

Pengaruh Ekstrak Kopi Robusta Terhadap Gambaran Histopatologi Testis Mencit yang Diinduksi Monosodium Glutamat

Effect of Robusta Coffee Extract on Histopathological in Mice Testes Induced with Monosodium Glutamat

Hani Plumeriastuti^{1*}, Trima Welyani¹, Iwan Sahrial Hamid², Sri Hidanah³, Ragil Angga Prastiya⁴, Prima Ayu Wibawati⁵

¹Departemen Patologi Veteriner, ²Departemen Ilmu Kedokteran Dasar Veteriner, ³Departemen Peternakan,

⁴Departemen Reproduksi Veteriner, ⁵Departemen Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Kampus C Mulyorejo, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia 60115.

*Corresponding author: hani-p@fkh.unair.ac.id

Abstrak

Monosodium glutamat (MSG) merupakan garam natrium dari asam glutamat yang saat ini sangat populer digunakan sebagai bahan penyedap makanan. Konsumsi MSG yang berlebihan dapat mengganggu keseimbangan antioksidan dan ROS, serta menimbulkan efek negatif stres oksidatif pada testis. Kopi memiliki asam klorogenat tinggi, berfungsi sebagai antioksidan dan mengurangi efek negatif kerusakan sel pada testis. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh ekstrak kopi robusta terhadap histologi testis mencit yang diinduksi MSG. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), menggunakan 20 mencit jantan untuk 5 kelompok perlakuan: K+ (MSG 0,12 mg dan Vitamin C 6 mg), K- (MSG 0,12 mg dan CMC Na 0,1 ml), P1 (MSG 0,12 mg dan RCE 0,1 mg), P2 (MSG 0,12 mg dan RCE 0,2 mg), dan P3 (MSG 0,12 mg dan RCE 0,4 mg) secara oral selama 42 hari. Skor histophatologi dianalisis dengan *Saphiro-Wilk Test* dan Anova. Tidak ada efek peningkatan berat testis. 0,12 mg MSG dapat menyebabkan penurunan jumlah spermatogonia dan spermatosit. Ekstrak kopi robusta 0,2 mg dapat mempertahankan jumlah spermatogonia dan spermatosit.

Kata kunci: monosodium glutamat, kopi robusta, testis

Abstract

Monosodium glutamate (MSG) is a sodium salt from glutamic acid which is currently very popular to be used as a food flavoring ingredient to stimulate appetite. Excessive consumption of MSG can disrupt the balance of antioxidants and ROS, and cause the negative effects of oxidative stress on testes. Coffee has high chlorogenic acid, function for antioxidants and reduce the negative effect on cell damage in the testes. This study aims to analyze the effect of robusta coffee extract on histological of mice testes induced with MSG. This study was completely randomized design (CRD), using 20 male mice for 5 treatment groups: K+ (MSG 0.12 mg and Vitamin C 6 mg), K- (MSG 0.12 mg and CMC Na 0.1 ml), P1 (MSG 0.12 mg and RCE 0.1 mg), P2 (MSG 0.12 mg and RCE 0.2 mg), and P3 (MSG 0.12 mg and RCE 0.4 mg) orally for 42 days. Histophatological scores were analyzed with Saphiro-Wilk Test and Anova. There is no effect of increasing testicular weight. 0,12 mg MSG can cause a decrease in the number of spermatogonia and spermatocytes. 0,2 mg robusta coffee extract can maintain the number of spermatogonia and spermatocytes.

Keywords: monosodium glutamat, robusta coffee, testes

Received: 3 September 2020

Revised: 12 Oktober 2020

Accepted: 27 Maret 2021

PENDAHULUAN

Monosodium glutamat (MSG) banyak digunakan sebagai penyedap rasa dalam masakan di kehidupan sehari-hari. Garam sodium dan asam L-glutamat adalah komponen

suatu asam amino non esensial pada MSG yang bersifat larut dalam air dan akan berdisosiasi menjadi kation garam sodium dan anion asam glutamat (Eweka, 2007). Glutamat di dalam MSG merupakan bentuk bebas dan tidak terikat pada molekul protein sehingga dapat membentuk



radikal bebas. MSG di konsumsi secara berlebihan dapat menyebabkan terbentuknya radikal bebas didalam tubuh (Savira, 2008).

Rata- rata konsumsi MSG sekitar 0,6 g/hari (Prawiroharjono *et al.*, 2000) atau sekitar 0,3-1,0 g/hari di negara industri (Geha *et al.*, 2000). Konsumsi tersebut bisa saja meningkat tergantung isi kandungan MSG dalam makanan dan juga tergantung pilihan rasa seseorang (Geha *et al.*, 2000). Penggunaan berlebih MSG dapat memberikan efek sitotoksik dan menimbulkan stres oksidatif. Stres oksidatif merupakan suatu kondisi dimana kadar radikal bebas di dalam tubuh lebih banyak daripada kadar antioksidan (Anindita, 2012).

Radikal bebas yang berasal dari asam lemak tak jenuh dipicu dari *Malondialdehid* (MDA) yang merupakan produk akhir dekomposisi oksidatif. stres oksidatif, dapat menimbulkan infertilitas pada sistem reproduksi ditandai dengan pembentukan radikal bebas dan penurunan kadar asam askorbat di testis sehingga mengakibatkan jumlah sperma dan berat testis berkurang dan jumlah sperma abnormal meningkat (Megawati, 2008).

Efek radikal bebas dalam tubuh akan dinetralisir oleh antioksidan yang dibentuk oleh tubuh sendiri dan suplemen dari luar tubuh (Sukandar, 2006). Salah satu bahan yang mengandung antioksidan adalah kopi terutama kandungan polifenolnya (Priftis *et al.*, 2015). Asam klorogenat pada kopi adalah suatu senyawa yang termasuk kedalam komponen fenolik, mempunyai sifat yang larut dalam air dan terbentuk dari esterifikasi asam quinic dan asam transcinnamic tertentu seperti asam kafein, asam ferulic, dan asam pcoumaric. Biji Kopi hijau Robusta paling banyak mengandung asam klorogenat dibandingkan dengan biji kopi lainnya (Farah, 2012). Klorogenat memiliki banyak gugus hidroksil yang mempengaruhi aktivitas antioksidan yaitu memberikan efek dalam menurunkan ROS dengan cara menghambat aktivitas enzim xantin oksidase dalam mengoksidasi xantin (Dewajanti, 2019).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan asumsi kriteria dan karakteristik yang sama. Pengukuran awal tidak dilakukan karena asumsi semua kelompok berasal dari satu populasi dan obyek yang diteliti adalah testis pada hewan coba mencit jantan. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL). Hewan coba adalah mencit diperoleh dari Laboratorium hewan coba Universitas Airlangga Fakultas Kedokteran Hewan. Hewan coba yang digunakan adalah mencit jantan berumur 10-12 minggu dengan berat badan 30 gram sebanyak 20 ekor dalam keadaan sehat. Penelitian ini dilaksanakan di Labortorium Pakan dan Nutrisi PSDKU Universitas Airlangga di Banyuwangi.

Mencit jantan dewasa *strain Balb C* sebanyak 20 ekor yang dibagi menjadi lima kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol positif (K+) diberi perlakuan dengan MSG dosis 0,12 mg dan Vitamin C dosis 6 mg, kontrol negatif (K-) diberi perlakuan dengan MSG dosis 0,12 mg, P1 (MSG dosis 0,12 mg dan ekstrak biji kopi robusta 0,1 mg), P2 (MSG dosis 0,12 mg dan ekstrak biji kopi robusta 0,2 mg), dan P3 (MSG dosis 0,12 mg dan ekstrak biji kopi robusta 0,4 mg). Perlakuan dilakukan selama 42 hari, selanjutnya di *euthanasia* dengan cara *cervical dislocation* pada hari ke 43.

Organ testis difiksasi dalam larutan *Buoin formalin* 10% untuk pembuatan preparat histopatologi dengan pewarnaan *Hematoxyline-Eosin* (HE), kemudian dilakukan pengamatan preparat histopatologi pada 5 lapang pandang tiap organ testis. Skoring dilakukan dengan menghitung jumlah spermatogonium dan spermatosit. Sementara berat testis ditimbang sebagai data pelengkap. Data dianalisis homogenitas dengan uji *Sapiro-Wilk*, kemudian dilanjutkan uji Anova dengan signifikansi ($p<0,05$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap testis mencit dapat diketahui secara makroskopis yaitu dengan melihat berat testis mencit dan secara mikroskopis dengan melihat



jumlah sel spermatogenik yaitu spermatogonium dan spermatosit.

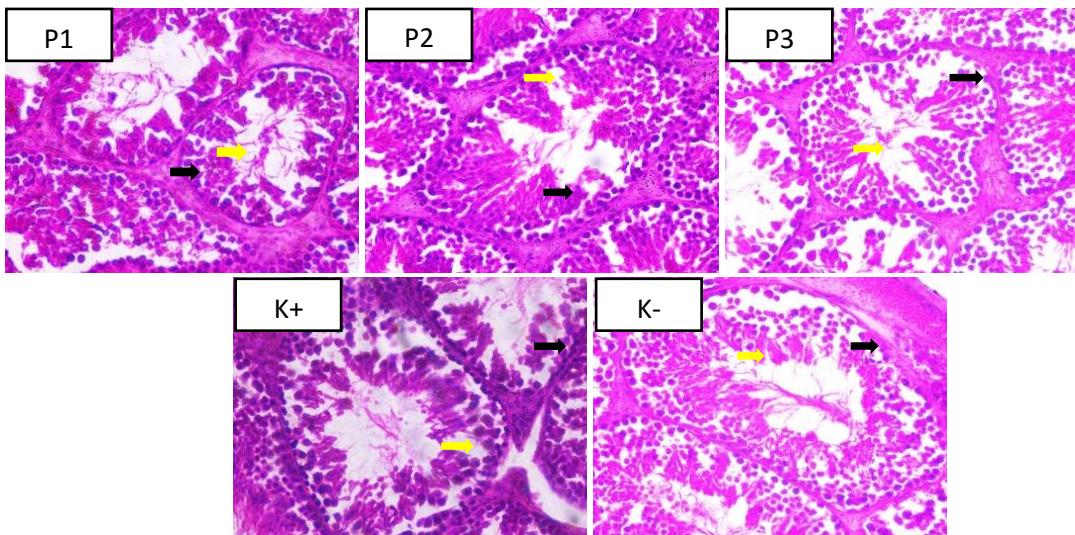
Berdasarkan hasil pengamatan secara makroskopis yang dilihat dengan berat testis diperoleh tidak adanya perbedaan yang nyata pada kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol, hal ini sedikit bertentangan dengan penelitian Megawati (2008) bahwa MSG dapat

menyebabkan infertil. Infertilitas yang ditimbulkan akibat dari keadaan stres oksidatif yang disebabkan oleh MSG ditandai dengan pembentukan radikal bebas dan penurunan kadar askorbat di testis. Akibatnya berat testis menurun dan jumlah sperma berkurang serta meningkatnya jumlah sperma yang abnormal.

Tabel 1. Berat testis, spermatogonium dan spermatosit mencit pada setiap perlakuan

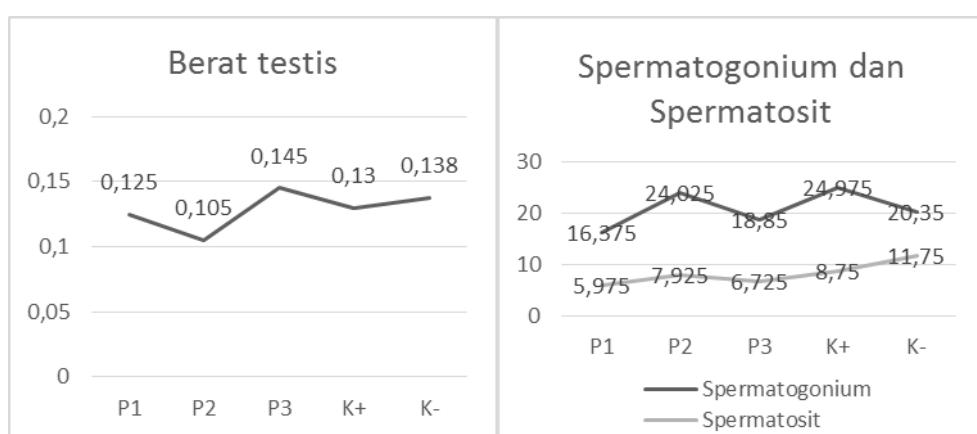
Perlakuan	Mean ± SD		
	Berat Testis	Spermatogonium	Spermatosit
P1	$0,125^a \pm 0,031$	$16,375^a \pm 2,699$	$5,975^a \pm 1,198$
P2	$0,105^a \pm 0,039$	$24,025^b \pm 5,142$	$7,925^{ab} \pm 1,114$
P3	$0,145^a \pm 0,019$	$18,850^a \pm 1,967$	$6,725^{ab} \pm 2,228$
K+	$0,130^a \pm 0,042$	$24,975^b \pm 1,120$	$8,750^b \pm 0,705$
K-	$0,138^a \pm 0,022$	$20,350^{ab} \pm 2,379$	$11,175^c \pm 1,167$

a,b,c superskrip berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p<0,05$).



Gambar 1. Struktur histologis organ testis mencit setelah diberi MSG dan kopi robusta.

Keterangan: panah hitam (spermatogonium); panah kuning (spermatosit).



Gambar 2. Grafik berat testis, jumlah spermatogonium dan spermatosit mencit.

Hasil pengamatan secara mikroskopis pada spermatogonium kelompok perlakuan (P1) dan (P3) tidak menunjukkan perbedaan signifikan, tetapi memiliki perubahan yang signifikan pada (P2), (K+) dan (K-) tidak berbeda nyata dengan keduanya. Hasil pengamatan pada spermatosit (P1) berbeda nyata dengan (K+) dan (K-), P2 dan P3 tidak berbeda nyata dengan ketiganya.

Data diatas menunjukan bahwa penggunaan ekstrak kopi robusta dengan dosis yang telah ditentukan tidak membawa dampak yang lebih baik sebagai antioksidan pada perlakuan 1 (P1) dan perlakuan 3 (P3) untuk mengikat radikal bebas yang disebabkan MSG. Dosis pada perlakuan 2 (P2) lebih baik dari perlakuan 1 (P1) dan perlakuan (P3) yang dapat dilihat dari jumlah spermatogonium dan spermatosit dan dibandingkan dengan kontrol negatif (K-), tetapi tidak lebih baik dengan kontrol positif (K+).

Neveen dan Imam (2010) menyatakan bahwa MSG merupakan salah satu bahan yang sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari yang memicu terjadinya stres oksidatif. MSG bersifat toksik terhadap sel berbagai organ termasuk sel testis dengan menimbulkan kerusakan oksidatif yang diperantara oleh peningkatan produksi peroksida lipid yang merusak struktur membran dan integritas fungsional sehingga menyebabkan nekrosis seluler disertai penurunan kadar antioksidan jaringan yang diperlukan dalam pertahanan antioksidan tubuh (Okwudiri, 2012 dan Alalwani, 2014).

Pham-Huy *et al.* (2008) dan Birben (2012) menyatakan bahwa radikal bebas yang terakumulasi melebihi sistem pertahanan antioksidan tubuh dapat menimbulkan stres oksidatif yang bersifat merusak sel dan organ tubuh. Radikal bebas bersifat tidak stabil dan memiliki daya reaktifitas tinggi sehingga dapat mengakibatkan terjadi reaksi berantai yang menghasilkan senyawa radikal baru. Reaksi berantai tersebut sering kali menyebabkan terjadi peroksidasi lipid. Kerusakan lipid pada organ reproduksi jantan dapat mengganggu spermatogenesis dan proses pematangan spermatozoa (Emanuele, 1998).

Pembentukan radikal bebas akan dinetralisir oleh antioksidan yang diproduksi oleh tubuh dalam jumlah yang berimbang, namun pengaruh negatif radikal bebas jika jumlahnya melebihi kemampuan detoksifikasi oleh sistem pertahanan antioksidan tubuh akan menimbulkan stres oksidatif. Radikal bebas yang terbentuk bisa melalui dua cara yaitu secara endogen, sebagai respon normal dari rantai peristiwa biokimia dalam tubuh intrasel maupun ekstrasel. Secara eksogen radikal bebas didapat dari polutan lingkungan, asap rokok, obat-obatan, dan radiasi ionisasi atau UV (Supari, 1996; Langseth, 2000).

Antioksidan merupakan agen protektif yang menonaktifkan spesies oksigen reaktif (ROS) sehingga secara signifikan dapat mencegah kerusakan oksidatif. Senyawa polifenol (asam klorogenat) dalam biji kopi robusta memiliki efek sebagai antioksidan dan antiinflamasi, senyawa alkaloid (kafeine) memiliki efek sebagai antioksidan sehingga mampu melindungi tubuh dari efek negatif radikal bebas (Ciptaningsih, 2012).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan telah di dapatkan hasil bahwa, ekstrak kopi robusta dan induksi MSG tidak menunjukan adanya penambahan berat testis. Dosis terapeutik ekstrak kopi robusta 0,2 mg dapat mempertahankan jumlah spermatogonium dan spermatosit.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada dokter Faisal Fikri sebagai dosen pembimbing dan teman- teman peneliti yaitu Tisyah Yumn Al-Zuhro dan Feby Wisudawati Putri yang telah bekerjasama sehingga penelitian dapat dilaksanakan dengan baik dan lancar. Peneliti juga mengucapkan terima kasih kepada dokter Danar yang telah mempermudah segala keperluan peneliti di laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA



- Alalwani, A. D. (2014). Monosodium Glutamate Induced Testicular Lesion in Rats (Histological Study). *Middle East Fertility Society Journal*, 19(4), 274-280.
- Anindita, R. (2012). Potensi Teh Hijau (*Camellia sinensis L*) dalam Perbaikan Fungsi Heparpada Mencit yang Diinduksi Monosodium Glutamat (MSG). *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 20(2), 15-23.
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxydative Stress and Antioxidant Defence. *World Allergy Organization Journal*, 2012, 9-19.
- Ciptaningsih, E. (2012). Uji Aktivitas Antioksidan dan Karakteristik pada Kopi Luwak Arabika dan Pengaruhnya terhadap Tekanan Darah Tikus Normal dan Tikus Hipertensi. Skripsi. Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Indonesia.
- Dewajanti, A. M. (2019). Peranan Asam Klorogenat Tanaman Kopi terhadap Penurunan Kadar Asam Urat dan Beban Oksidatif. Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Kristen Krida Wacana. *Jurnal Kedokteran Meditek*, 25(1), 46-51
- Emanuele, M. A., & Emanuele, N. V. (1998). Alkohol's Effect on Male Reproduction. *Research and Health*, 22(3), 195-201.
- Eweka, A. O., & OmIniabohs, F. A. E. (2007). Histological studies of the effects of monosodium glutamate on the kidney of adult Wistar rats. *Internet J Health*, 6(2), 2.
- Farah, A. (2012). Coffee: Emerging Health Effects and Disease Prevention, First Edition. John Willey & Sons, Inc and Institute of Food Technologists (USA): Wiley-Blackwell Publishing Ltd; 2012.
- Geha, R., Beiser, A., Ren, C., Patterson, R., Greenberger, P., Grammer, L., Ditto, A., Harris, K., Saughnessy, M., Yarnold, P., Corrent, J., & 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, 1058S-1062S.
- Langseth, L. (2000). Antioxidants and Their Effect on Health. In: Schmidl M. K., and T. P. Labuza (Eds.). *Essentials of Functional Foods*. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland.
- Megawati, E. R. (2008). Penurunan Jumlah Sperma Hewan Coba Akibat Pajanan Monosodium Glutamate. *Jurnal Biologi Sumatera*, 8-14.
- Neveen, A. N., & Iman, M. M. (2010). Evaluation of antioxidant effect of *Nigella sativa* oil on monosodium glutamate-induced oxidative stress in rat brain. *Journal of American Science*, 6(12), 13-19.
- Okwudiri, O. O., Sylvanus, A. C., & Peace, I. A. (2012). Monosodium glutamate induces oxidative stress and affects glucose metabolism in the kidney of rats. *International Journal of Biochemistry Research & Review*, 2(1), 1.
- Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal of Biomedical Science*, 4(2), 89-95.
- Prawirohardjono, W., Dwiprahasto, I., Astuti, I., Hadiwandowo, S., Kristin, E., Muhammad, M., & Kelly, M. F. (2000). The administration to Indonesians of monosodium L-glutamate in Indonesian foods: an assessment of adverse reactions in a randomized double-blind, crossover,



- placebo-controlled study. *The Journal of nutrition*, 130(4), 1074S-1076S.
- Priftis, A., Stagos, D., Konstantinopoulos, K., Tsitsimpikou, C., Spandidos, D. A., Tsatsakis, A. M., & Kouretas, D. (2015). Comparison of antioxidant activity between green and roasted coffee beans using molecular methods. *Molecular medicine reports*, 12(5), 7293-7302.
- Savira, M. (2008). Gangguan Perkembangan Testis dan Penurunan Kadar Testosteron Pada Hewan Coba Akibat Paparan Monosodium Glutamate (MSG) Yang berlebihan [Tesis]. Medan: Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara; 2008.
- Sukandar, E. (2006). Stress Oksidatif Sebagai Faktor Resiko Penyakit Kardiovaskuler. *Farmaci*, 2006(6), 1-10.
- Supari, F. (1996). Radikal Bebas dan Patofisiologi Beberapa Penyakit. In Zakaria F.R., R. Dewanti, dan S. Yasni (Edt.). Di dalam: Prosiding Seminar Senyawa Radikal dan Sistem Pangan: Reaksi Biomolekuler, Dampak terhadap Kesehatan dan Penangkalan. Kerjasama Pusat Studi Pangan dan Gizi IPB dengan Kedutaan Perancis. Jakarta.

