulus seminiferus antar kelompok perlakuan



Gambar 4.20. Hasil rata-rata tebal tubulus seminiferus antar kelompok perlakuan

Tubulus seminiferus merupakan struktur bagian dalam testis yang mengandung beberapa komponen, antara lain sel sertoli, spermatogonia, spermatosit, spermatid, dan spermatozoa (Mader,

2001). Kerusakan komponen tubulus seminiferus akibat induksi senyawa kimia yang berpotensi toksik dapat berpengaruh pada ukuran diameter dan tebal tubulus seminiferus secara nyata. Hal ini dibuktikan pada Gambar 4.19. dan 4.20. yang menunjukkan bahwa induksi MSG dosis 0,84 gr/ekor/hr menimbulkan dampak penurunan diameter dan tebal tubulus seminiferus.

Nayanatara *et al.* (2008) melaporkan, induksi MSG dosis 4 gr/ekor/hr mengakibatkan penurunan kadar asam askorbat, disertai kerusakan spermatogonium pada tubulus seminiferus. Pemberian MSG dosis 6 gr/ekor/hr juga menimbulkan dampak kerusakan sel sertoli dan Leydig yang berpengaruh pada gangguan spermatogenesis pada tikus jantan (Eweka dan Iniabohs, 2008). Bukti penelitian lain menunjukkan, induksi MSG dosis 2 mg/ekor/hr menyebabkan peningkatan radikal bebas yang memicu degenerasi, penurunan jumlah spermatogonia, penyusutan diameter, dan tebal tubulus seminiferus pada mencit (Das dan Gosh, 2012).

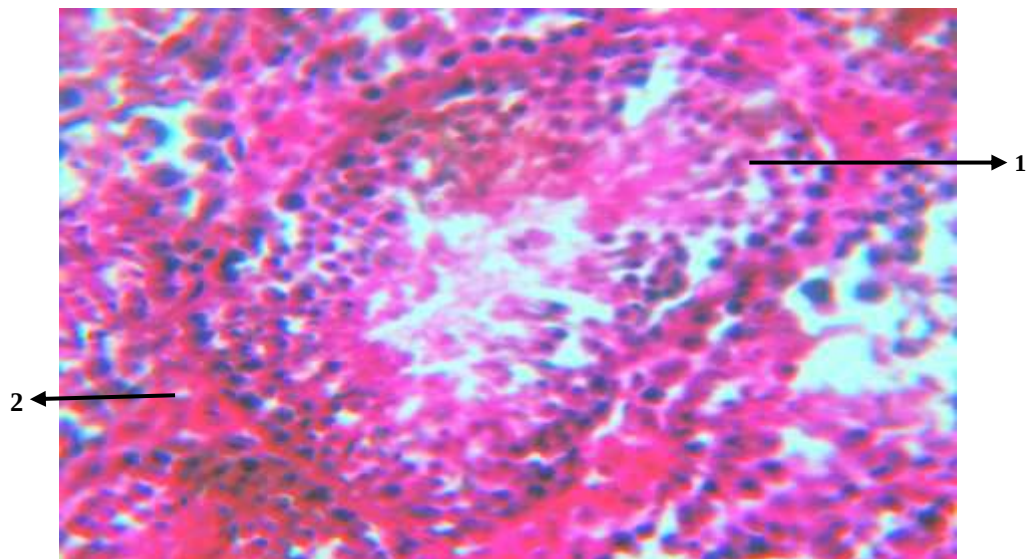
Peningkatan radikal bebas di dalam tubulus seminiferus menyebabkan peroksidasi lipid membran sel sehingga menimbulkan dampak kerusakan pada sel spermatogenik. Peroksidasi lipid selanjutnya akan memicu kerusakan fungsi dan integritas membran spermatogenik sehingga berpengaruh pada penurunan diameter dan tebal tubulus seminiferus (Laksmi, 2010).

Pengaruh MSG terhadap tubulus seminiferus testis diawali dengan induksi MSG secara oral, masuk ke dalam intestinum, dan mengalir melalui pembuluh darah menuju saluran sirkulasi tunggal atau vena porta hepatica pada hepar. Selanjutnya, lewat sirkulasi darah MSG mengalir ke arah jantung dan terdistribusi di dalam testis sebagai organ target. Apabila induksi MSG terjadi secara berlebihan akan memicu peningkatan rantai reaksi radikal bebas yang mengakibatkan peroksidasi lipid membran sel sertoli dan spermatogenik sebagai komponen penyusun tubulus seminiferus pada testis.

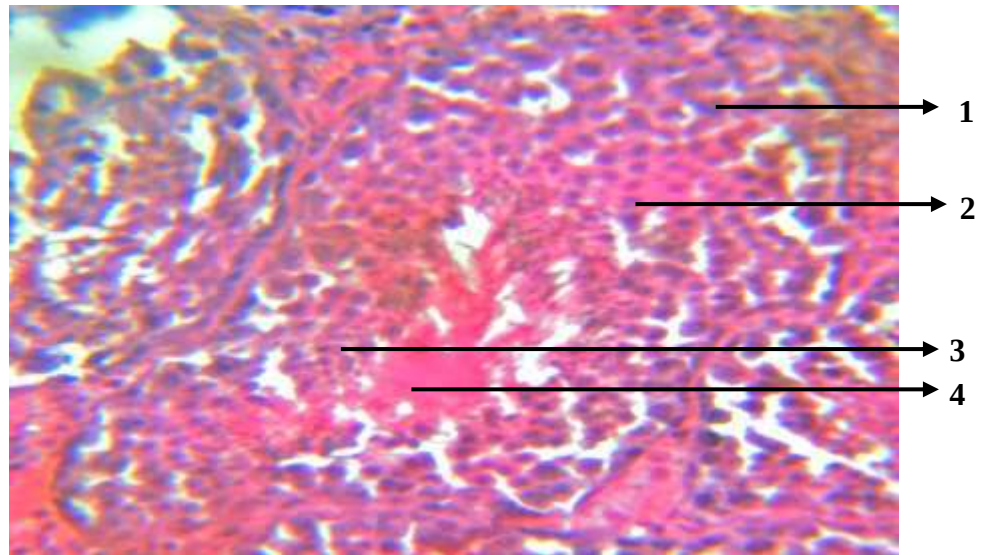
Teh hijau merupakan sumber antioksidan eksogen yang terbukti dapat menghambat peningkatan rantai reaksi radikal bebas di dalam testis. Hasil penelitian ini memberi bukti, pemberian seduhan daun teh hijau dosis 0,015 gr/ekor/hr dapat menghambat, mengikat, dan mencegah kerusakan membran sel yang diakibatkan oleh radikal bebas pada komponen testis mencit, baik yang diinduksi MSG maupun tanpa induksi MSG. El-Megeid (2009) melaporkan, teh hijau memiliki kandungan flavonoid yang berfungsi menghambat rantai reaksi radikal bebas pada testis. Adanya gugus hidroksil pada flavonoid berfungsi menghambat, memutus, dan menghentikan rantai reaksi radikal bebas di dalam tubuh (Ren *et al.* 2003). Lebih lanjut dilaporkan, pemberian ekstrak daun teh hijau dosis 40 mg/ekor/hr dapat memperbaiki fungsi testis pada mencit yang diinduksi nikotin. Perbaikan fungsi pada testis

ditandai oleh peningkatan diameter dan tebal epitel tubulus seminiferus (Gawish *et al.* 2010).

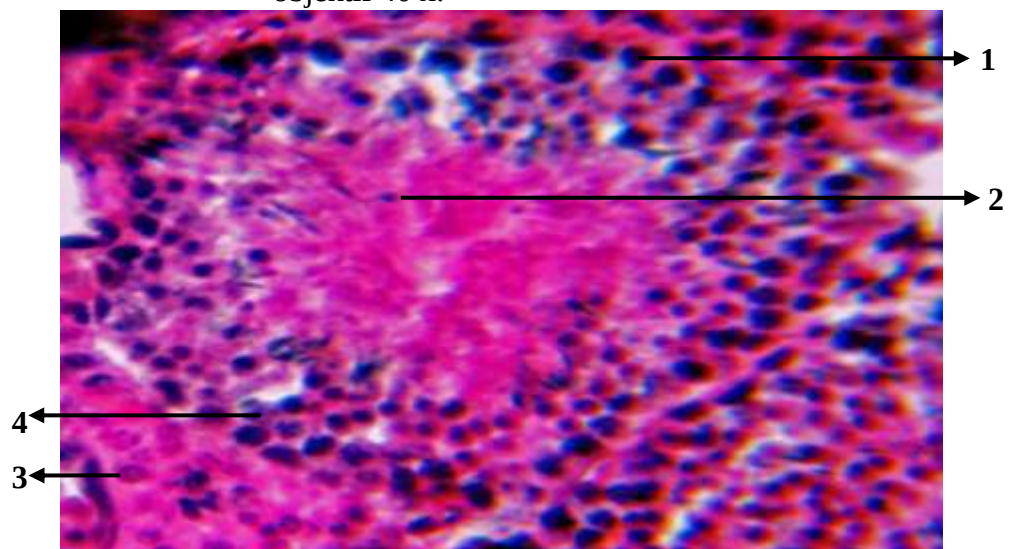
Perubahan histologis testis pada mencit yang diinduksi MSG dosis 0,84 gr/ekor/hr ditandai adanya degenerasi atau kerusakan tubulus seminiferus, penurunan populasi spermatogonium, dan spermatozoa (Gambar 4.23). Adapun, pemberian seduhan daun teh hijau dosis 0,015 gr/ekor/hr pada mencit yang diinduksi MSG mampu menghambat kondisi stres oksidatif yang ditandai dengan peningkatan ukuran diameter dan tebal tubulus seminiferus dibanding kelompok mencit hasil induksi MSG tanpa diberi seduhan daun teh hijau (Gambar 4.24).



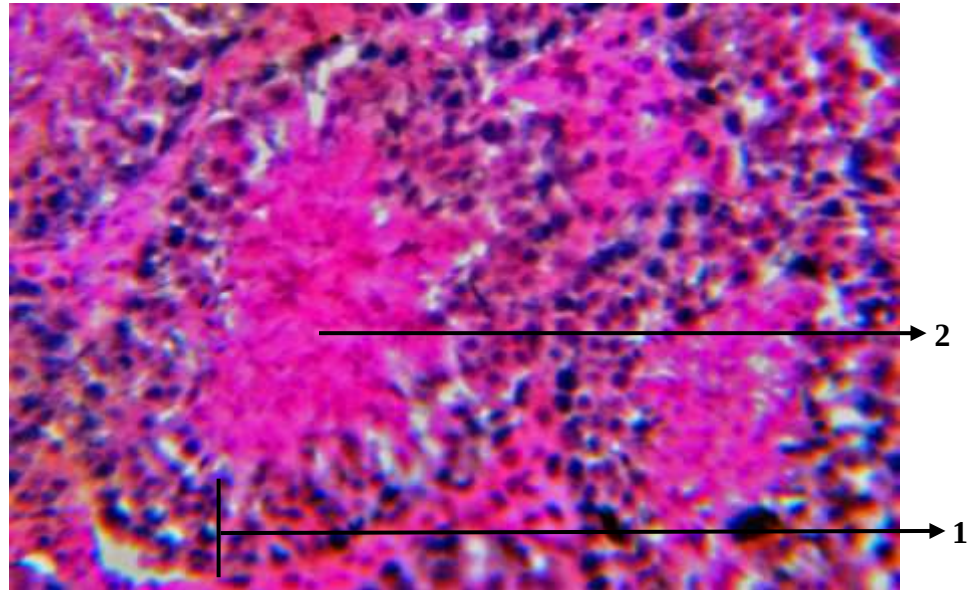
Gambar 4.21. Irisan melintang histologis testis pada mencit yang diberi akuades menunjukkan tubulus seminiferus normal. Pewarnaan H & E dengan perbesaran objektif 40 x. Keterangan : 1. Tubulus seminiferus 2. Sel interstitial



Gambar 4.22. Irisan melintang histologis testis setelah diberi seduhan daun teh hijau pada mencit yang tidak diinduksi MSG menunjukkan tubulus seminiferus berisi populasi spermatogonia, spermatosit, dan spermatozoa yang memenuhi lumen. Keterangan : 1. Spermatogonia 2. Spermatosit 3. Spermatozoa 4. Lumen. Pewarnaan H & E dengan perbesaran objektif 40 x.



Gambar 4.23. Irisan melintang histologis testis pada mencit yang diinduksi MSG tanpa diberi seduhan daun teh hijau menunjukkan tubulus seminiferus berisi populasi spermatogonia dan spermatozoa yang berkurang dan tidak memenuhi lumen. Keterangan : 1. Spermatogonia 2. Spermatozoa 3. Sel Leydig. 4. Sel sertoli. Pewarnaan H & E dengan perbesaran objektif 40 x.



Gambar 4.24. Irisan melintang histologis testis pada mencit yang diberi seduhan daun teh hijau setelah diinduksi MSG. Keterangan : 1. Tebal tubulus seminiferus 2. Lumen tubulus seminiferus. Pewarnaan H & E dengan perbesaran objektif 40 x.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, terdapat interaksi antara MSG dan teh hijau terhadap diameter hepatosit. Hal ini menunjukkan bahwa teh hijau dosis 0,015 gr/ekor/hr mampu memperbaiki kerusakan pada hepatosit akibat induksi MSG dosis 0,84 gr/ekor/hr.

Pemberian MSG dosis 0,84 gr/ekor/hr mengakibatkan penurunan bobot hepar, ginjal, testis, diameter atau tebal tubulus seminiferus, jumlah atau motilitas spermatozoa, peningkatan diameter hepatosit, glomerulus, tubulus proksimalis, kadar SGPT dan SGOT secara nyata. Adapun, pemberian seduhan daun teh hijau dosis 0,015 gr/ekor/hr belum berpengaruh secara nyata pada peningkatan bobot hepar, ginjal, testis, diameter atau tebal tubulus seminiferus, jumlah atau motilitas spermatozoa, penurunan diameter glomerulus, tubulus proksimalis, kadar SGPT dan SGOT pada mencit, baik yang diinduksi MSG maupun tanpa induksi MSG.

5.2. Saran

1. Pemberian seduhan daun teh hijau sebaiknya dilakukan dengan dosis bertingkat sebesar 1 gr, 2 gr, 3 gr, 4 gr, dan 5 gr sehingga diperoleh dosis optimum atau terbaik dari daun teh hijau dalam memperbaiki fungsi organ tubuh, khususnya pada hepar, ginjal, dan testis.

2. Perlu dilakukan uji fraksinasi terlebih dahulu supaya diperoleh informasi secara detail tentang kadar polifenol yang terkandung di dalam setiap dosis daun teh hijau
3. Untuk memperoleh data yang lebih luas mengenai dampak reversibel atau ireversibel dari penggunaan MSG secara berlebihan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang induksi MSG pada mencit dengan rentang waktu yang lebih lama.
4. Berdasarkan nilai konversi dosis aman MSG pada mencit ke manusia, dihasilkan nilai rekomendasi batas maksimal penggunaan MSG sebagai bahan aditif makanan yang dapat dikonsumsi manusia sebesar 3 gr/bb/hr.

DAFTAR PUSTAKA

- Administration, U. S. F. A. D. 1996. *Monosodium Glutamate (MSG)*. FDA Medikal Bulletin, 26, November I.
- Agarwal A., et al. 2005. *Oxidative Stress, DNA Damage and Apoptosis in Male Infertility : A Clinical Approach*. BJU International.
- Agarwal, A., Gupta S., and Sikka, S. 2006. *The Role of Free Radicals and Antioxidants in Reproduction Human Reproduction, Infertility and Sexual Function*, Glickman Urological Institute and Department of Obstetrics and Gynecology, The Cleveland Clinic Foundation, Curr Opin Obstet Gynecol 18:325–332.
- Akbar, A.A. Daryoush, M. Ali, R. and Mehrdad, R. 2012. Green Tea Attenuates Hepatic Tissue Injury in STZ-Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 11 (12) : 2081-2090
- Al-agma, D.S. 2008. *Histological, Histochemical and Ultrastructural Studies on the Kidney of Rats After Administration of Monosodium Glutamate*. Biology Department, Faculty of Science, Al-Aqsa University, Gaza, Palestine.
- Ali, H.T. 2007. *Beneficial Effects Of Nigella sativa On The Testis tissues Of Mice Exposed to UV Irradiation*. Biology Department / Educationan college / Mosul University.
- Amic, D. Dusanka, D. Drago, B. and Nenad, T. 2003. Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids. *Croatica Chemica Acta* 76 (1) 55-61.
- Anggara U. 2000. *Aditif Makanan dan Obat-obatan*. Pusat Penyelidikan Racun Negara (USM). Jurnal Kedokteran Malaysia 2:19-23
- Arif, S. 2006. *Radikal bebas*. [www. FKUnair.com](http://www.FKUnair.com). Diakses tanggal 30 April 2012.
- Bhattacharya. T, Bhakta. A, and Ghosh, S.K. 2011. Long Term Effect of Monosodium Glutamate in Liver of Albino Mice After Neo-Natal Exposure. *Nepal Med Coll J*; 13(1): 11-16
- Boodnard, I., Gooz, P., Okamura, H., Toth, B.E., Halasz, B., and Nagy, G.M. 2001. Effect of Neonatal Treatment with Monosodium Glutamate on Dopaminergic and DOPA Neurons of The Medial Basal Hypothalamus on Prolactin and MSH Secretion of Rats. *Brain Res. Bull.*, 55, pp. 767-774.
- Cahyadi, W. 2008. *Analisis dan Aspek Kesehatan : Bahan Tambahan Pangan*. Bumi Aksara : Jakarta.
- Cao, G., Sofic, A. and Prior, R.L. 1998. Free Radical. *Biol. Med* 749–760

- Chacko, S. Thambi, T. Kuttan, R. and Nishigaki. 2010. Beneficial effects of green tea: A literature review. *Chinese Medicine* 5:13
- Chandra, A. K. Choundry, S. R. De, N. and Sakran, M. 2011. Effect of Green Tea (*Camellia sinensis* L.) on Morphological and Functional Changes in Adult Male Gonads of Albino Rats. *Indian J.Exp.Biol.*, 49: 689-697.
- Chaturvedula, V.S.P and Prakash, I. 2011. *The aroma, taste, color and bioactive constituents of tea*. Journal of Medicinal Plants Research Vol. 5(11)
- Chodidjah, Isradji, I. dan Nalapraya, N. 2009. Pengaruh Pemberian Tepung Tempe terhadap Motilitas Spermatozoa Mencit. *Sains Medika*, Vol. 1. No. 2.
- Cook, NC, and Samman. 2006. S. Flavonoids : Chemistry, Metabolism, Cardioprotective Effects and Dietary Sources. *Nutritional Biochemistry* 7: 66-76.
- Cruz, C.S., Jubendradas, R., Amala, J.S., Jayakanthan, M. and Mathur, P. 2012. Bisphenol a. Impairs Insulin Signaling and Glucose Homeostatis and Decreases Stroidogenesis in Rat Testis : An In Vivo Study. *Food and Chemical Toxicology*. Volume 50, hal : 41124–1133.
- Cushnie, T.P.T and Lamb, AJ. 2005. Antimicrobial Activity of Flavonoids. *International Journal Of Antimicrobial Agents*; 26: 343-356
- Das, R.S. and Gosh, S.K. 2012. Long Term Effect of Monosodium Glutamat on Spermatogenesis Following Neonatal Exposure in Albino Mice A Histologiscal Study. *Nepal Med Coll J* ; 12 (3):149-153
- Demeule, M. Levesque, J.M. Annabi, B. Gingras, D. Boivin, D. Jodoin, J. Lamy, S. Bertrand, S. and Beliveau, R. 2002. *Green Tea Catechins as Novel Antitumor and Antiangiogenic Compounds*
- Devasagayam, P.A. Tilak, J.C. Bloor, K.K. , Sane, K., Ghaskadbi, S.S., and Lele, R.D. 2004. Free Radicals and Antioxidants in Human Health: Current Status and Future Prospects *JAPI* : Vol. 52
- Dewi, K. 2007. *Pengaruh Ekstrak Teh Hijau (Camelia sinensis) terhadap Penurunan Berat Badan, Kadar Trigeliserida, dan Kolesterol Total Pada Tikus Jantan Galur Wistar*. Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha : Bandung
- Dimitrios, B. 2006 *Sources of natural phenolic antioxidants aboratory of Food Chemistry and Technology*, School of Chemistry, Aristotle University of Thessa-loniki.
- Diniz, Y.S, Fernandez, A., Campos, K. and Mani, F. 2004. Toxicity of hypercaloric diet and monosodium glutamate : Oxidative stress and metabolic shifting in hepatic tissue. *Food Chem Toxicol*. 42:313- 319
- Droge W. 2002. *Free Radicals in The Physiological Control of Cell Function*. *Physiol Rev*. 82;:47-95.

- El-Agouza, M.A., El-Nashar, E.D. and. Eissa, S.S. 2010. The Possible Ultra Structural Ameliorative Effect of Taurine in Rat's Liver Treated with Monosodium Glutamate (MSG). *The Open Hepatology Journal*, 2 : 1-9
- El-Daly. A. 2011. The Protective Effect of Green Tea Extract Againsts Enrofloxacin Action on The Rat Liver : Histological, Histochemical, and Ultrastructural Studies.. *Journal American Science* 7 (4) : 669-679.
- El-Megeid A.A., AbdAllah, Z.A., Elsadek, M.F. and El-Moneim F. 2009 The Protective Effect of the Fortified Bread with Green Tea Against Chronic Renal Failure Induced by Excessive Dietary Arginine in Male Albino Rats. *World Journal of Dairy & Food Sciences* 4 (2): 107-117.
- Elpiana, 2011. *Pengaruh MSG Terhadap Kadar Hormon Testosteron dan Berat Testis Pada Tikus Putih Jantan (Rattus Norvegicus)*. Tesis. Program Studi Biomedik Universitas Andalas : Padang.
- El-Shahat, Gabr, Meki, R. and El-Mehana. 2009. Altered Testicular Morphology and Oxidative Stress Induced by Cadmium in Experimental Rats and Protective Effect of Simultaneous Green Tea Extract. *Int. J. Morphol.* 27(3):757-764.
- Enny, Y. dan Koen, P. 2001. *Petunjuk Praktikum Fisiologi Hewan. Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Hewan*. Fakultas MIPA Universitas Diponegoro.
- Eweka, O.A. and Iniabo, F.A.E. 2008. Histological Studies of The Effect of Monosodium Glutamat on The Testis of Adult Wistar Rats. *The Internet Journal of Urology* : 1528-8390.
- Faranita, O.V. 2009. *Kualitas Spermatozoa Pada Tikus Wistar Jantan Diabetes Melitus*. Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang.
- Farombi, E.O. and Onyema, O. 2006. *Monosodium Glutamat induced damaged and Genotoxicity in The Rat : Modulatory Role of Vitamin C, Vitamin E, and Quercetin*. *Hum Exp Tox* 25 : 251-259.
- Fauzi, M.T. 2008. *Pengaruh Pembelian Timbal Asetat dan Vitamin C terhadap Kadar MDA dan Kualitas Spermatozoa di Dalam Sekresi Epididimis Mencit Albino Strain Balb/c*. Tesis. Sekolah Pascasarjana Universitas Sumatera Utara. Medan
- Garattini, S. 2000. *Glutamic Acid, Twenty Years Later*. American Society for Nutritional Sciences.
- Gawish, A.M., Issa, A.M. Basilly. N.H and Manaa M.S. 2012. *Role of green tea on nicotine toxicity on liver and lung of mice: Histological and morphometrical studies*. *African Journal of Biotechnology* Vol. 11(8), pp. 2013-2025

- Gawish, A.M., Issa, A.M. Ramadan S., and Hassan A.M., 2010. *Morphometrical, Histopathological, and Cytogenetical Ameliorating Effects of Green Tea Extract on Nicotine Toxicity of the Testis of Rats*. J Cytol Histol 1:105. doi:10.4172/2157-7099.1000105 .
- Geha R., Beiser, A., Ren, C. Petterson., R. Greenberger, P., Grammer., L., Ditto, A., Harris.K., Saughnessy, M., Yarnold., P., Corrent. J and Saxon, A. 2000. *Review of Alleged reaction to Monosodium Glutamate and Outcome of A Multicenter Double Blind Placebo Controlled Study*. The Journal of Nutrition, 130, 1058 S-1062S.
- Godwin A. Sina I., Benjamin A. 2010. Histological and biochemical markers of the liver of Wistar rats on subchronic oral administration of green tea. *North American Journal of Medical Sciences* : Volume 2. No. 8.
- Hanafiah, A.K. 2011. *Rancangan Percobaan : Teori dan Aplikasi*. PT. Raja Grafindo Persada : Jakarta
- Heim, KE, Tagliaferro, AR, Bobliya, DJ. 2002. Flavonoids antioxidants: Chemistry, metabolism and structure activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*; 13: 572-584.
- Horakova, L. 2011. Flavonoids in prevention of diseases with respect to modulation of Ca-pump function. *Interdiscip Toxicol*; Vol. 4(3): 114–124.
- Hsu S.P., Chien C.T., Ming S. W., Chih C. Y., Kuo C.H., Shaw-Y. L. and Su M. H. 2007. *Chronic green tea extract supplementation reduces hemodialysis-enhanced production of hydrogen peroxide and hypochlorous acid, atherosclerotic factors, and proinflammatory cytokines 1–3*. Am J Clin Nutr 86:1539–47.
- Ibrahim, A.M., Buhari, O.G., Aliyu B., Yunusu, I., Bisala, M. 2011. Amelioration of Monosodium Glutamate Induced Hepatotoxicity by Vitamin C. *European Journal of Scientific Research*. Vol.60 No.1 (2011), pp. 159-165.
- Inkielewicz, I. and Krechniak. 2003. *Fluoride Content in Soft Tissues And urine of Rats Exposed to Sodium Fluoride in Drinking Water, Fluoride*. Vol. 36 No. 4 263-266.
- Isnaeni, W. 2006. *Fisiologi Hewan*. Kanisius : Jakarta
- Issabeagloo, E. Ahmadpoor, F. Kermanizadeh, P. Taghizadieh, M. 2012 Hepatoprotective Effect of Green Tea on Hepatic Injury Due to Leflunomide in Rat. *Asian J.Exp.Biol. Sci*. Vol 3 (1): 136 – 141
- Janeiro, P. and Brett, O.M.A. 2004; Catechin electrochemical oxidation mechanisms. *Analytica Chimica Acta*; 518 : 109–115
- Kadkhodae M, Khastar H, Faghihi M, Ghaznavi R and Zahmatkesh M. 2005. Effects of Co-Supplementation of Vitamins E and C on Gentamicin-Induced Nephrotoxicity in Rat. *Exp. Physiol*. 90: 571-576

- Kim K.H., Joo K.J., Park H.J., Kwon C.H., Jang M.H., et al. 2005. *Nicotine Induces Apoptosis In TM3 Mouse Leydig Cells*. *Fertil Steril* 83: 1093-1099.
- Kurniati, R. Aryani, R. dan Ibrahim, S. 2011. Jumlah dan Motilitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L) yang Dipapari Obat Nyamuk Elektrik Berbahan Aktif D-Allethrin. *Mulawarman Scientifie*, Volume 10, Nomor 2
- Laksmi, I.D.N.D. 2010. Glutathion Meningkatkan Kualitas Tubulus Seminiferus Pada Mencit yang Menerima Latihan Fisik Berlebih. *Buletin Veteriner Udayana*. Vol 2. No. 1. 11-19.
- Linderman B, Ogiwara Y et al. 2002, *The Discovery of Umami, Chemical Senses*. Univercity des Sarlandes, Medical faculty.
- Lu, F.C. 2008. *Toksikologi Dasar*. UI Press : Jakarta
- Mader, S. 2001. *Human Biology. Second edition*. Brown Publisher : USA.
- Madesh, M and Hajnoczky, G. 2001. VDAC-Dependent Permeabilization of The Outer Mitochondrial Membrane by Superoxide Induces Rapid and Massive Cytochrome c Release. *J Cell Biol* 155:1003-1015.
- Mahmoud, M .S. and Hamid, M.A. 2012. *Green Tea Extract Ameliorates Liver and Pituitary Gland Toxicity Induced by Diethylnitrosamine in Male*. *Journal of America Science* : 8 (3).
- Maina, M.B. Garba, S.H. and Jacks, T.W. 2008. Histologiscal Evaluation of The Rats Testis Following Administration of a Herbal Tea Mixture. *Journal of Pharmacology and Toxicology* 3 (6) : 464-470
- Marieb, E. 2006. *Essentials of Human Anatomy and Phisiology*. eight edition. Pearson Benjamin Cummings, New York.
- Marwa A. A.and Manal R. A.2011. Evaluation of Monosodium Glutamate Induced Neurotoxicity and Nephrotoxicity in Adult Male Albino Rats. *Journal of American Science* 7 : (8)
- Michalopoulos GK, De Frances MC. 1997. *Liver regeneration*. *Science*; 276: 60.7
- Middleton Jr., Kandaswami, C. and Theoharides, T.C. 2000. *Pharmacol. Rev.* 52 : 673–751.
- Narayanan, N.S. Kumar, S.R. Paval, J. and Nayak, S. 2010. Effect of Ascorbic Acid on The Monosodium Glutamat–induced Neurobehavioral Changes in Periadolescent Rats. *Bratisl Lek Listy* : 111 (5) 247-252.
- Nayanatara, A. Vinodini, N., Damodara, G., Ahamed, B., Ramaswamy., Shabarinath and Bhat, R. 2008. *Effect of Monosodium Glutamate-induce Oxidative Damage on Rat Testis*. *Journal Of Chine Clinical Medicine*, 3, 370-373.
- Nayatara, A.K., Vinodini, N.A., Damodar, G., Ahmed, B., Ramaswamy, C.R., and Shabarienth, S. (2008) Role of Ascorbic Acid in Monosodium Glutamate

- Mediated Effect on Testicular Weight, Sperm Morphology and Sperm Count in Rat testis. *Journal of Chinese clinical Medicine*, 3(1), pp. 1-5.
- Ngatidjan. 1991. *Petunjuk Laboratorium Metode laboratorium dalam Toksikologi*. Pusat Antar Universitas Bioteknologi UGM. Yogyakarta, pp: 94-152.
- Noor, A. N. and Mourad, M.I. 2010 Evaluation of Antioxidant Effect of Nigella sativa oil on Monosodium Glutamate-Induced Oxidative Stress in Rat Brain. *Journal of American Science* 6 : (12)
- Nosseir, S.N., Ali, M.H and Ebaid, M.H. 2008. *A Histological and Morphometric Study of Monosodium Glutamate Toxic Effect on Testicular Structure and Potentiality of Recovery in Adult Albino Rats*. Research Journal of Biology, Vol. 02, Issue 02, pp. 66-78
- Onyema, O.O. Farombi, O.E. Emerole, O.G. Ugoha, I.A. and Onyeze, O.G. 2006. Effect vitamin E on Monosodium Glutamat Induced Hepatotoxicity and Stres Oxidative in Rats. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics Vol 43 pp 20-24*
- Ostrowska, J.Luczaj W. Kasacka, I. Rozanski, A. and Skrzydlewska, E. 2004. Green Tea Protects Against Ethanol Induced Lipid Peroxidation in Rat Organs. *Journal of American Science* : 32: 25 –32.
- Ozdamara, A.S. et al. 2004. *Testicular oxidative stress*. Urologia Internationalis.
- Paul, R. 2007. <http://www.healthhaven.com>. Diakses tanggal 12 September 2011
- Pavlovic, V. Dusica, P. Gordana, K. Dusan, S. Tatjana, J.S. Snezana, C. Dragana, V. 2007. Effect of Monosodium Glutamate on Oxidative Stress and Apoptosis in Rat Thymus *Mol Cell Biochem* 303:161–166
- Perron, R.N. and Brumaghim, L.J. 2009. A Review of the Antioxidant Mechanisms of Polyphenol Compounds Related to Iron Binding. *Cell Biochem Biophys* ; 53:75–100
- Raheem, A.I. El-Sherbiny and Ashraf T. 2010. Green Tea Ameliorates Renal Oksidatif Damage Induced by Gentamicin in Rats. *J. Pharm. Sci.*, Vol.23, No.1, pp.21-28
- Ramanathan, M., Sivakumar, S. Anandvijayakumar, P.R. Saravanababu, C. and Pandian, R.P. 2007. Neuroprotective Evaluation of Standardized Extract of Centella Asiatica in Monosodium Glutamate Treated Rats. *Indian Journal of Experimental Biology Vol 45 : pp 425-231*.
- Ren, W, Qiao, Z, Wang, H, Zhu, L, Zhang, L. 2003. Flavonoids: Promising Anticancer agents. *Medicinal Research Reviews*; 23: 519-534
- Roach, P.D. Vuong, Q.V., Nguyen, V and Golding, J.B. 2011. *The content of Bioactive Constituents as a Quality Index for Vietnamese*. International Food Research Journal 18: 329-336

- Rohdiana, D. 2001. *Aktivitas Daya Tangkap Radikal Polifenol Dalam Daun Teh*, Majalah Jurnal Indonesia 12, (1), 53-58.
- Rudzinka, Gramza, Lemanska, Korczak and Wsowicz 2005. *Tea Extracts as Free Radical Scavengers*. Department of Food Technology and Human Nutrition, Agricultural University, Wojska Polskiego 31, 60-624 Poznan, Poland.
- Sabri,E., Supriharti, D., dan Utama, E.G. 2006. *Efek Perkembangan Monosodium Glutamat (MSG) terhadap Perkembangan Embrio Mencit Selama Periode Praimplantasi Hingga Organogenesis*. Jurnal Biologi Sumatera. Hlm 8-14.
- Sandhar, K.H. Bimlesh, K., Prasher, S., Prashant, T., Salhan, M. and Sharma, P. 2011. A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids. *International Pharmaceutica Scientia. Vol 1. Issue 1*.
- Sara, A.K. Priyamvada, S. Khan, W. Khan, S. Farooq, N. Ahad N.K. and Yusufi. 2009. Studies on The Protective Effect of Green Tea Against Cisplatin Induced Nephrotoxicity. *Pharmacological Research* 60 : 382–391
- Sasazuki, S.; Inoue, M.; Hanaoka, T.; Yamamoto, S.; Sobue, T. and Tsugane, S. 2004: *Green Tea Consumption and Subsequent Risk of Gastric Cancer by Subsite: The JPHC Study*. *Cancer Causes Control*, 15: 483-491
- Sato, K. Sueoka, K., Tanigaki, R., Tajima, H., Nakabayashi, A., Yoshimura, Y. and Hosoi, Y. 2010. Green tea extracts attenuate doxorubicin-induced spermatogenic disorders in conjunction with higher telomerase activity in mice. *J Assist Reprod Genet* 27:501–508
- Sikka, *et al.* 1996. *Oxidative stress and role of antioxidants in normal and abnormal sperm function*. *Frontiers in Bioscience*.
- Silan C, Uzun O, Comunoğlu NU, Gokçen S, Bedirhan S and Cengiz M. 2007. Gentamicin Induced Nephrotoxicity in Rats Ameliorated and Healing Effects of Resveratrol. *Biol. Pharm. Bull.*, 30: 79-83.
- Singh and Ahluwalia. 2002. Studies on The Effect Of Monosodium Glutamate (MSG) Administration on The Activity of Xantine Oxidase, Superoxide Dismutase And Catalase In Hepatic Tissue Of Adult Male Mice. *Journal of Clinical Biochemistry*, 17 (1) 29-33
- Singh, R. Akhtar,N. and Haqqi, M.T. 2010. Green Tea Polyphenol Epigallocatechin-3-Gallate: Inflammation and Arthritis. *Life Sci.* 86 (25-26): 907–918
- Sriram N, Kalayarasan S, Sudhandiran G. 2008. *Enhancement of Antioxidant Defense System by Epigallocatechin-3- gallate during Bleomycin Induced Experimental Pulmonary Fibrosis*. *Biol Pharm Bull* 31: 1306-1311.
- Stegink, L.D. 1984. *Aspartate and glutamate metabolism*. *Aspartame: physiology and biochemistry*, pp. 47-76.

- Subowo. 2002. *Histologis Umum*. Jakarta : Bumi Aksara
- Sunarni,T. 2005. Aktivitas Antioksidan Penangkap Radikal Bebas Beberapa kecambah Dari Biji Tanaman Familia Papilionaceae. *Jurnal Farmasi Indonesia* 2 (2), 2001, 53-61.
- Syaifuddin. 2009. *Anatomi Tubuh Manusia*. Salemba Medika : Jakarta.
- Taub R. 1996. *Liver regeneration in health and disease*. Clin Lab Med 16: 34
- Vinodini, N.A., Nayanatara A.K., Damodar, G., Ahemed, B., Ramaswamy, C.R., Shabarianth, and Rhamesh Bat, M. 2010. Study Evaluation of Monosodium Glutamate Induced Oxidative Damage on Renal Tissue on Adult Wistar Rats . *Journal of Chinese Clinical of Medicine Volume 3 : 1*
- Wahsha, M. Al-Omari Hassan, M. Abuadas, A.F., Ahmed, E.T., Mostafavi, K., Moradi, M Ghotbi, M. 2012. Protective Action of Flavonoids Extracted From Different Jordian Plants Againsts Oxidative Stress. *International Journal of Biological & Pharmaceutical Research*. 3(3): 450-456.
- Wahyuni, S. 2005. *Pengaruh Daun Sambiloto (Andrographis paniculata) terhadap kadar SGPT dan SGOT Tikus Putih*. Gamma. Volume 1, No 1 : 45-53.
- Waji, A.R. dan Sugrani, A. 2009. *Makalah Kimia Organik Bahan Alam : Flavonoid (Quercetin)*. Program S2 Kimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanudin : Makasar
- Yokozawa, T. Jeong Sook Noh, and Chan Hum Park. 2012. *Green Tea Polyphenols for the Protection against Renal Damage Caused by Oxidative Stress*. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. University of Toyama : Japan
- Zeinab M. A. El-Gohary, Souad, A. Khalifa, Afaf M. El-Said Fahmy and Yasmin, M. 2012 Comparative Studies on the Renal Structural Aspects of the Mammalian Species Inhabiting Different Habitats. *Journal of American Science*. 7(4).
- Zhong, Z. Schwabe, R.F. Kai, Y. He, L. Yang, L. Bunzendahl, H Brenner and Lemasters, J. 2006. *Liver Regeneration Is Suppressed in Small-for-Size Liver Grafts after Transplantation: Involvement of c-Jun N-terminal Kinase, Cyclin D1, and Defective Energy Supply*. Transplantation. Volume 82, Number 2.
- Zowail, M.E.M.; Khater, E.H.H. and EL-Asrag, M.E.M. 2009. *Protective effect of green tea extract against cytotoxicity induced by enrofloxacin in rat* Egypt. Acad. J. biolog. Sci., 1 (1): 45-64.

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puja dan puji syukur hanya kepada Allah SWT atas segenap rahmat serta hidayahnya kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan tesis dengan judul “Potensi Teh Hijau (*Camelia sinensis*) dalam Perbaikan Fungsi Hepar, Ginjal, dan Testis pada Mencit yang Diinduksi Monosodium Glutamat (MSG)”. Penyusunan tesis ini tidak terlepas dari bantuan, dukungan, dan bimbingan berbagai pihak, sehingga penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. Tri Retnaningsih S, M.App.Sc selaku Ketua Program Studi Magister Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro Semarang.
2. Dr. Munifatul Izzati, M.Sc selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro Semarang
3. Dr. Tri Retnaningsih S, M.App.Sc selaku dosen pembimbing I atas bimbingan dan pengarahan yang diberikan selama penelitian dan penyusunan tesis.
4. Dr. Nanik Heru Suprpti, M.Si selaku dosen pembimbing II atas bimbingan dan motivasi yang diberikan selama penyusunan tesis.
5. Dr. Munifatul Izzati, M.Sc dan Dr. Enny Yusuf WY, MP selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan dan arahan selama ujian tesis.
6. Drs. Koen Praseno S.U. yang telah memberi kemudahan dalam pemecahan masalah selama proses penelitian dan penyusunan tesis ini.
7. Dr. Sunarno, M.Si yang telah menjadi teman diskusi alternatif sekaligus membantu dalam menyempurnakan masalah penulisan tesis ini.

8. Ibu E. Sunarti dan Bapak Maryadi yang telah mempermudah penggunaan berbagai fasilitas selama berlangsungnya penelitian.
9. Ibu Sunariyah dan Bapak Widodo yang telah memperlancar berbagai administrasi selama proses perkuliahan
10. Bapak dan Ibu serta segenap keluarga tercinta atas dukungan doa dan materi yang tak pernah henti
11. Semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu per satu, atas bantuannya dalam penyusunan tesis ini.

Akhir kata penulis berharap semoga tesis ini dapat bermanfaat baik bagi penulis sendiri pada khususnya dan para pembaca pada umumnya.

Semarang, 2 April 2013

Penulis



Reza Anindita