

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL RIMPANG LENGKUAS
(*Alpinia galanga*) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI OTAK
MENCIT JANTAN (*Mus musculus* L) YANG DIINDUKSI *Monosodium
glutamate* (MSG)**

(Skripsi)

Oleh:

**EMERALDHA THEODORUS
1418011073**



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL RIMPANG
LENGKUAS (*Alpinia galanga*) TERHADAP GAMBARAN
HISTOPATOLOGI OTAK MENCIT JANTAN (*Mus musculus* L)
YANG DIINDUKSI *Monosodium glutamate* (MSG)**

Oleh

EMERALDHA THEODORUS

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
SARJANA KEDOKTERAN
Pada

Fakultas Kedokteran Universitas Lampung



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018**

ABSTRACT

THE EFFECT OF ETHANOL EXTRACT OF GALANGAL RHIZOME (*Alpinia galanga*) ON BRAIN HISTOPATHOLOGICAL APPEARANCE IN THE MALE MICE (*Mus musculus* L) INDUCED BY *Monosodium glutamate* (MSG)

By

EMERALDHA THEODORUS

Background: *Monosodium glutamate* (MSG) induced brain damage characterized by microscopic neuronal necrosis and clinically neurologic deficits. Galangal has flavonoid that serves as an antioxidant that can protect the brain.

Objective: To determine the effect of ethanol extract of galangal rhizome (*Alpinia galanga*) on brain histopathological appearance in the male mice (*Mus musculus* L) induced by *Monosodium glutamate* (MSG).

Methods: This study used 30 mice that were divided into 5 groups. K(-) is not given any treatment, K(+) is given intraperitoneal MSG 4 mg/grBB, P1 is given intraperitoneal MSG 4 mg/grBB and oral galangal extract 14 mg/ 20grBB, P2 is given intraperitoneal MSG 4 mg/grBB and oral galangal extract 28 mg/ 20grBB, and P3 P1 is given intraperitoneal MSG 4 mg/grBB and oral galangal extract 56 mg/ 20grBB.

Results: The average number of brain neuronal necrosis were K(-) 3,8; K(+) 5,4; P1 5,4; P2 5; dan P3 4,8. The *One-Way ANOVA* result showed that the $p=0,015$.

Conclusion: There are no difference in the effect of ethanol extract of galangal rhizome (*Alpinia galanga*) on brain histopathological appearance in the male mice (*Mus musculus* L) induced by *Monosodium glutamate* (MSG).

Keywords: brain, galangal, MSG

ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL RIMPANG LENGKUAS (*Alpinia galanga*) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI OTAK MENCIT JANTAN (*Mus musculus* L) YANG DIINDUKSI *Monosodium glutamate* (MSG)

Oleh

EMERALDHA THEODORUS

Latar belakang: *Monosodium glutamate* (MSG) menimbulkan kerusakan otak yang ditandai dengan adanya nekrosis neuron secara mikroskopis dan defisit neurologis secara klinis. Lengkuas memiliki kandungan flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan yang dapat melindungi otak.

Tujuan: Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*) terhadap gambaran histopatologi otak mencit (*Mus musculus* L) jantan yang diinduksi *Monosodium glutamate* (MSG).

Metode: Penelitian ini menggunakan 30 mencit yang dibagi ke dalam 5 kelompok perlakuan. K(-) tidak diberi perlakuan, K(+) diberi MSG 4 mg/grBB intraperitoneal, P1 diberi MSG 4 mg/grBB intraperitoneal dan ekstrak lengkuas 14 mg/20 grBB oral, P2 diberi MSG 4 mg/grBB intraperitoneal dan ekstrak lengkuas 28 mg/20 grBB oral, dan P3 diberi MSG 4 mg/grBB intraperitoneal dan ekstrak lengkuas 56 mg/20 grBB oral.

Hasil: Rerata jumlah nekrosis neuron yang didapatkan antara lain K(-) 3,8; K(+) 5,4; P1 5,4; P2 5; dan P3 4,8. Setelah dilakukan uji statistik dengan uji *One-Way ANOVA* diperoleh nilai $p = 0,105$.

Simpulan: Tidak terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*) terhadap gambaran histopatologi otak mencit (*Mus musculus* L) jantan yang diinduksi *Monosodium glutamate* (MSG).

Kata kunci: lengkuas, MSG, otak

Judul Skripsi : **PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL RIMPANG LENGKUAS (*Alpinia galanga*) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI OTAK MENCIT JANTAN (*Mus musculus* L.) YANG DIINDUKSI *Monosodium glutamate* (MSG)**

Nama Mahasiswa : Emeraldha Theodorus

Nomor Pokok Mahasiswa : 1418011073

Program Studi : Pendidikan Dokter


Fakultas : Kedokteran

MENYETUJUI,

1. Komisi Pembimbing



Dr. dr. Muhartono, S. Ked., M. Kes., Sp. PA
NIP. 197012082001121001



dr. Giska Tri Putri, S. Ked
NIP. -

2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Muhartono, S. Ked., M. Kes., Sp. PA
NIP. 197012082001121001

MENGESAHKAN

1. Tim penguji

Ketua : Dr. dr. Muhartono, S. Ked., M. Kes., Sp. PA

Sekretaris : dr. Giska Tri Putri, S. Ked

**Penguji
Bukan Pembimbing : dr. Rizki Hanriko, S. Ked., Sp. PA**

2. Dekan Fakultas Kedokteran

Dr. dr. Muhartono, S. Ked., M. Kes., Sp. PA
NIP. 197012082001121001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 25 Januari 2018

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Emeraldha Theodorus
Nomor Pokok Mahasiswa : 1418011073
Tempat Tanggal Lahir : Metro, 20 Mei 1996
Alamat : Perumahan Tanjung Damai Lestari, Jalan Manggis 5
Blok OC nomor 17, Kedamaian

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi dengan judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Rimpang Lengkuas (*Alpinia galanga*) terhadap Gambaran Histopatologi Otak Mencit (*Mus musculus* L) Jantan yang Diinduksi *Monosodium glutamate* (MSG)” adalah benar hasil karya penulis, bukan menjiplak hasil karya orang lain. Jika dikemudian hari ternyata ada hal yang melanggar dari ketentuan akademik universitas maka saya bersedia bertanggung jawab dan diberi sanksi sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya atas perhatiannya saya mengucapkan terima kasih.

Bandar Lampung, 25 Januari 2018
Penulis,



Emeraldha Theodorus

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Metro pada tanggal 20 Mei 1996, sebagai anak pertama dari 2 bersaudara, dari Bapak Theodorus dan Ibu Novy Haryatie. Penulis memiliki 1 adik laki-laki yang bernama Farrellyto Theodorus.

Pendidikan Taman Kanak-Kanak (TK) diselesaikan di TK Xaverius I Bandar Lampung pada tahun 2002. Sekolah Dasar (SD) diselesaikan di SD Xaverius I Bandar Lampung 2008, Sekolah Menengah Pertama (SMP) diselesaikan di SMP Xaverius I Bandar Lampung pada tahun 2011, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) diselesaikan di SMA Yayasan Pembina Unila pada tahun 2014.

Pada tahun 2014, Penulis terdaftar sebagai mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN). Selama menjadi mahasiswa penulis aktif dalam organisasi FSI Ibnu Sina dan LUNAR.

PERSEMBAHAN

*Terima Kasih atas doa yang tak ada
hentinya, semangat yang tak pernah pudar,
dan kasih sayang yang tak terhingga*

Sebuah persembahan sederhana untuk
Keluargaku Tercinta
Papa, Mama, dan Adik

SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat dan karunia-Nya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.

Skripsi dengan judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Rimpang Lengkuas (*Alpinia galanga*) terhadap Gambaran Histopatologi Otak Mencit (*Mus musculus* L) Jantan yang Diinduksi *Monosodium glutamate* (MSG)” adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Kedokteran di Universitas Lampung.

Dalam menyelesaikan skripsi ini penulis banyak mendapatkan masukan, bantuan, dorongan, saran, bimbingan dan kritik dari berbagai pihak. Maka pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati penulis ingin menyampaikan rasa terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P. selaku Rektor Universitas Lampung;
2. Dr. dr. Muhartono, S. Ked., M. Kes, Sp. PA selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
3. Dr. dr. Muhartono, S. Ked., M. Kes, Sp. PA selaku Pembimbing Satu yang telah meluangkan waktu untuk membantu, memberi kritik, saran dan membimbing dalam penyelesaian skripsi ini;

4. dr. Giska Tri Putri, S. Ked selaku Pembimbing Dua yang telah meluangkan waktu untuk membantu, memberi kritik, saran dan membimbing dalam penyelesaian skripsi ini;
5. dr. Rizki Hanriko, S. Ked., Sp. PA selaku Pembahas yang telah meluangkan waktu untuk membantu, memberi kritik, saran dan membimbing dalam penyelesaian skripsi ini;
6. Dr. dr. Jhons Fatriyadi Suwandi, S. Ked., M. Kes selaku dosen PA saya yang telah banyak memberi masukan dan motivasi selama ini;
7. Papa dan Mama tercinta, Theodorus dan Novy Haryatie, terimakasih atas doa, kasih sayang, nasihat, dukungan, dan bimbingan yang terus menerus diberikan untukku. Semoga Allah SWT selalu menyayangi, melindungi, memberikan kesehatan dan umur yang panjang, serta rezeki yang cukup;
8. Adik saya, Farrellyto Theodorus, terimakasih atas bantuan, doa, dukungan, semangat, dan kasih sayangnya;
9. Bu Nuriah (Laboran Fisiologi, Biologi Molekuler, dan Biokimia FK Unila), yang telah membantu dan mendukung saya dalam melakukan penelitian ini;
10. Mas Bayu (Laboran Histologi dan Patologi Anatomi FK Unila), yang telah membantu dan mendukung saya dalam melakukan penelitian ini;
11. Seluruh Staf Dosen FK Unila atas ilmu yang telah diberikan kepada penulis untuk menambah wawasan yang menjadi landasan untuk mencapai cita-cita;
12. Seluruh Staf TU, Administrasi, dan Akademik FK Unila, serta pegawai yang turut membantu dalam proses penelitian dan penyusunan skripsi ini mulai dari pengurusan surat izin penelitian hingga pengajuan *ethical clearance*;

13. Sahabat-sababat saya Debby Cinthya, Nadira Rahil Rachmawani, Renti Kusumaningrum dan Theodora Agverianti, atas doa, dukungan dan jasanya dalam membantu penyelesaian skripsi ini;
14. Tim penelitian saya, Annisa Shafira Pramono, Nadia Rosmalia Dewi, Theodora Agverianti, atas kerja keras dan dukungan dalam membantu penyelesaian skripsi ini;
15. Ajeng Fitria Ningrum dan Dzulfiqar, tim bimbingan dua, terima kasih atas dukungan dalam membantu penyelesaian skripsi ini;
16. Teman-teman sejawat, FK Unila 2014 (*Crani14l*) yang tidak bisa disebutkan satu-persatu, terimakasih atas kebersamaannya selama ini, semoga kita kelak menjadi dokter yang profesional;

Penulis menyadari bahwa skripsi ini memiliki banyak kekurangan. Oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun demi perbaikan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembacanya.

Bandar Lampung, Januari 2018
Penulis

Emeraldha Theodorus

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR LAMPIRAN	v
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.4 Manfaat Penelitian.....	8
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 <i>Monosodium glutamate</i>	9
2.1.1 Sifat, Kandungan Kimia, dan Metabolisme <i>Monosodium glutamate</i>	9
2.1.2 <i>Monosodium glutamate</i> sebagai Bumbu Masak.....	12
2.1.3 Kandungan <i>Monosodium glutamate</i> dalam Bumbu Masak ...	13
2.1.4 Peran <i>Monosodium glutamate</i>	14
2.1.5 Efek <i>Monosodium glutamate</i> terhadap Otak	16
2.2 Otak.....	17
2.2.1 Anatomi Otak	17
2.2.2 Histologi Otak	21
2.3 Lengkuas (<i>Alpinia galanga</i>).....	25
2.3.1 Klasifikasi Lengkuas (<i>Alpinia galanga</i>).....	26
2.3.2 Morfologi Lengkuas (<i>Alpinia galanga</i>)	26
2.3.3 Kandungan Kimia Lengkuas (<i>Alpinia galanga</i>)	28
2.3.4 Manfaat Lengkuas (<i>Alpinia galanga</i>).....	30
2.4 Mencit.....	32
2.5 Kerangka Penelitian	35
2.5.1 Kerangka Teori Penelitian.....	35
2.5.2 Kerangka Konsep Penelitian	38
2.6 Hipotesis.....	39
BAB 3 METODE PENELITIAN	
3.1 Desain Penelitian.....	40
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	40
3.3 Populasi dan Sampel	41

3.3.1	Kriteria Inklusi	43
3.3.2	Kriteria Eksklusi.....	43
3.4	Bahan dan Alat Penelitian	43
3.4.1	Bahan Penelitian.....	43
3.4.2	Bahan Kimia.....	44
3.4.3	Alat Penelitian	44
3.5	Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional Variabel	45
3.5.1	Variabel Penelitian	45
3.5.2	Definisi Operasional Variabel	45
3.6	Prosedur Penelitian.....	46
3.6.1	Pemeliharaan Hewan Percobaan	46
3.6.2	Adaptasi Hewan Percobaan.....	47
3.6.3	Penyediaan Lengkuas dan <i>Monosodium glutamate</i>	47
3.7	Pemberian Perlakuan.....	50
3.8	Pengambilan Sampel Organ	51
3.9	Pengamatan Histopatologi Otak.....	54
3.10	Analisis Data	57
3.11	<i>Ethical Clearance</i>	57

BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1	Hasil Penelitian	58
4.1.1	Gambaran Histopatologi Otak.....	58
4.1.2	Jumlah Nekrosis Neuron	59
4.1.3	Analisis Data	61
4.2	Pembahasan	62

BAB 5 SIMPULAN DAN SARAN

5.1	Simpulan.....	69
5.2	Saran.....	69

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Asal dan fungsi utama sel glia.....	25
2. Sifat biologis mencit.....	33
3. Hasil perhitungan jumlah nekrosis neuron.....	60
4. Uji normalitas data dengan <i>Shapiro-Wilk</i>	61

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
5. Rumus bangun <i>Monosodium glutamate</i>	10
6. Rumus bangun asam <i>glutamate</i>	10
7. Sel-sel glia sistem saraf pusat	22
8. Beberapa rumus bangun berbagai jenis <i>flavonoid</i>	29
9. Mencit	32
10. Kerangka Teori Penelitian	37
11. Kerangka Konsep Penelitian.....	38
12. Diagram alur penelitian	56
13. Gambar histopatologi otak mencit.....	59
14. Gambar histopatologi otak mencit.....	59
15. Gambar histopatologi otak mencit.....	59
16. Gambar histopatologi otak mencit.....	59
17. Gambar histopatologi otak mencit.....	59
18. Grafik rata-rata jumlah nekrosis neuron	61
19. Defisit neurologis.....	64

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1 Hasil perhitungan nekrosis neuron
- Lampiran 2 Hasil analisis data
- Lampiran 3 Dokumentasi
- Lampiran 4 Persetujuan etik
- Lampiran 5 Izin melakukan pre survey penelitian
- Lampiran 6 Izin melakukan penelitian
- Lampiran 7 Surat peminjaman laboratorium
- Lampiran 8 Sertifikat mencit

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Monosodium glutamate atau yang biasa disebut MSG adalah garam natrium yang berasal dari asam *glutamate*. *Monosodium glutamate* tersusun atas 78% *glutamate* dan 22% air beserta natrium. *Monosodium glutamate* tergolong ke dalam asam amino non esensial, yang berarti bila tidak ada asupan *glutamate* dari luar maka tubuh dapat menghasilkannya sendiri untuk mencukupi kebutuhannya. Protein nabati mengandung 40% asam *glutamate* sedangkan protein hewani mengandung 11-22% asam *glutamate* (Rezkinia dan Agustin, 2011).

Berdasarkan laporan *Information Handling Services* (IHS), di tahun 2014 Asia menempati peringkat pertama baik dalam produksi, ekspor, dan konsumsi MSG. Cina merupakan negara yang paling banyak memproduksi, mengekspor, dan mengonsumsi MSG di Asia maupun di dunia. Cina mengambil porsi sebesar 65% dari total produksi MSG di dunia. Tidak hanya itu, sebanyak 44% dari jumlah keseluruhan MSG yang beredar di

dunia ternyata berasal dari Cina. Peringkat kedua terbesar pengeksport MSG di dunia ditempati oleh Indonesia sebanyak 16% dari total ekspor MSG di dunia. Tidak hanya dalam hal ekspor, Asia juga menempati peringkat pertama dalam urusan konsumsi MSG. Di tahun 2014 tercatat Asia mengambil porsi sebanyak 88,1% dari total keseluruhan konsumsi MSG di dunia, Cina menempati urutan pertama (sebanyak 55%), kemudian diikuti oleh Indonesia, Vietnam, Thailand (*Information Handling Services*, 2015).

Monosodium glutamate telah menjadi pilihan penyedap rasa karena dapat membangkitkan cita rasa makanan (*flavour enhancer*) dan sudah digunakan sejak ratusan tahun lalu (Sano, 2009). Jauh sebelum ditemukannya MSG, Jepang menjadi negara pertama yang berhasil menemukan rahasia untuk menghasilkan makanan yang lezat. Rakyat Jepang memanfaatkan sejenis tanaman rumput laut yang bernama *Laminaria japonica* untuk meningkatkan cita rasa pada makanan (Iswara, 2016).

Pada tahun 1907, Profesor Kikunae Ikeda dari Universitas Tokyo mulai meracik MSG serta melaksanakan produksi dan distribusi untuk pertama kalinya di tahun 1909. Penemuan tersebut menghasilkan sebuah rasa baru yang diberi nama *umami* dan berhasil melengkapi 4 jenis rasa sebelumnya menjadi asam, manis, asin, pahit, dan *umami* (Sano, 2009). Walau MSG sudah ditemukan lebih dari seratus tahun yang lalu, namun penggunaannya di Indonesia baru dimulai sejak tahun 1960-an (Iswara, 2016).

Food and Drug Administration (FDA) mengelompokkan MSG sebagai *generally recognized as safe* (GRAS), sehingga aturan khusus tidak dibutuhkan dalam penggunaannya (*Food and Drug Administration*, 2012). Lain halnya dengan *World Health Organization* (WHO) dan *Food Agriculture Organization* (FAO) yang menetapkan batas aman penggunaan MSG, yaitu kurang dari 120 mg/kgBB/hari. Tetapi pada praktiknya penggunaan MSG selalu melebihi batas yang telah ditetapkan, sebagai contoh dalam semangkok mie rebus, mie pangsit, dan bakso yang biasa dikonsumsi masyarakat terkandung MSG yang dapat mencapai 1.840–3.400 mg (Dayono *et al.*, 2015).

Dalam laporan *Federation of American Societies for Experimental Biology* (FASEB) tanggal 31 Juli 1995, ada dua kelompok yang menunjukkan reaksi setelah mengonsumsi MSG. Kelompok pertama adalah orang yang mengeluhkan sakit kepala, berkeringat, rasa terbakar di mulut, rasa terbakar di tenggorokan, mual, dan lemas. Sementara kelompok kedua disebut-sebut mirip dengan reaksi alergi yang mempunyai gejala nyeri dada, palpitasi, aritmia, sesak napas, rasa terbakar di tenggorokan, dan bengkak pada wajah (*Food and Drug Administration*, 2012; Kivi, 2016).

Sejak tahun 1998, keluhan-keluhan tersebut muncul setelah makan di restoran Cina. Keluhan yang banyak dirasakan berupa sakit kepala, palpitasi (berdebar-debar), mual, dan muntah yang kemudian disebut

sebagai *Chinese Restaurant Syndrome*. *Monosodium glutamate* diduga sebagai penyebab munculnya *Chinese Restaurant Syndrome* karena dalam pembuatan makanan di restoran Cina banyak menggunakan MSG (Kanti, 2012).

Penelitian mengenai efek MSG terhadap otak pertama kali dilakukan oleh Olney (1969) yang mendapatkan hasil adanya nekrosis akut neuron pada mencit baru lahir. Penelitian oleh Takasaki (1978) menunjukkan bahwa adanya lesi pada otak mencit berupa pembesaran pada sitoplasma (*cytoplasmic ballooning*), *chromatin clumping*, dan inti sel piknotik yang mulai terlihat pada hari keempat setelah pemberian MSG sebanyak 4 mg/kgBB secara intraperitoneal. Selain kematian neuron yang terlihat setelah injeksi MSG secara intraperitoneal selama 10 hari, juga terlihat adanya penurunan jumlah dari sel glia mencit (Husarova dan Daniela, 2013).

Penelitian yang dilakukan di Indonesia menunjukkan hasil yang sama, yaitu terjadinya degenerasi neuron setelah pemberian MSG sebanyak 4 mg/kgBB kepada mencit jantan (*Mus musculus* L) yang diberikan secara intraperitoneal selama 15 hari (Aziztama, 2012). Proses degenerasi terlihat dari adanya inti neuron yang menyusut (piknotik), padat, batasnya tidak teratur, dan gelap jika dilakukan dengan pengecatan hematoksilin eosin (HE). Faktor-faktor yang berperan dalam degenerasi sel saraf diantaranya

stres oksidatif, radikal bebas, *excitotoxicity glutamate*, gangguan fungsi mitokondria, mekanisme inflamasi, dan faktor imunologi (Simon *et al.*, 2013).

Manifestasi klinis yang muncul setelah adanya kerusakan pada otak mencit adalah defisit neurologis. Adapun keadaan defisit neurologis pada mencit bisa dinilai dengan tiga uji, yaitu *motor test*, *sensorimotor test*, dan *cognitive test*. Diantara ketiga uji tersebut, uji yang paling sederhana adalah *sensorimotor test*, berupa uji mobilitas dan uji gait. Uji mobilitas dikatakan positif jika ada periode *freeze* jika mencit dipindahkan dari suatu tempat ke tempat yang lain. Sementara uji gait dikatakan positif jika saat mencit dipegang dibagian ekor, akan memperlihatkan aduksi dari ekstremitas atas dan bawah (Schaar *et al.*, 2010; Guo W *et al.*, 2014).

Monosodium glutamate merupakan salah satu radikal bebas yang dapat menyebabkan terjadinya stres oksidatif. *Monosodium glutamate* juga akan menyebabkan peningkatan kadar glukosa, *peroksidasi lipid*, serta peningkatan enzim *Glutathione Peroxidase* (GR), *Glutathione S-Transferase* (GST), dan *Glutathione Peroxidase* (GPX) (Aziztama, 2012). Penggunaan MSG dosis tinggi dan berlangsung lama menyebabkan gangguan neuroendokrin dan degenerasi neuron (Simon *et al.*, 2013). Salah satu cara yang dapat dilakukan guna menangkal radikal bebas adalah mengonsumsi makanan yang mengandung antioksidan. Salah satu sumber

antioksidan yang mudah ditemui adalah lengkuas (*Alpinia galanga*) (Kanti, 2012).

Lengkuas adalah salah satu tanaman rempah-rempah yang biasa digunakan sebagai bumbu pelengkap untuk olahan daging, sayuran, dan ikan. Lengkuas dapat tumbuh di dataran rendah maupun dataran tinggi. Lengkuas banyak hidup di daerah beriklim tropis seperti negara-negara yang ada di Asia Tenggara (Indonesia, Filipina, Malaysia, Kamboja) (Wathoni *et al.*, 2009).

Biasanya lengkuas menjadi salah satu pilihan tanaman yang ditanam di rumah dikarenakan proses perawatannya yang mudah. Ada dua senyawa penting yang terkandung dalam lengkuas, yaitu *Acetoxy chavicol acetat* (ACA) yang berperan mengaktivasi caspase 3 untuk melaksanakan fungsi apoptosis dan *flavonoid* yang bersifat sebagai antioksidan kuat (Andriana dan Fatmawati, 2016). Ada tiga jenis senyawa *flavonoid* yang terkandung dalam lengkuas, diantaranya *galangin*, *kaemferol*, dan *kuersetin* yang semuanya memiliki efek antioksidan yang sangat baik (Subramanian dan Nishan, 2015).

Berdasarkan uraian di atas, dapat diketahui bahwa MSG dapat menyebabkan kerusakan pada otak dan lengkuas yang bersifat antioksidan kuat berpotensi menangkal radikal bebas dan memberikan perlindungan

pada otak. Oleh karena itu, penulis tertarik untuk melakukan penelitian mengenai pengaruh pemberian ekstrak lengkuas terhadap gambaran histopatologi otak mencit (*Mus musculus L*) jantan yang diinduksi MSG.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang, dapat dirumuskan:

1. Apakah terdapat pengaruh *Monosodium glutamate* (MSG) terhadap gambaran histopatologi otak mencit (*Mus musculus L*) jantan?
2. Apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*) terhadap gambaran histopatologi otak mencit (*Mus musculus L*) jantan yang diinduksi *Monosodium glutamate* (MSG)?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dalam penelitian ini meliputi:

1. Mengetahui pengaruh pemberian *Monosodium glutamate* (MSG) terhadap gambaran histopatologi otak mencit (*Mus musculus L*) jantan.
2. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*) terhadap gambaran histopatologi otak mencit (*Mus musculus L*) jantan yang diinduksi *Monosodium glutamate* (MSG).

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dalam penelitian ini meliputi:

1.4.1 Bagi Peneliti

1. Mengaplikasikan ilmu pengetahuan yang sudah dipelajari khususnya di bidang patologi anatomi.
2. Mengembangkan minat dan kemampuan peneliti dalam bidang penelitian.

1.4.2 Bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan mampu menambah pengetahuan masyarakat mengenai manfaat lengkuas.

1.4.3 Bagi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung

Meningkatkan penelitian di bidang *agromedicine* sehingga dapat membantu mewujudkan pencapaian visi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung menjadi sepuluh Fakultas Kedokteran terbaik di Indonesia pada tahun 2025 dengan kekhususan *agromedicine*.

1.4.4 Bagi Peneliti Lain

Dapat dijadikan bahan acuan untuk mengembangkan penelitian serupa yang berkaitan dengan pengaruh ekstrak lengkuas (*Alpinia galanga*).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

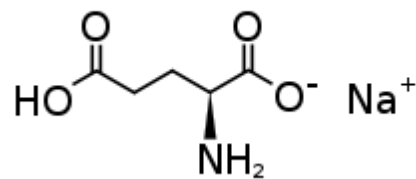
2.1 *Monosodium glutamate*

Monosodium glutamate adalah gabungan dari beberapa asam amino dengan sejumlah kecil peptida yang dihasilkan dari proses hidrolisa protein (*hydrolized vegetable protein /HVP*) (Wiati, 2015).

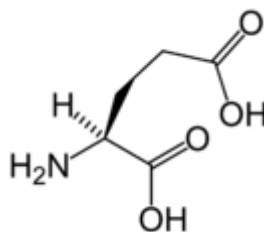
2.1.1 Sifat, Kandungan Kimia, dan Metabolisme *Monosodium glutamate*

Monosodium glutamate adalah garam natrium yang berasal dari asam *glutamate*. Adapun unsur-unsur pokok yang terkandung dalam MSG antara lain: 78,2% asam *glutamate*, 12,2% Na, dan 9,6% H₂O dimana setiap 1 gram MSG di dalamnya terkandung 0,122 Na (Wiati, 2015). *Monosodium glutamate* dihasilkan melalui berbagai macam proses, yaitu proses ekstraksi dari bahan asalnya, proses fermentasi, proses sintesis secara enzimatik, dan proses sintesis secara kimia sehingga rumus bangun atau struktur kimia yang dimiliki MSG (C₅H₈O₄NNaH₂O) hampir sama dengan rumus bangun yang dimiliki oleh asam *glutamate* (C₅H₉NO₄) (Pasha, 2014).

Bagian yang mendasari perbedaan MSG dengan asam *glutamate* adalah MSG mempunyai gugus karboksil (R-COOH) yang mengandung ikatan hidrogen di dalamnya yang akan diubah menjadi ikatan karboksil yang mengandung natrium (R-COONa) ketika diaktifkan oleh stimulasi indra pengecap. Selain struktur kimia, MSG dan asam *glutamate* juga memiliki kesamaan dalam hal struktur fisik. Keduanya berbentuk serbuk kristal berwarna putih yang mudah larut dalam air serta tidak berbau (Pasha, 2014).



Gambar 1. Rumus bangun *monosodium glutamate*.
(sumber: Waskita, 2014)



Gambar 2. Rumus bangun asam *glutamate*.
(sumber: Anonim, 2017)

Apabila dilarutkan dalam air atau saliva, MSG akan terdisosiasi menjadi natrium yang bertindak sebagai kation serta *glutamate*

sebagai anion. Proses tersebut merupakan proses awal dalam pembentukan rasa *umami* yang membutuhkan respon dari reseptor ionotropik dan reseptor metabotropik. Setelah *glutamate* ditangkap oleh reseptor tersebut, *glutamate* akan membuka *calcium* (Ca^{2+}) *channel* yang terdapat pada *taste bud* sehingga memungkinkan Ca^{2+} bergerak ke dalam sel dan terjadilah depolarisasi. Selanjutnya, depolarisasi mengakibatkan potensial aksi yang akan sampai ke otak yang diterjemahkan sebagai rasa *umami* atau rasa lezat (Yoneda, 2011).

Menurut Campbell dalam Pasha; 2014 sifat dan kandungan kimia MSG yaitu sebagai berikut

Nama IUPAC	: <i>Sodium(2S)-2-amino-5hydroxy-5-oxo-pentanoate-2-aminopentanedioic acid-2-aminoglutamic acid</i>
Sinonim	: <i>Sodium glutamate, L-glutamate, L-glutamic acid monosodium salt, MSG, chinese seasoning</i>
Struktur kimia	: $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4\text{NNaH}_2\text{O}$
Berat molekul	: 169.111 molar
Bentuk	: Bubuk kristal putih
Kelarutan	: Mudah larut dalam air tapi tidak mudah larut
Sifat	: Higroskopik
Titik cair	: $22,5^\circ\text{C}$

2.1.2 *Monosodium glutamate* sebagai Bumbu Masak

Monosodium glutamate yang digunakan sebagai *flavour enhancer* termasuk salah satu bahan adiktif yang sekarang ini banyak ditemukan baik di negara maju maupun negara berkembang. Sejak awal ditemukan, produksi MSG di dunia terus mengalami peningkatan dari tahun ke tahunnya dikarenakan perubahan gaya hidup modern (Aziztama, 2012; Pasha, 2014).

Monosodium glutamate pertama kali ditemukan oleh Profesor Kikunae Ikeda pada tahun 1907, setelah sebelumnya asam *glutamate* murni ditemukan oleh ahli kimia bernama Ritthausen dari Jerman di tahun 1866. Asam *glutamate* murni berhasil didapatkan melalui reaksi hidrolisis dari bahan yang bernama *Gliadin*, yaitu suatu bahan yang menjadi penyusun *Wheat Gluten* (Sano, 2009; Pasha, 2014).

Profesor Kikunae Ikeda memulai penelitian di tahun 1907 dengan mengidentifikasi suatu bahan yang terdapat dalam *Kelp* (*Laminariaceae*) karena telah menghasilkan rasa yang unik pada masakan sup. Profesor Kikunae Ikeda memiliki hipotesis bahwa ada rasa baru yang terkandung di dalam *Kelp* yang tidak dapat disamakan dengan empat rasa klasik (manis, asam, asin, pahit). Akhirnya, pada tahun 1908 Profesor Kikunae Ikeda berhasil mengidentifikasi rasa baru yang ada di dalam *Kelp* adalah rasa gurih

mirip daging (*meaty flavour*) yang kemudian disebut *umami* (Sano, 2009; Pasha, 2014).

Beliau kemudian mematenkan hasil temuannya tersebut sebagai bumbu masak terbaru yang terdiri dari bentuk garam, yaitu *L-Glutamic acid*. Di tahun 1909, seorang pengusaha dalam bidang farmasi dan kimia yang bernama Saburousuke Suzuki mengajukan kerja sama kepada Profesor Kikunae Ikeda untuk mengkomersilkan temuannya tersebut menjadi *AJI-NO-MOTO* (Sano, 2009; Pasha, 2014).

2.1.3 Kandungan *Monosodium glutamate* dalam Bumbu Masak

Unsur pokok yang terkandung dalam MSG adalah asam *glutamate* (Wiati, 2015). Dalam lingkungan ada dua jenis asam *glutamate*, diantaranya *L-Glutamic acid* dan *D-Glutamic acid* (Pasha, 2014). Bentuk yang terdapat di dalam protein hanyalah *L-Glutamic acid*. Bentuk *D-Glutamic acid* tidak dipergunakan oleh organisme tingkat tinggi dan hanya dipergunakan oleh organisme tingkat rendah, contohnya bakteri. Bakteri menggunakan *D-Glutamic acid* sebagai penyusun dinding sel bakteri tersebut (Alao *et al.*, 2010; Abass dan Abd El Haleem, 2011).

Dalam proses produksi MSG di pabrik, kedua bentuk tersebut digunakan dalam campurannya. Bentuk *D-Glutamic acid* tidak dapat digunakan pada manusia karena tidak termasuk ke dalam rangkaian peptida tubuh sehingga tidak dapat digunakan dalam proses sintesis protein. Jika bentuk *D-Glutamic acid* masuk ke dalam tubuh akan menghambat kerja dari beberapa enzim yang ada dalam tubuh. Oleh karena alasan tersebut, penggunaan MSG harus dibatasi (Alao *et al.*, 2010; Abass dan Abd El Haleem, 2011).

Alasan tersebut diperkuat dengan bukti bahwa MSG yang dihasilkan oleh pabrik merupakan molekul tunggal yang mudah diserap oleh tubuh dan langsung menuju sirkulasi. Hal tersebut berbeda dengan asam *glutamate* yang ada pada makanan secara alami, dimana setelah dikonsumsi tetap memerlukan proses pencernaan berupa proses pemecahan molekul (Samuel, 2010; *International Glutamate Information Service*, 2014).

2.1.4 Peran *Monosodium glutamate*

Glutamate yang dihasilkan oleh MSG memiliki beberapa peranan bagi tubuh, diantaranya:

1. Neurotransmitter

Neurotransmitter adalah alat untuk bertukar informasi pada sel saraf. *Glutamate* adalah transmitter mayor di otak yang berfungsi sebagai mediator untuk menyampaikan transmisi post

sinaptik. Selain itu, *glutamate* juga berfungsi sebagai prekursor dari neurotransmitter *Gamma Ammino Butiric Acid* (GABA). Awalnya *glutamate* akan diubah menjadi *glutamine* dalam astrosit kemudian dilepaskan menuju neuron. Di dalam neuron, *glutamine-reuptake system* akan mengubah kembali *glutamin* menjadi *glutamate* yang langsung diangkut oleh *vesicular glutamate transporters* menuju *synaptic vesicle* dan akhirnya siap dilepaskan sebagai neurotransmitter (Jinap dan Hajeb, 2010).

2. Substansi untuk sintesa protein

Sekitar 10-40% *glutamate* terkandung di dalam protein. *L-glutamic acid* merupakan bahan yang penting untuk sintesa protein. Asam *glutamate* memiliki struktur kimia dan fisik yang bisa menjadi struktur sekunder dari protein yang disebut α (Jinap dan Hajeb, 2010).

3. Pasangan transaminasi dengan α -ketoglutarate

Glutamate membantu dalam proses distribusi glukosa ke sel-sel tubuh. Nantinya *glutamate* akan ditransmisikan menjadi alanin. Alanin oleh asam amino dekarboksilat menghasilkan α -ketoglutarate atau oksaloasetat. *Glutamate* yang lolos dari metabolisme mukosa dibawa melalui vena portal ke hati. Sebagian *glutamate* dikonversikan oleh usus dan hati dalam bentuk glukosa dan laktat yang kemudian dialirkan ke darah perifer (Jinap dan Hajeb, 2010).

4. Prekursor *glutamine*

Glutamine dibentuk dari glutamat oleh *glutamin sintetase*.

Reaksi ini penting untuk metabolisme protein dan karbohidrat (Jinap dan Hajeb, 2010).

2.1.5 Efek *Monosodium glutamate* terhadap Otak

Monosodium glutamate terbukti dapat merusak jaringan otak. Penelitian yang dilakukan mengenai pengaruh MSG terhadap jaringan otak pada bayi tikus dan bayi monyet memperlihatkan adanya proses pembengkakan (*rapid swelling*) dari sel *neuronal body* dan dendrit yang diikuti dengan perubahan degeneratif organel intraseluler dan kromatin nukleus. Degenerasi juga terlihat dari jaringan otak yang ditandai dengan adanya inti neuron yang piknotik (menyusut), menjadi padat, batasnya tidak teratur, dan berwarna gelap (Simon *et al.*, 2013).

Kematian sel yang terjadi disebabkan karena mekanisme depolarisasi neurotoksik *glutamate* yang dikenal sebagai *excitotoxicity*. Hipotesis tentang kematian sel tersebut disebut dengan “*Excitotoxic Hypothesis of Neuronal Death*”. Dalam proses *excitotoxicity*, terjadi kelebihan infulus ion kalsium akibat kadar *glutamate* yang berlebihan. Efek yang timbul adalah *dysregulated activation* dari reseptor *glutamate* terlebih pada *N-methyl-D-aspartic acid receptor*, reseptor *glutamate* yang paling *permeable* terhadap ion kalsium.

Akibat influks ion kalsium yang berlebihan akan menyebabkan kematian sel saraf dengan cara mencetuskan *cascade reaction*, berupa terbentuknya radikal bebas, produksi *eicosanoid*, terbentuknya enzim *phospolidase*, *protease*, *endonuclease*, *nitric oxidesynthase*, dan *lipid peroxydation* (Rama dan Garcia, 2016).

2.2 Otak

2.2.1 Anatomi Otak

Otak memiliki berat rata-rata 1,2 kg pada laki-laki dan 1 kg pada perempuan. Otak terdiri atas otak besar atau cerebrum, otak kecil atau cerebellum, dan batang otak atau truncus encephali yang dibentuk oleh mesencephalon, pons, dan medulla oblongata. Cerebrum terdiri atas telencephalon dan diencephalon. Telencephalon terdiri dari hemispherium cerebri dan ganglia basalis, sementara diencephalon terdiri dari epitalamus, talamus dorsal, dan hipotalamus (Moore *et al.*, 2013).

Cerebrum meliputi hemispherium cerebri dan ganglia basalis. Hemispherium cerebri dipisahkan oleh falx cerebri di dalam *fissura longitudinalis*. Hemispherium cerebri dibagi lagi menjadi empat lobus. Lobus frontalis mengisi fossa cranii anterior, lobus temporalis mengisi pars lateralis fossa cranii media, lobus occipitalis

membentang ke posterior pada tentorium cerebelli, dan lobus parietal (Moore *et al.*, 2013; Pearce, 2013).

Hemispherium mengisi seluruh cavitas cranii supratentorial. Dilihat dari superior, cerebrum dibagi oleh fissura longitudinalis cerebri median dan sulcus centralis coronal. Sulcus centralis memisahkan lobus frontalis (di anterior) dari lobus parietalis (di posterior). Dilihat dari lateral, kedua lobus tersebut terletak superior dari sulcus lateralis transversa dan lobus temporalis di inferiornya. Lobus occipitalis yang terletak di posterior terletak dipisahkan dari lobus parietalis dan temporalis oleh bidang sulcus parieto-occipitalis (Pearce, 2013; Widia, 2015).

Otak tengah atau mesencephalon, merupakan bagian rostral dari truncus encephali yang terletak pada peralihan antara fossa cranii media ke fossa cranii posterior. Rongga yang terdapat di dalamnya akan membentuk suatu celah sempit yang dinamakan aqueductus mesencephali (aqueductus cerebri), tempat meyalurkan cairan serebrospinal (CSS) dari ventriculus lateralis dan ventriculus tertius menuju ventriculus quartus. Otak tengah merupakan penghubung antara nervus kranial III (*oculomotor*) dan IV (*trochlear*) (Pearce, 2013; Widia, 2015).

Pons adalah bagian tengah dari truncus encephali, terletak dalam pars anterior fossa cranii posterior. Pons bertugas menghubungkan nervus kranial V (*trigeminal*). Medulla oblongata merupakan bagian kaudal dari truncus encephali yang akan berlanjut menjadi medulla spinalis. Medulla oblongata terletak di dalam fossa cranii posterior yang menghubungkan nervus kranial IX (*glossopharyngeal*), X (*vagus*), dan XII (*hypoglossal*). Sedangkan nervus kranial VI (*abducens*), VII (*facialis*), dan VIII (*vestibulocochlear*) dihubungkan oleh taut antara pons dan medulla (Pearce, 2013; Widia, 2015).

Cerebellum terletak di bawah tentorium cerebelli pada fossa cranii posterior. Cerebellum terdiri dari tiga lobus yang dibagi oleh dua fisura yang dalam, yaitu lobus anterior, lobus posterior, dan lobus flokulonodular. Ketiganya dipisahkan oleh suatu celah dangkal yang disebut vermis (Pearce, 2013; Widia, 2015).

Otak memiliki sistem ventrikular yang dibentuk oleh empat ventriculus, yaitu dua ventriculus lateralis, ventriculus tertius, dan ventriculus quartus. Ventriculus lateralis merupakan rongga paling besar pada sistem ventrikel dan mengisi area besar hemispherium cerebri. Setiap ventriculus lateralis akan bermuara ke dalam ventriculus tertius melalui *foramen intraventriculare*. Ventriculus tertius, suatu rongga menyerupai celah diantara separuh kanan dan

kiri diencephalon, berlanjut di posteroinferior dengan aqueductus cerebri (suatu kanal sempit pada otak tengah yang menghubungkan ventriculus tertius dan quartus). Ventriculus quartus di bagian posterior akan meruncing menjadi kanal sempit yang berlanjut ke dalam regio cervical medulla spinalis sebagai canal centralis (Pearce, 2013; Widia, 2015).

Otak mensekresi cairan yang disebut cairan serebrospinal (CSS). Cairan serebrospinal disekresi (dengan kecepatan 400-500 mL setiap hari) oleh sel-sel epitel koroidal (sel-sel endipimal termodifikasi) pada plexus choroideus dalam ventriculus lateralis, tertius, dan quartus. Plexus choroideus terdiri dari pinggir vaskular piamater yang dilapisi oleh sel-sel epitel kuboid (Pearce, 2013; Widia, 2015).

Perdarahan otak terjadi melalui cabang arteri karotis interna dan arteri vertebralis. Arteri carotis interna merupakan cabang dari arteri carotis comunis. Cabang terminal dari arteri carotis interna adalah arteri cerebri anterior dan arteri cerebri media yang memperdarahi otak serta arteri ophthalmica yang memperdarahi bagian mata. Circulus arteriosus willisi pada dasar otak adalah anastomosis yang penting antara lima arteri yang memasok darah ke otak, diantaranya arteri cerebri anterior, arteri comunicans anterior, arteri carotis

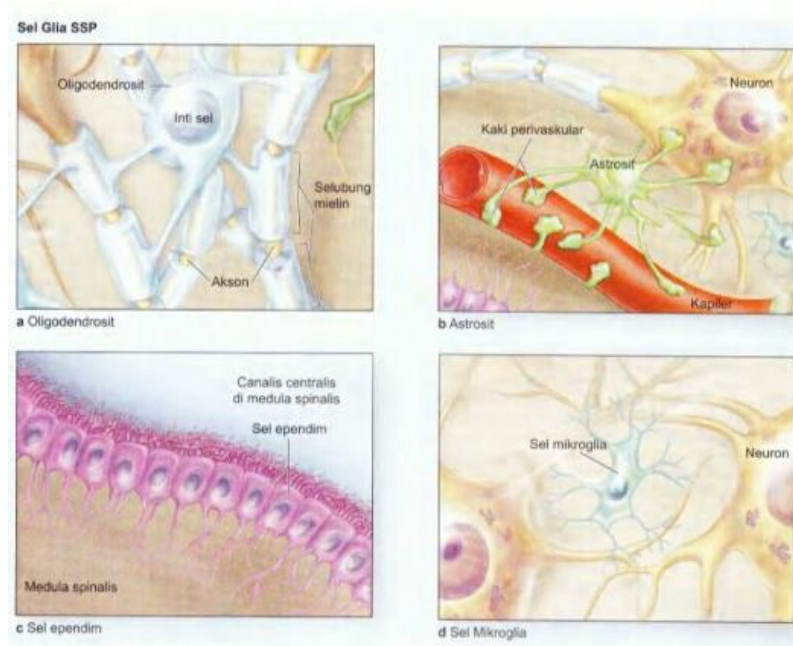
interna, arteri cerebri posterior, dan arteri comunicans posterior (Aziztama, 2012).

2.2.2 Histologi Otak

Otak yang merupakan sistem saraf pusat (SSP) terdiri atas substansi alba dan substansi grisea yang terdiri dari neuron dan neuroglia. Neuron adalah sel struktural dan fungsional dari jaringan saraf. Ada tiga bentuk neuron berdasarkan klasifikasi anatominya, yaitu unipolar, bipolar, dan multipolar (Junquiera, 2007).

Neuron unipolar memiliki satu cabang yang terjulur keluar dari badan selnya dan bersifat sensoris. Sedangkan neuron bipolar memiliki satu dendrit dan satu akson yang keluar dari badan sel neuron. Neuron bipolar yang juga neuron sensoris banyak ditemukan pada sel reseptor sensoris pada retina mata, telinga dalam, dan epitel olfaktori di bagian atap rongga hidung. Sementara neuron multipolar adalah jenis neuron yang paling banyak terdapat di otak dan berperan ganda sebagai neuron motoris serta interneuron otak. Dinamakan neuron multipolar karena banyak dendrit bercabang yang terjulur keluar dari badan sel neuronnya (Mudi, 2010; Undip, 2011).

Pada SSP dapat ditemukan sel penyokong yang disebut neuroglia. Sel-sel penyokong memiliki banyak cabang yang terdapat diantara neuron. Jumlahnya kurang lebih sepuluh kali lipat dari jumlah neuron yang ada di dalam sistem saraf. Neuroglia terdiri dari makroglia dan mikroglia (Peckham, 2013).



Gambar 3. Sel-sel glia sistem saraf pusat.
(sumber: Junquiera, 2007)

Makroglia sering disebut juga astrosit. Adapun yang termasuk ke dalam makroglia, yaitu astrosit dan oligodendrosit. Astrosit merupakan sel glia terbesar yang memiliki banyak prosesus yang berfungsi sebagai makrofag. Sel ini berfungsi memberikan nutrisi neuron, isolator sinapsis, pelindung saraf, dan memfagosit debris pada jaringan SSP yang rusak. Astrosit terbagi menjadi astrosit

fibrosa dan astrosit protoplasma. Astrosit fibrosa terdapat di substansi alba yang mempunyai sitoplasma panjang, lurus, dan sedikit cabang. Astrosit protoplasma terdapat di substansi grisea. Astrosit protoplasma mempunyai inti lebih besar, berbentuk bulat atau oval, sitoplasmanya bergranula, kromatin tersebar rata, mempunyai satu nukleus dan cabang sitoplasmanya bergelombang pada pembuluh darah yang disebut *perivascular feet* (Junquiera, 2007; Rizal, 2014).

Fungsi astrosit sangat penting untuk ketahanan hidup. Astrosit mengatur konstituen lingkungan ekstrasel, mengabsorpsi kelebihan neurotransmitter setempat, dan menyekresikan molekul metabolik. Bila SSP mengalami cedera, astrosit berproliferasi untuk membentuk jaringan parut yang bisa mengganggu regenerasi neuron (Junquiera, 2007).

Oligodendrosit mempunyai ukuran yang lebih kecil dari astrosit serta memiliki prosesus lebih sedikit dan lebih pendek daripada astrosit. Oligodendrosit merupakan sel glia yang dominan di substansi alba pada SSP. Pada substansi grisea, oligodendrosit terletak dekat dengan perikarion sedangkan astrosit terletak dekat dengan akson bermielin karena bertugas menghasilkan mielin. Selain itu,

oligodendrosit berbentuk bulat, memiliki tonjolan sitoplasma sedikit, dan tidak berserabut (Junquiera, 2007; Rizal, 2014).

Mikroglia adalah sel kecil memanjang dengan prosesus pendek yang iregular. Jumlahnya lebih sedikit jika dibandingkan dengan astrosit dan oligodendrosit tetapi penyebarannya lebih merata di seluruh substansi alba dan substansi grisea. Mikroglia memiliki ciri-ciri badan sel yang kecil, padat, gepeng. Inti selnya kecil dan lebih banyak terdapat di substansi alba dibandingkan substansi grisea. Mikroglia merupakan pertahanan imun utama pada jaringan SSP (turunan monosit) (Junquiera, 2007; Rizal, 2014).

Adapun sel lain yang terdapat di dalam SSP yang bernama sel ependim. Sel ependim merupakan sel epitel kuboid atau silindris rendah yang melapisi kanalis sentralis medulla spinalis. Pada kehidupan embrional, ependim mempunyai silia sementara pada keadaan dewasa sebagian besar ependim sebagai pelapis ventrikel otak dan kanalis medula spinalis. Sebagian kecilnya tetap berbentuk silia yang memudahkan pergerakan CSS dan mikrovili panjang yang berperan dalam absorpsi CSS. Sel ependim pada beberapa tempat berdiferensiasi menjadi *plexus choroideus* yang memproduksi CSS (Junquiera, 2007; Yuliana, 2013). Asal dan fungsi utama sel glia tersaji pada tabel 1.

Tabel 1. Asal dan fungsi utama sel glia (sumber: Junquiera, 2007).

Jenis sel glia	Asal	Fungsi utama
Oligodendrosit	Tubus neuralis	Produksi mielin, insulator listrik
Astrosit	Tubus neuralis	Penyangga struktural, proses perbaikan sawar darah otak, pertukaran metabolik
Sel ependim	Tubus neuralis	Melapisi rongga-rongga di SSP
Mikroglia	Sumsu tulang	Aktivitas imun

2.3 Lengkuas (*Alpinia galanga*)

Lengkuas, yang mempunyai nama Jawa laos, dikenal secara luas sebagai salah satu bahan penyedap makanan karena memiliki rasa yang pedas dan aroma yang harum (Chasanah, 2013). Pemanfaatan lengkuas dalam makanan dengan cara mememarkan atau menumbuk rimpangnya kemudian dicampurkan ke dalam makanan. Lengkuas yang merupakan jenis tumbuhan umbi-umbian dapat hidup di daerah dataran rendah dan dataran tinggi, sekitar 1200 meter di atas permukaan laut (Hartono, 2009).

Selain sebagai penyedap makanan, lengkuas telah dikembangkan menjadi salah satu obat tradisional yang bisa mengobati gangguan lambung, menghilangkan kembung, obat anti jamur, menghilangkan gatal, menambah nafsu makan, demam, dan yang paling terbaru digunakan sebagai pengobatan serta pencegahan kanker (*chemoprevention*) (Udjana, 2008). Pemanfaatan lengkuas sebagai obat pertama kali dikembangkan di India, dimana masyarakatnya menyebut lengkuas sebagai “kulanjan” atau “barakulanjan” (Kaushik, 2011).

2.3.1 Klasifikasi Lengkuas (*Alpinia galanga*)

Kingdom	: Plantae (tumbuhan)
Sub Kingdom	: Tracheobionta (tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (tumbuhan berbunga)
Kelas	: Liliopsida (berkeping satu atau monokotil)
Subkelas	: Commelinidae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae (suku jahe-jahean)
Genus	: <i>Alpinia</i>
Spesies	: <i>A. Galanga</i> (Chitra dan Thoppil, 2008; Hartono, 2009)

2.3.2 Morfologi Lengkuas (*Alpinia galanga*)

Lengkuas merupakan tanaman yang berumur panjang dengan tinggi sekitar 1-2 meter, bahkan dapat mencapai 3,5 meter dan biasanya tumbuh dalam rumpun yang rapat (Florensia *et al.*, 2012). Berikut ini adalah bagian-bagian penting yang dimiliki lengkuas, yaitu:

1. Batang

Lengkuas memiliki batang yang tegak, tersusun oleh pelepah-pelepah daun yang bersatu membentuk batang semu, berwarna hijau agak keputih-putihan. Permukaan atasnya berwarna hijau mengkilat, sementara bawahnya berwarna hijau pucat.

Nantinya, batang muda akan keluar sebagai tunas dari pangkal batang tua (Hidayah, 2015; Prasetyo, 2016).

2. Bunga

Bunga lengkuas merupakan bunga majemuk berbentuk lonceng, berbau harum, berwarna putih kehijauan atau putih kekuningan. Dapat ditemukan di dalam tandan yang bergagang panjang dan ramping, biasanya terletak tegak di ujung batang. Ukurannya sekitar 2,5 cm dengan garis miring berwarna merah muda pada tiap sisinya dan mahkotanya yang masih kuncup (Hidayah, 2015; Prasetyo, 2016).

3. Daun

Lengkuas memiliki daun yang berbentuk bulat panjang dengan ujung meruncing dengan pangkal tumpul serta tepi daun rata. Daun di sebelah bawah dan atas biasanya berukuran lebih kecil dibandingkan dengan daun yang berada di tengah. Daunnya menyirip dan tersusun berseling. Panjang daunnya sekitar 60 cm dengan lebar 4-15 cm (Hidayah, 2015; Prasetyo, 2016).

4. Buah

Lengkuas menghasilkan buah yang dinamakan buah buni. Buah buni memiliki bentuk bulat dan tekstur yang keras. Sewaktu masih muda, warnanya hijau kekuningan dan setelah tua akan berubah menjadi hitam kecokelatan atau hitam kemerahan dengan diameter sekitar 1 cm (Hidayah, 2015; Prasetyo, 2016).

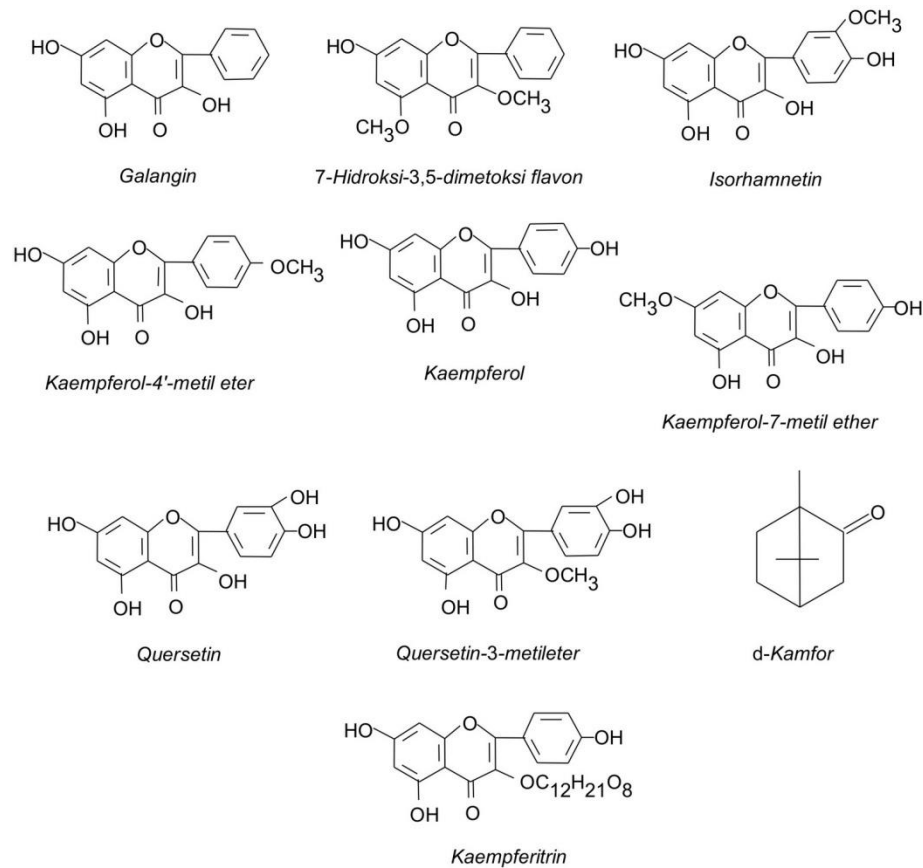
5. Rimpang

Rimpang lengkuas bentuknya silindris dengan diameter sekitar 2-4 cm, berdaging, besar, tebal, dan bercabang-cabang. Bagian luarnya berwarna coklat agak kemerahan ataupun kuning kehijauan sedikit pucat. Selain itu, di bagian luarnya juga terdapat sisik yang berwarna putih atau merah. Sedangkan bagian dalam rimpang berwarna putih (Hidayah, 2015; Prasetyo, 2016).

2.3.3 Kandungan Kimia Lengkuas (*Alpinia galanga*)

Lengkuas mengandung *fenol* dan *flavonoid*. *Flavonoid* termasuk ke dalam antioksidan sekunder, yaitu senyawa yang berfungsi menangkap radikal bebas serta mencegah terjadinya reaksi berantai sehingga tidak terjadi kerusakan lanjutan. *Flavonoid* berperan dalam menetralkan *reactive oxygen species* (ROS) dengan mekanisme memutus ikatan rantai pada tekanan parsial oksigen yang rendah (Rezkin dan Agustin, 2011).

Beberapa jenis *flavonoid* yang terkandung di dalamnya, antara lain yaitu *kaemperol*, *kaempferide*, *galangin*, *alpinin*, *basonin*, *eugenol*, *galangin*, *quersetin*, *galangol*, *7-hidroksi 3,5-dimetoksi-flavon*, *1-asetoksikavikol-asetat*, *1-asetoksi eugenol-asetat*, *kariofilenoksida*, *1,2-pentadekana*, dan lainnya (Prasetyo, 2016).



Gambar 4. Beberapa rumus bangun berbagai jenis *flavonoid*.
(sumber: Anonim, 2010)

Ekstrak rimpang lengkuas mengandung dua kandungan, yaitu kandungan primer dan kandungan sekunder. Kandungan primer lengkuas, diantaranya *acetoxychavicol acetate* (ACA), *hydroxychavicol acetate* (HCA), *1, 8-cineole*; β -*bisaboline*, dan β -*selinene*. Sedangkan α -*selinen*, *farnesene*, *germacrene B*, *1,2-benzenedicarboxylic acid*, dan *pentadecane* termasuk ke dalam kandungan sekunder lengkuas. Adapun senyawa tambahan yang terdapat dalam jumlah yang sangat sedikit, diantaranya *1'S'-1' acetoxyeugenol acetate*, *1'S'-1' hydroxychavicol acetat*, *trans-p-*

coumaryl alcohol, *trans-p-hydroxycinnamil acetate*, dan *trans-p-coumaryl diacetate* (Prasetyo, 2016).

2.3.4 Manfaat Lengkuas (*Alpinia galanga*)

Lengkuas banyak dimanfaatkan sebagai anti toksik, anti piretik, diuretik, anti tumor, analgesik, anti inflamasi. Adapun potensi lain yang terdapat di dalam lengkuas, diantaranya *anti-acetylcholinestrace activity*, *anticancer and antimelanogenic potentials*, *platelet-activating factor antagonist and hepatoprotective activity*, *antileishmanial activity*, *antimicrobial activity*, *antioxidant activity*, dan *apoptosis activity* (Kaushik *et al.*, 2011; Wibowo, 2013)

Secara tradisional, rimpang lengkuas banyak digunakan sebagai obat untuk sakit perut, obat kuat, pelega tenggorokan, nyeri dada, diabetes, radang tenggorokan, penyakit ginjal dan liver, rematik, dan obat sakit kepala. Di Thailand, rimpang lengkuas dimanfaatkan sebagai obat anti jamur, anti inflamasi, dan obat berbagai jenis penyakit kulit sudah dilaksanakan secara turun temurun (Hernani, 2007; Prasetyo, 2016).

Lengkuas putih mempunyai manfaat bagi sistem urinaria, yaitu membantu mengurangi produksi urin pada penderita poliuria dan

membantu menanggulangi impotensi. Ekstrak *etil asetat* lengkuas yang mengandung *Acetoxy chavicol acetat* (ACA) mampu meningkatkan apoptosis, mencegah inflamasi, menghilangkan radikal bebas, dan menghambat aktivitas proliferasi sel kanker (Hartono, 2009; Andriana dan Fatmawati, 2016; Prasetyo, 2016).

Fenol yang terkandung dalam lengkuas bermanfaat sebagai antiseptik dan anti bakteri. Pada konsentrasi rendah, *fenol* akan merusak membran sel sehingga menyebabkan kebocoran sel bakteri. Sementara pada konsentrasi tinggi, *fenol* dapat berkoagulasi dengan protein seluler dan menyebabkan membran sel bakteri menjadi tipis. Penipisan membran sel pejamu akan sangat efektif jika bakteri sedang dalam tahap pembelahan, dimana nantinya *fenol* lainnya dapat berpentiasi dan merusak isi sel dengan mudah. Nantinya, *fenol* akan merusak bakteri dengan cara merubah sifat deretan asam amino milik bakteri, sehingga aktivitas biologis asam amino akan terganggu (Parwata, 2008).

Adapun manfaat lainnya yang dihasilkan berbagai jenis *flavonoid* dalam lengkuas, antara lain:

1. *Basonin* : merangsang semangat
2. *Eugenol* : mencegah ejakulasi dini, anti jamur untuk *Candida albicans*, anti kejang, analgetik

3. *Galangin* : meredakan rasa lelah, anti piretik
4. *Galangol* : merangsang semangat dan menghangatkan tubuh
5. *Quersetin*: mengobati kerapuhan tulang (Udjana, 2008; Chasanah, 2013).

2.4 Mencit

Menurut Kimball dalam Bimandama (2017), mencit diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Genus	: <i>Mus</i>
Spesies	: <i>Mus musculus</i> L



Gambar 5. Mencit.
(sumber: Anonim, 2012)

Menurut Molole dan Pramono dalam Bimandama (2017), mencit merupakan hewan yang paling banyak digunakan sebagai hewan model laboratorium dengan kisaran penggunaan antara 40-80%. Banyak keunggulan yang dimiliki oleh mencit sebagai hewan percobaan, yaitu memiliki kesamaan fisiologis dengan manusia, siklus hidup relatif pendek, jumlah anak per kelahiran banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi, dan mudah dalam penanganan.

Mencit merupakan omnivora alami, sehat, kuat, prolifik, kecil, dan jinak. Mencit laboratorium memiliki berat badan yang bervariasi antara 18-20 gram pada umur empat minggu. Mencit memiliki bulu yang pendek, halus, dan berwarna putih serta ekor berwarna kemerahan dengan ukuran lebih panjang dari badan dan kepalanya (Pradana, 2012).

Tabel 2. Sifat biologis mencit (sumber: Pradana, 2012).

Kriteria	Keterangan
Lama hidup	1-3 tahun
Lama hamil	19-21 hari
Lama sapih	21 hari
Kawin sesudah beranak	19-24 jam
Umur dewasa kelamin	35 hari
Umur dikawinkan	8 minggu
Siklus uterus	4 - 5 hari
Lama estrus	12 - 14 jam
Berat dewasa jantan	20 - 40 gram
Berat dewasa betina	18 - 35 gram
Berat lahir	0,5 – 1,0 gram
Jumlah anak lahir	6 – 15 ekor
Jumlah puting susu	5 pasang
Kecepatan tumbuh	1 gr/hari

Kandang mencit biasanya berupa kotak yang terbuat dari plastik dengan kawat kasa sebagai penutup bagian atas kandang. Kelengkapan lain yang diperlukan adalah tempat pakan, tempat minum, dan alas kandang. Kandang harus memiliki luas yang cukup sehingga mencit bebas bergerak, dimana biasanya terdapat 5 – 6 ekor mencit dalam satu kandang. Kandang tidak boleh ditempatkan pada daerah yang bising, lembab, dan berdebu serta yang paling penting adalah mencit lebih menyukai tempat yang gelap (Suhanda, 2016).

Mencit dewasa dapat mengonsumsi pakan 3–5 g/hari. Zat-zat makanan yang dibutuhkan seekor mencit adalah protein kasar 20% - 25%, kadar pati 44% -45%, kadar lemak 10% - 12%, dan kadar serat maksimal 4%. Sedangkan air minum yang dibutuhkan seekor mencit berkisar antara 4 -8 ml/hari. Air minum untuk dikonsumsi harus selalu tersedia dan bersih karena mencit menyukai air yang baru. Seekor mencit mudah sekali kehilangan air sebab evaporasi tubuh yang sangat tinggi. Konsumsi mencit dapat meningkat seiring dengan meingkatnya berat badan, karena pada umumnya kapasitas saluran pencernaan meningkat, sehingga daya tampungnya juga lebih banyak (Rahmadi, 2008).

2.5 Kerangka Penelitian

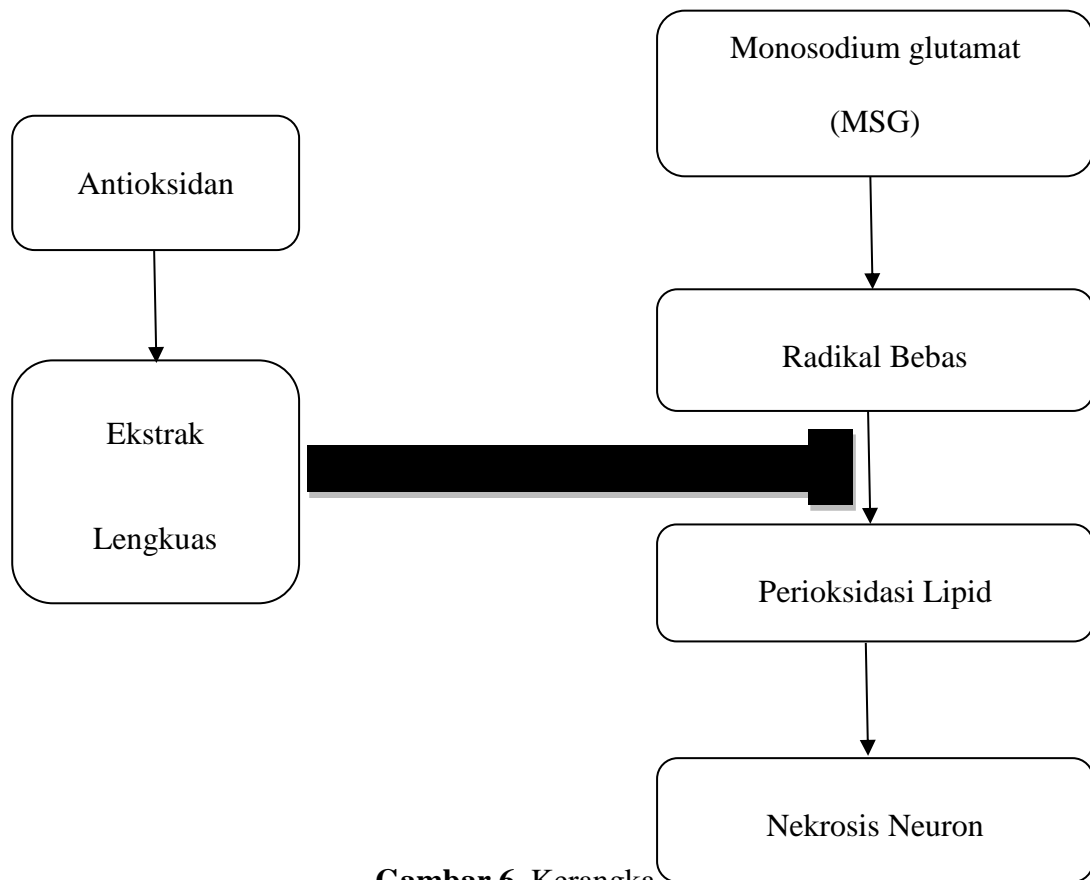
2.5.1 Kerangka Teori Penelitian

Monosodium glutamate merupakan garam natrium yang bisa dikategorikan sebagai salah satu radikal bebas (Aziztama, 2012). Radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki elektron yang tidak berpasangan (*unpaired electron*) pada orbit terluarnya, sehingga menjadi komponen yang tidak stabil dan menjadi sangat reaktif (Pham-huy *et al.*, 2008).

Pada keadaan normal terjadi keseimbangan antara pembentukan senyawa oksigen reaktif (SOR) yang terdiri dari radikal bebas dan non radikal dan aktivitas antioksidan yang terdapat di dalam sel. Jika terjadi gangguan dalam keseimbangan tersebut, maka akan timbul stres oksidatif yang dapat menyebabkan kerusakan komponen-komponen sel (Pham-huy *et al.*, 2008).

Stres oksidatif terbentuk saat bentuk oksigen yang reaktif dihasilkan dengan cepat tanpa bisa dinetralisir oleh mekanisme pertahanan sel yang bisa dilakukan oleh antioksidan. Lengkuas merupakan salah satu tumbuhan yang mempunyai aktivitas antioksidan. Di dalam lengkuas terkandung *trans-3-acetoxy-1,8-cineole* yang memiliki tugas utama menetralkan radikal bebas, terutama *1,1-diphenyl-2-*

picrylhydrazyl radical yang dengan cepat dapat memicu nekrosis neuron (Pham-huy *et al.*, 2008; Kaushik *et al.*, 2011).



Gambar 6. Kerangka teori penelitian.

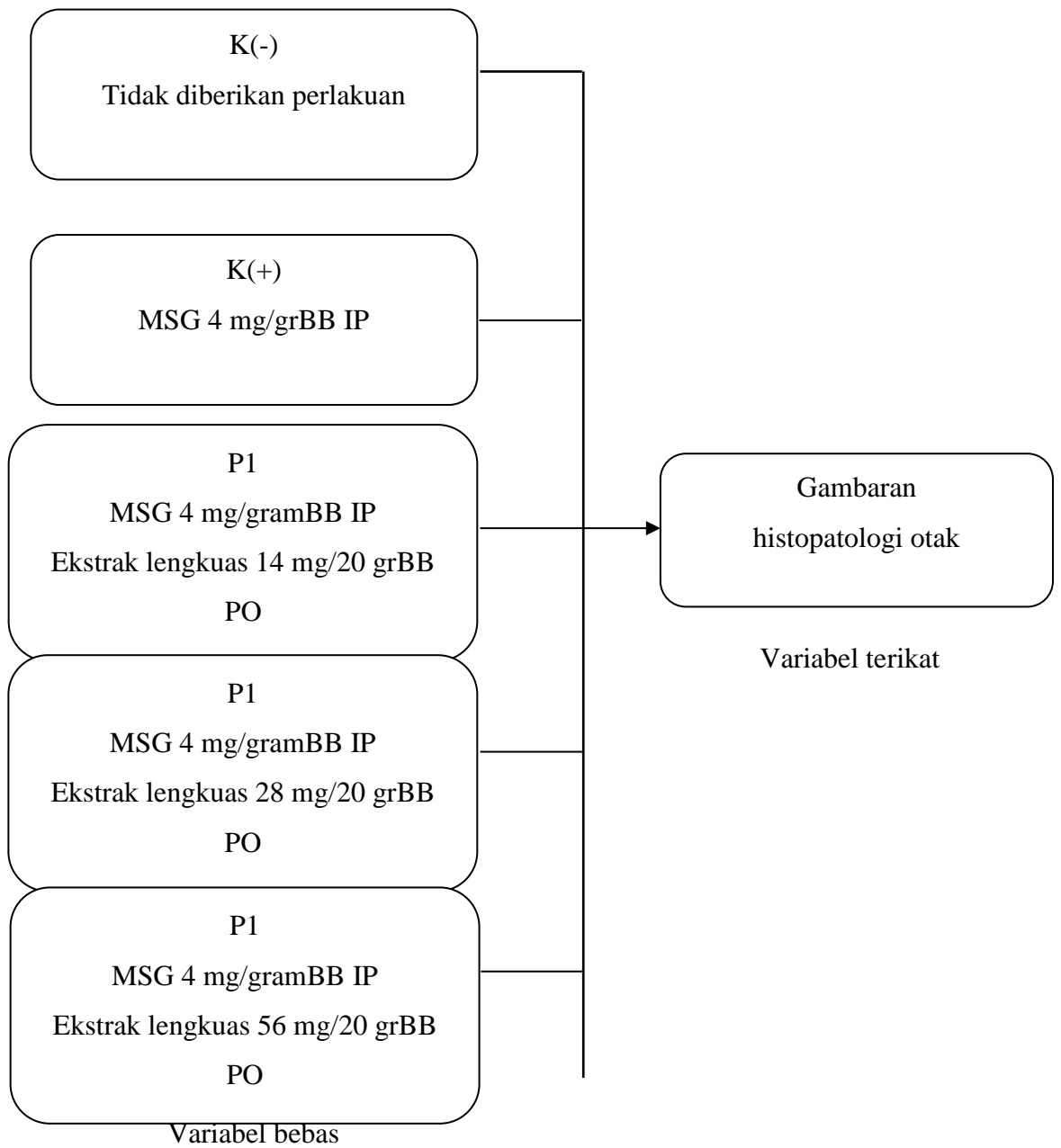
Keterangan:

→ : memicu

⊥ : menghambat

2.5.2 Kerangka Konsep Penelitian

Kerangka konsep penelitian tersaji pada gambar 7.



Gambar 7. Kerangka Konsep Penelitian.

2.6 Hipotesis

Adapun hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Terdapat pengaruh pemberian *Monosodium glutamate* (MSG) terhadap gambaran histopatologi otak mencit (*Mus musculus* L) jantan.
2. Terdapat pengaruh pemberian ekstrak lengkuas (*Alpinia galanga*) terhadap gambaran histopatologi otak mencit (*Mus musculus* L) jantan yang diinduksi *Monosodium glutamate* (MSG).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental desain penelitian *Post Test Only Control Group Design*. Penelitian ini mengukur perlakuan (intervensi) pada kelompok eksperimen dengan cara membandingkan kelompok tersebut dengan kelompok kontrol (Notoatmodjo, 2014). Desain ini menggunakan 5 (lima) kelompok perlakuan terhadap hewan percobaan mencit putih jantan (*Mus musculus* L) strain *Deutschland-Denken-Yoken* (ddY) dewasa.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Pemberian perlakuan penelitian ini dilakukan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, pembuatan ekstrak di Laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung, proses pembedahan dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, pembuatan preparat dan pembacaan preparat histopatologi dilakukan di

Laboratorium Patologi Anatomi dan Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung selama bulan Oktober - November 2017.

3.3 Populasi dan Sampel

Populasi penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus* L) jantan strain *Deutschland-Denken-Yoken* (ddY) dewasa berumur 2,5 – 3 bulan dengan berat 25-35 gram dan sehat yang dikembangkan di Palembang Tikus Center. Sampel adalah objek yang diteliti dan dianggap mewakili seluruh populasi (Notoatmodjo, 2014). Penentuan jumlah sampel ini berdasarkan rumus Federer untuk uji eksperimental:

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

Dimana t adalah jumlah kelompok percobaan dan n adalah jumlah pengulangan atau jumlah sampel pada setiap kelompok (Arkeman dan David, 2006). Penelitian ini menggunakan 5 kelompok perlakuan. Jadi, perhitungan sampelnya menjadi:

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

$$(5-1)(n-1) \geq 15$$

$$4(n-1) \geq 15$$

$$n-1 \geq 15 / 4$$

$$n-1 \geq 3,75$$

$$n \geq 4,75$$

Jadi, dapat disimpulkan bahwa penelitian ini menggunakan sampel 5 ekor mencit jantan untuk setiap kelompok perlakuan. Untuk menghindari *drop out* ditambahkan mencit dengan rumus sebagai berikut:

$$N = \frac{n}{1 - f}$$

Keterangan:

N = Besar sampel koreksi

n = Jumlah sampel berdasarkan estimasi

f = Perkiraan proporsi drop out sebesar 10% (Sastroasmoro dan Ismael, 2010).

$$N = \frac{n}{1 - f}$$

$$N = \frac{5}{1 - 10\%}$$

$$N = 5 + 0,9$$

$$N = 5,67$$

$$N = 6$$

Berdasarkan perhitungan sampel di atas, akan diberikan penambahan 1 ekor mencit per-kelompok untuk menghindari *drop out*. Sehingga jumlah sampel yang digunakan adalah sebanyak 30 ekor mencit (*Mus musculus L*)

jantan strain *Deutschland-Denken-Yoken* (ddY). Sampel akan dipilih menggunakan metode *random stratified sampling*.

3.3.1 Kriteria Inklusi

- a. Mencit (*Mus musculus* L) jantan strain *Deutschland-Denken-Yoken* (ddY)
- b. Jenis kelamin jantan
- c. Berumur 2,5–3 bulan
- d. Berat badan 20–30 gram

3.3.2 Kriteria Eksklusi

- a. Kelainan anatomis
- b. Mencit kurang sehat, penampakan rambut rontok, kurang aktif, keluar eksudat dari hidung, ruam pada kulit
- c. Penurunan berat badan >10% saat masa adaptasi
- d. Mati selama masa penelitian

3.4 Bahan dan Alat Penelitian

3.4.1 Bahan Penelitian

- a. Hewan percobaan
- b. Pelet sebagai makanan hewan percobaan
- c. Air
- d. *Monosodium glutamate* (MSG)
- e. Lengkuas

f. Pelarut

3.4.2 Bahan Kimia

- a. Kloroform
- b. Formalin
- c. Alkohol 70-100%
- d. Zat warna Hematoksin-Eosin (HE)
- e. Paraffin
- f. Xylol
- g. Canada balsam
- h. NaCl 0,9%
- i. Aquades

3.4.3 Alat Penelitian

- a. Kandang mencit yang terbuat dari kawat sebanyak 5 kandang
- b. Sonde lambung
- c. Spuit 1 cc
- d. Botol minum mencit
- e. Minor set
- f. Mikroskop
- g. Pipet tetes
- h. Erlenmeyer
- i. Mikrotom
- j. *Rotary evaporator*

- k. *Soxhlet*
- l. *Pipet eppendorf*
- m. *Object glass*
- n. Aluminium foil
- o. Neraca analitik *Metler Toleda* dengan tingkat ketelitian 0,01 g
- p. *Cover glass*
- q. Kapas alkohol

3.5 Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional Variabel

3.5.1 Variabel Penelitian

- a. Variabel Bebas
 - 1. *Monosodium glutamate*
 - 2. Ekstrak lengkuas (*Alpinia galanga*)
- b. Variabel Terikat
 - 1. Histopatologi otak

3.5.2 Definisi Operasional Variabel

- 1. *Monosodium glutamate* (MSG)

Adalah penambah rasa makanan dengan *L-glutamic acid* sebagai komponen asam amino. Adapun MSG yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 4 mg/grBB yang diberikan kepada mencit secara intraperitoneal (Nayanatara *et al.*, 2008).
- 2. Ekstrak Etanol Rimpang Lengkuas

Adalah sumber antioksidan yang diperoleh melalui ekstraksi senyawa aktif rimpang lengkuas (flavonoid) menggunakan pelarut etanol 96%. Pemberian ekstrak etanol rimpang lengkuas kepada mencit secara oral dengan dosis bertingkat sebesar 14 mg/20 grBB, 28 mg/20 grBB, dan 56 mg/20 grBB.

3. Gambaran Histopatologi Otak

Nilai yang digunakan untuk mengukur kerusakan otak mencit yang dilihat menggunakan mikroskop cahaya dalam 5 lapang pandang dengan perbesaran 400x lalu dihitung jumlah sel neuron yang mengalami nekrosis dan diambil rata-ratanya.

Adapun nilai-nilai tersebut antara lain:

- 0: tidak ada neuron yang nekrosis
- 1: terdapat 1-10 neuron yang nekrosis (ringan)
- 2: terdapat 11-20 neuron yang nekrosis (sedang)
- 3: terdapat >20 neuron yang nekrosis (berat)

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Pemeliharaan Hewan Percobaan

Hewan uji yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus* L) jantan strain *Deutschland-Denken-Yoken* (ddY) dewasa berumur 2,5-3 bulan dengan berat 25-35 gram dan sehat. Dasar kandang dilapisi dengan sekam padi setebal 0,5-1 cm dan diganti tiap tiga hari untuk mencegah terjadinya infeksi akibat kotoran mencit tersebut. Dalam 1 kelompok, 6 ekor mencit ditempatkan dalam 1 kandang.

Kandang ditempatkan dalam suhu kamar dan cahaya memanfaatkan sinar matahari tidak langsung. Makanan dan minuman diberikan secukupnya dalam wadah terpisah dan diganti setiap hari. Makanan yang diberikan pada mencit berupa pelet ayam, sedangkan air minum yang diberikan berupa air putih yang diletakkan dalam botol plastik yang disumbat pipa aluminium. Setiap mencit diberi perlakuan satu kali sehari selama 15 hari.

3.6.2` Adaptasi Hewan Percobaan

Mencit yang telah diambil dari populasi di Palembang Tikus Center kemudian dimasukkan ke kandang yang telah dipersiapkan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Sebelum diberi perlakuan, mencit diadaptasikan pada lingkungan barunya selama satu minggu. Setiap satu kali dalam seminggu, kandang dibersihkan dari kotoran. Pemberian makan dan minum dilakukan secara *ad libitum* (tidak terbatas). Selain itu, dalam waktu seminggu juga dilaksanakan penimbangan berat badan mencit dan diamati kesehatannya secara fisik (gerakan, makan, dan minumannya).

3.6.3 Penyediaan Lengkuas dan *Monosodium glutamate*

Lengkuas didapatkan dari lengkuas yang terdapat dipasaran. Sedangkan MSG diperoleh di pasaran dengan merek dagang

Ajinomoto produksi PT. Ajinomoto Indonesia. Bubuk MSG berupa kristal putih yang mengandung 99% *Monosodium glutamate* dan terbungkus rapi dalam kantong plastik tertutup.

Pada penelitian ini zat padat yang digunakan berupa MSG dengan kadar toksik 4 mg/grBB (Nayanatara *et al.*, 2008; Irmananda, 2014). Sedangkan larutan yang digunakan sebagai pelarut adalah NaCl (larutan garam) 0,9% sebanyak 0,5 ml.

1. Pelarutan *Monosodium glutamate*

Tahap selanjutnya adalah melarutkan MSG. Sebelumnya harus diukur dahulu berat MSG yang akan digunakan. Berdasarkan referensi dosis MSG yang digunakan adalah 4 mg/grBB hewan percobaan yang diberikan selama 14 hari (Irmananda, 2014). Dikarenakan berat badan hewan percobaan sebesar 30 gr, maka MSG yang digunakan sebesar:

$$\begin{aligned}\text{MSG} &= \text{dosis} \times \text{berat badan mencit} \\ &= 4 \text{ mg/grBB} \times 30 \text{ gr} \\ &= 120 \text{ mg}\end{aligned}$$

Dari hasil perhitungan, didapatkan berat MSG yang digunakan sebanyak 120 mg. Selanjutnya, dilakukan penimbangan MSG menggunakan neraca analitik sampai berat MSG 120 mg kemudian dimasukkan ke dalam gelas ukur dan ditambahkan 0,5

ml larutan NaCl 0,9%. Setelah itu diaduk dengan spatula sampai kristal MSG larut.

2. Pembuatan Ekstrak Lengkuas

Lengkuas dikumpulkan, dikupas kulitnya, dicuci pada air mengalir, dan ditiriskan. Kemudian lengkuas dirajang kecil-kecil dan dikeringkan di bawah sinar matahari selama tujuh hari (metode konvensional). Lengkuas yang sudah kering dihaluskan menggunakan *blender* dan disimpan dalam wadah bersih. Serbuk lengkuas siap diekstraksi dengan metode maserasi.

Pembuatan ekstrak lengkuas dilakukan dengan maserasi, yaitu dengan merendam serbuk di dalam cairan penyaring. Serbuk lengkuas direndam dalam 2 liter etanol 70% selama 24 jam yang selanjutnya disaring hingga mendapatkan filtrat. Filtrat tersebut kemudian dievaporasi menggunakan *Rotary evaporator* dengan pengurangan tekanan sampai dihasilkan ekstrak yang kental. Evaporasi dilakukan agar terjadi pemisahan atau pemurnian antara zat terlarut dan pelarut. Ekstrak kental tersebut selanjutnya diencerkan dengan aquades.

3. Pelarutan Ekstrak Lengkuas

Dosis efektif ekstrak lengkuas yang diberikan pada tikus adalah 200 mg/200 grBB tikus. Dari hasil konversi dari tikus ke mencit, didapatkan:

$$\begin{aligned}\text{Untuk 20 gr mencit} &= 0,14 \times 200 \\ &= 28 \text{ mg/ 20grbb}\end{aligned}$$

Kemudian ekstrak lengkuas akan dimasukkan ke dalam gelas ukur dan ditambahkan 0,5 ml aquades.

3.7 Pemberian Perlakuan

Setiap kelompok mempunyai perlakuan yang berbeda, yaitu:

1. Kontrol positif : hanya diberi MSG 4 mg/grBB yang dilarutkan dalam 0,5 ml NaCl 0,9% secara intraperitoneal selama 14 hari.
2. Kontrol negatif : tidak diberi perlakuan.
3. P1 : diberi MSG 4 mg/grBB yang dilarutkan dalam 0,5 ml NaCl 0,9% secara intraperitoneal selama 14 hari+diberi ekstrak lengkuas sebanyak 14 mg/ 20 grBB yang dilarutkan dalam 0,5 ml aquades secara oral setiap hari selama 7 hari.
4. P2 : diberi MSG 4 mg/grBB yang dilarutkan dalam 0,5 ml NaCl 0,9% secara intraperitoneal selama 14 hari+diberi ekstrak lengkuas sebanyak 28 mg/ 20 grbb yang dilarutkan dalam 0,5 ml aquades secara oral setiap hari selama 7 hari.
5. P3 : diberi MSG 4 mg/grBB yang dilarutkan dalam 0,5 ml NaCl 0,9% secara intraperitoneal selama 14 hari+diberi ekstrak lengkuas

sebanyak 56 mg/ 20 grbb yang dilarutkan dalam 0,5 ml aquades secara oral setiap hari selama 7 hari.

3.8 Pengambilan Sampel Organ

Setelah 15 hari perlakuan, dilakukan determinasi pada hewan coba dan diambil otaknya untuk dijadikan preparat histopatologi dan diperiksa. Preparat dibuat dengan pewarnaan H.E kemudian diamati dengan mikroskop cahaya. Proses pembuatan preparat histopatologi:

1. *Fixation*

- a. Spesimen berupa potongan organ otak yang telah dipotong secara representatif kemudian segera difiksasi dengan formalin 10% selama 3 jam.
- b. Dicuci pada air mengalir sebanyak 3-5 kali.

2. *Trimming*

- a. Organ dicecilkan hingga ukuran \pm 3 mm.
- b. Potongan organ otak tersebut lalu dimasukkan ke dalam *tissue cassette*.

3. Dehidrasi

Keringkan *tissue cassette* dengan diletakkan pada *tissue pengering*, dehidrasi dengan:

- a. Alkohol 70% selama 30 menit.
- b. Alkohol 96% selama 30 menit.
- c. Alkohol 96% selama 30 menit.
- d. Alkohol 96% selama 30 menit.

- e. Alkohol absolut selama 1 jam.
- f. Alkohol absolut selama 1 jam.
- g. Alkohol absolut selama 1 jam.
- h. Alkohol xylol 1:1 selama 30 menit.

4. *Clearing*

Untuk membersihkan sisa alkohol, dilakukan *clearing* dengan xylol I dan II, masing-masing selama 1 jam.

5. *Impregnasi*

Impregnasi dilakukan dengan menggunakan paraffin selama 1 jam dalam oven suhu 65°C.

6. *Embedding*

- a. Sisa paraffin yang ada pada pan dibersihkan dengan memanaskan beberapa saat di atas api dan diusap dengan kapas.
- b. Paraffin cair disiapkan dengan memasukkan paraffin ke dalam cangkir logam dan dimasukkan dalam oven dengan suhu di atas 58°C.
- c. Paraffin cair dituangkan ke dalam pan.
- d. Dipindahkan satu per satu dari *tissue cassette* ke dasar pan dengan mengatur jarak yang satu dengan yang lainnya.
- e. Pan dimasukkan ke dalam air.
- f. Paraffin yang berisi potongan otak dilepaskan dari pan dengan dimasukkan ke dalam suhu 4-6°C beberapa saat.
- g. Paraffin dipotong sesuai dengan letak jaringan yang ada dengan menggunakan skalpel atau pisau hangat.

- h. Lalu diletakkan pada balok kayu, diratakan pinggirnya, dan dibut ujungnya sedikit meruncing.
- i. Memblok paraffin, siap dipotong dengan mikrotom.

7. *Cutting*

- a. Pemotongan dilakukan pada ruangan dingin.
- b. Sebelum memotong, blok didinginkan terlebih dahulu di lemari es.
- c. Dilakukan pemotongan kasar, lalu dilanjutkan dengan pemotongan halus dengan ketebalan 4-5 mikron. Pemotongan dilakukan menggunakan *rotary microtome* dengan *disposable knife*.
- d. Dipilih lembaran potongan yang paling baik, diapungkan pada air, dan dihilangkan kerutannya dengan cara menekan salah satu sisi lembaran jaringan tersebut dengan ujung jarum dan sisi yang lain ditarik menggunakan kuas runcing.
- e. Lembaran jaringan dipindahkan ke dalam *water bath* suhu 60°C selama beberapa detik sampai mengembang sempurna.
- f. Dengan gerakan menyendok, lembaran jaringan tersebut diambil dengan *slide* bersih dan ditempatkan di tengah atau pada sepertiga atas atau bawah.
- g. *Slide* yang berisi jaringan ditempatkan pada inkubator (suhu 37°C) selama 24 jam sampai jaringan melekat sempurna.

8. *Staining* (pewarnaan)

- a. Setelah jaringan melekat sempurna pada *slide*, dipilih *slide* yang terbaik.

- b. Selanjutnya dilakukan deparafinisasi dalam larutan xylol I selama 5 menit dan larutan xylol II selama 5 menit.
- c. Dehidrasi dalam etanol absolut selama 1 jam, alkohol 96% selama 2 menit, alkohol 70% selama 2 menit, dan air selama 10 menit.
- d. Dilakukan pulasan inti dengan *Harris-Hematosilin* selama 15 menit.
- e. Bilas dengan air mengalir.
- f. Diwarnai dengan eosin selama maksimal 1 menit.
- g. Dehidrasi dengan alkohol 70% selama 2 menit, alkohol 96% selama 2 menit, dan alkohol absolut selama 2 menit.
- h. Kemudian dilakukan penjernihan dengan xylol I selama 2 menit dan xylol II selama 2 menit.

9. *Mounting*

Setelah pewarnaan selesai, *slide* ditempatkan di atas kertas *tissue* pada tempat datar, ditetesi dengan bahan *mounting*, yaitu entelan, dan ditutup dengan *deck glass*. Cegah jangan sampai terbentuk gelembung udara.

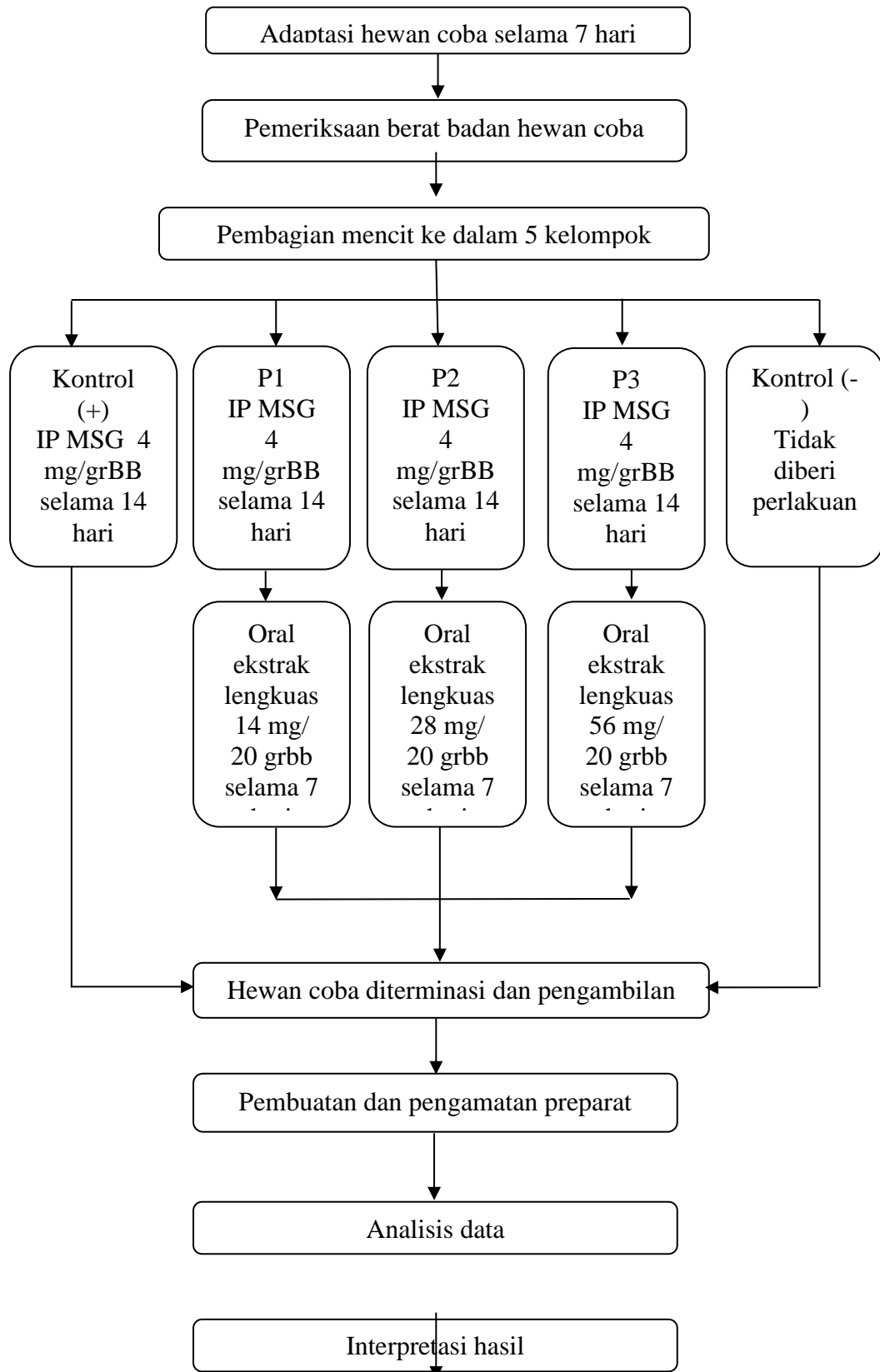
10. Pembacaan preparat

Slide diperiksa di bawah mikroskop cahaya (Windarti *et al.*, 2015)

3.9 Pengamatan histopatologi otak

Variabel dependen berupa degenerasi neuron otak mencit. Skala yang digunakan adalah skala numerik. Dari setiap mencit dibuat preparat otak dan dibaca dalam 5 lapangan pandang dengan perbesaran 400x.

Sasaran yang dibaca adalah perubahan jumlah neuron dari organ otak (Tjandra, 2010).



Gambar 8. Diagram alur penelitian.

3.10 Analisis Data

Setelah mendapatkan data dari penelitian, data tersebut dianalisis dengan program SPSS versi 24.00 untuk menilai apakah data berdistribusi normal atau tidak secara statistik. Pengujian bisa menggunakan uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* atau menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Karena sampel yang digunakan berjumlah kurang dari 50, maka uji yang digunakan adalah uji *Shapiro-Wilk*.

Jika didapatkan data berdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan dengan uji parametrik *One-Way ANOVA*. Namun, bila tidak memenuhi syarat untuk dilakukan uji parametrik, pengujian dilakukan dengan menggunakan uji non parametrik *Kruskal-Wallis*. Hipotesis dapat dikatakan diterima ketika nilai $p < 0,05$.

3.11 Ethical Clearance

Penelitian ini telah melewati kaji etik yang dilakukan oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan nomor 4459/UN26/8/DL/2017.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

1. Tidak terdapat pengaruh pemberian *Monosodium glutamate* (MSG) terhadap gambaran histopatologi otak mencit (*Mus musculus* L) jantan.
2. Tidak terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*) terhadap gambaran histopatologi otak mencit (*Mus musculus* L) jantan yang diinduksi *Monosodium glutamate* (MSG).

5.2. Saran

Untuk pengembangan dan perbaikan penelitian ini, penulis menyarankan:

1. Peneliti lain dapat melakukan penelitian lebih lanjut dengan dosis MSG yang lebih besar dalam jangka waktu yang lebih lama.
2. Peneliti lain dapat melakukan penelitian lebih lanjut dengan ekstrak etanol rimpang lengkuas dalam jangka waktu yang lebih lama.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

Abass MA, Abd El Haleem MR. 2011. Evaluation of *monosodium glutamate* induced neurotoxicity and nephrotoxicity in adult male albino rats. *Journal AM Science*. 7(8): 264-74.

Alao OA, Ashaolu JO, Ghazal OK, Ukwenya VO. 2010. Histological and biochemical effects of *monosodium glutamate* on the frontal lobe of adult wistar rats. *International Journal of Biomedical and Health Science*. 4(4):197-203.

Andriana, Fatmawati D. 2016. *Biomedical Science. Proceedings of The Scientific Annual Meeting*; 5-6 Mei 2016; Semarang. Indonesia. Indonesia: FOKI.

Anonim. 2010. Lengkuas (*Languas galanga (L.) Stuntz.*). Diakses pada tanggal 16 Maret 2017. Tersedia di: <http://lansida.blogspot.co.id/2010/08/suku-zingiberaceae-sinonim-alpinia.html>.

Anonim. 2012. Jual mencit untuk pakan reptil dan burung karnivora. Diakses pada 27 Maret 2017. Tersedia di: <http://toho060107.wordpress.com>.

Anonim. 2017. Asam glutamat. Diakses pada tanggal 16 Maret 2017. Tersedia di: https://id.wikipedia.org/wiki/Asam_glutamat.

Arkeman H, David. 2006. Efek vitamin C dan E terhadap sel goblet saluran nafas pada tikus akibat pajanan asap rokok. *Universa Medicina*. 25(2):61-6.

Aziztama R. 2012. Pengaruh pemberian vitamin C terhadap gambaran histologi otak mencit jantan dewasa (*Mus musculus L.*) yang diinduksi *monosodium glutamate* (MSG) [skripsi]. Lampung: Universitas Lampung.

Berawi KN, Agverianti A. 2017. Efek aktivitas fisik pada proses pembentukan radikal bebas sebagai faktor risiko aterosklerosis. *Juke Unila*. 6(2): 85-90.

Bimandama MA. 2017. Pengaruh pemberian ekstrak kulit pisang kepok (*Musa acuminata*) terhadap kadar kolesterol total mencit (*Mus musculus L.*) jantan galur *Deutschland-Denken-Yoken* (ddY) obesitas [skripsi]. Lampung: Universitas Lampung.

Campbell A. 2005. *Monosodium glutamate*. UK: Elsevier.

Chasanah DI. 2013. Aktivitas antimutagenik ekstrak metanol rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*) terhadap sel eritrosit dalam sumsum tulang mencit secara in vivo [skripsi]. Yogyakarta: Universitas Negeri Yogyakarta.

Chitra M, Thoppil JE. 2008. A pharmacognostical report on the rhizome of *Alpinia galanga* Linn. (*Willd*). *Calicut University*. 27(4): 9-21.

Dayono B, Trianto FH, Ilmiawan MI. 2015. Histologi sel piramidal hipokampus tikus putih pasca penghentian pajanan *Monosodium glutamat* peroral. *Jurnal Vokasi Kesehatan*. 1(4): 124-30.

Ezza HSA, Khadrawyb YA. 2014. Glutamate excitotoxicity and neurodegeneration. *J Mol Genet Med*. 8(4): 1-4.

Florensia SP, Dewi NR, Utami. 2012 Pengaruh ekstrak lengkuas pada perendaman ikan bandeng terhadap jumlah bakteri. *Journal of Life Science*. 1(2):114-7.

Food and Drug Association (FDA). 2012. Questions and answers on *monosodium glutamate* (MSG). Diakses pada tanggal 14 Maret 2017. Tersedia di: <http://www.fda.gov/food>.

Friyan EK. 2014. Histopatologi jantung dan otak besar tikus putih (*Rattus norvegicus*) akibat pemberian minyak jelantah [skripsi]. Banda Aceh: Universitas Syiah Kuala.

Guo W, Keita T, Maky OI, Koichiro I, Katsuhide I, Kinichi N, *et al.* 2014. VPA alleviates neurological deficits and restores gene expression in a mouse model of rett syndrome. *PloS One*. 9(6): 1-9.

Hartono BA. 2017. Pengaruh ekstrak etanol 96% biji jengkol (*Pithecollobium jiringa*) terhadap gambaran histopatologi gaster dan berat gaster tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* [skripsi]. Lampung: Universitas Lampung.

Hartono NWB. 2009. Pengaruh *Alpinia galanga* (lengkuas) terhadap aktivitas indeks apoptosis pada adenokarsinoma mammae mencit C3H [tesis]. Semarang: Universitas Diponegoro.

Hernani T, Marwati, Winarti C. 2007. pemilihan pelarut pada pemurnian ekstrak lengkuas (*Alpinia galanga*) secara ekstraksi. *Jurnal Pascapanen*. 4(1): 1-8.

Hidayah RY. 2015. Pengaruh penggunaan berbagai massa lengkuas (*Alpinia galanga*) terhadap sifat organoleptik dan daya simpan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) segar [skripsi]. Semarang: Universitas Negeri Semarang.

Hutsarova V, Daniela O. 2013. Monosodium glutamate toxic effects and their implications for human intake: a review. *JMED Research*. 13: 1-12.

Information Handling Services (IHS). 2015. Chemical economics handbook: *monosodium glutamate* (MSG). Diakses pada tanggal 9 September 2017. Tersedia di: <https://www.ih.com/products/monosodium-glutamate-chemical-economics-handbook.html>.

International Glutamate Informa on Service (IGIS). 2014. International glutamate informa on service. Diakses pada tanggal 15 Maret 2017. Tersedia di: <http://www.glutamate.org/>.

Irmananda V. 2014. Uji antimutagenik ekstrak etanol rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K. Schum) pada mencit jantan yang diinduksi dengan *Monosodium glutamate* (MSG) [skripsi]. Medan: Universitas Sumatera Utara.

Iswara I. 2016. Efek toksik konsumsi *monosodium glutamate*. *Juke Unila*. 5(3):100-4.

Jinap SP, Hajeb. 2010. Glutamate its applications in food and contribution to health. Elsevier. 55:1-10.

Junquiera, LC. 2007. Histologi dasar: teks dan atlas. Edisi ke-10. Jakarta: EGC.

Kanti ELA. 2012. Pengaruh pemberian vitamin C terhadap gambaran histologi hepar mencit jantan dewasa (*Mus musculus L.*) yang diinduksi *monosodium glutamate* (MSG) [skripsi]. Lampung: Universitas Lampung.

Kaushik D, Yadav J, Kaushik P, Sacher D, Rani R. 2011. Current pharmacological and phytochemical studies of the plant *Alpinia galanga*. Journal of Chinese Integrative Medicine 9(10): 1061-5.

Kimball J, Tjitrosomo SS, Soegiri N. 1996. Biology. Boston: Addison Wisley Publishing Company.

Kivi R. 2016. Chinese restaurant syndrome: what the research says about MSG. Diakses pada tanggal 14 Maret 2017. Tersedia di: http://www.healthline.com/health/chinese_restaurant_syndrome.

Lalkovicova M, Danielisova V. 2016. Neuroprotection and antioxidants. Neural Regen Res. 11(6): 865-74.

Michigana S, Koyama Y. 2017. Protection of the blood brain barrier as a theurapeutic strategy for brain damage. Biol Pharm Bull. 40: 569-75.

Molole MB, Pramono CS. 1989. Penggunaan hewan-hewan percobaan laboratorium [report]. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

Moore KL, Dalley AF, Agur AMR, Moore ME. 2013. Anatomi berorientasi klinis. Edisi ke-5. Jakarta: Erlangga.

Mudi ND. 2010. Efek paparan arus listrik melalui medium air terhadap kerusakan histopatologi otak tikus wistar [skripsi]. Semarang: Universitas Diponegoro.

Nayanatara A, Vinodini N, Damodar G, Ahamed B, Ramaswamy C, Shabarinath, Bath R. 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*. 3:1-5.

Notoatmodjo S. 2014. *Metodologi penelitian kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta.

Olney JW, Schainker B. 1969. Glutamat-type hipotalamic-pituitary syndrome in mice treated with aspartat or cysteated in infancy. *Journal of Neural Transmission*. 35(3):207-15.

Parwata OA. 2008. Isolasi dan uji aktivitas antibakteri minyak atsiri dari rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*). *Jurnal Kimia*. 2(2): 100-4.

Pasha RSDM. 2014. Pengaruh pemberian *monosodium glutamate* dalam bumbu masak per oral terhadap fungsi memori spasial tikus wistar [skripsi]. Semarang: Universitas Diponegoro.

Pearce EC. 2013. *Anatomi dan fisiologi untuk paramedis*. Jakarta: Gramedia.

Peckham M. 2013. *At a glance histologi*. Jakarta: Erlangga.

Pham-huy L, He H, Pham-huy C. 2008. Free radicals, antioxidants, in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*. 4(2): 89-96.

Pradana A. 2012. Performa mencit (*Mus musculus L.*) jantan lepas sapih umur 21-39 hari dengan pemberian cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) sebagai pakan tambahan [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

Prasetyo KRD. 2016. Uji beda daya hambat antara ekstrak rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata K. Schum*) dengan ekstrak rimpang lengkuas putih (*Alpinia galanga W.*) terhadap *Candida albicans* [skripsi]. Jember: Universitas Jember.

Rahmadi MD. 2008. Pengaruh pemberian obat herbal X terhadap fungsi hati ditinjau dari aktivitas enzim alanin amino transferase dan alkali fosfatase plasma pada tikus putih [skripsi]. Depok: Universitas Indonesia.

Rama R, Garcia JC. 2016. Excitotoxicity and oxidative stress in acute stroke. *Ischemic Stroke Updates*. New York: InTech hlm. 19-33.

Reiter RJ, Mayo JC, Tan DX, Sainz RM, Jimenez MA, Qin L. 2016. Melatonin as an antioxidant: under promises but over delivers. *J Pineal Res*. 61(3): 253-78.

Rezki E, Agustin CA, penyunting. 2011. *Metabolisme zat gizi edisi 2*. Jakarta: EGC.

Rizal S. 2014. Perbedaan gambaran histopatologi otak tikus wistar akibat paparan arus listrik media air tawar dan air laut [skripsi]. Semarang: Universitas Diponegoro.

Rusmalin H. 2003. Aktivitas anti kanker ekstrak rimpang lengkuas lokal (*Alpinia galanga (L) Sw*) pada alur sel kanker manusia serta mencit yang ditransplantasi dengan sel tumor primer [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

Samuel A. 2010. Evidence of MSG induced brain damage and endocrine disorders. Diakses pada tanggal 15 Maret 2017. Tersedia di: <http://www.truthinlabeling.org/>.

Schaar KL, Miranda MB, Sean IS. 2010. Functional assessments in the rodent stroke model. *BioMed Central*. 2(13): 1-11.

Sano C. 2009. History of glutamate production. *Am J Clin Nutr*. 72:85-325.

Sastroasmoro S, Ismael S. 2010. *Dasar-dasar metodologi penelitian klinis*. Jakarta: Sagung Seto.

Simon H, Muhartomo H, Pudjonarko D. 2013. Pengaruh pemberian *monosodium glutamate* peroral terhadap degenerasi neuron piramidal CA1 hipokampus pada tikus wistar. *Med Hosp*. 1(3):175-81.

Subramanian P, Nishan M. 2015. Biological activities of greater galangal, *Alpinia galanga* – a review. *Journal of Botanical Sciences [Online Journal]*. Tersedia dari: <https://www.rroij.com/open-access/biological-activities-of-greater-galangal-alpinia-galanga--a-review.php?aid=57292>.

Suhanda T. 2016. Pengaruh pemberian pakan tempe kedelai terhadap kadar glukosa darah puasa mencit (*Mus musculus L.*) jantan galur *Deutschland-Denken-Yoken* (ddY) obesitas [skripsi]. Lampung: Universitas Lampung.

Sukawan UY. 2008. Efek toksik *monosodium glutamate* (MSG) pada binatang percobaan [tesis]. Jakarta: Universitas Kristen Indonesia.

Takasaki Y. 1978. Studies on brain lesions after administration of monosodium L-glutamate to mice. *Toxicology*. 9(4): 107-18.

Tjandra A. 2010. Pengaruh pemberian dekstrometorfan dosis bertingkat per oral terhadap gambaran histopatologis otak tikus wistar [tesis]. Semarang: Universitas Diponegoro.

Trisnawan MH. 2014. Pengaruh pemberian ubi ungu (*Ipomoea batatas L*) terhadap kadar enzim katalase hepar dan otak pada tikus yang diberikan minyak jelantah [skripsi]. Semarang: Universitas Diponegoro.

Udjana S. 2008. Upaya pengawetan makanan menggunakan ekstrak lengkuas. *Jurnal Teknologi Separasi*. 1(2):1-7.

Ulfa ASY, Mahadewa TGB. 2013. Sawar darah otak. *E- jurnal Medika Udayana*. 2(9): 1-21.

Undip. 2011. Lecture note histologi 1. Semarang: Badan Penerbit Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

Vazana U, Veksler R, Pell GS, Prager O, Fassler M, Chassidim Y, *et al.* 2016. Glutamate mediated blood brain barrier opening: implications for neuroprotection and drug delivery. *The Journal of Neuroscience*. 36(29): 7727-39.

Waskita I. 2014. Bahan kimia buatan bisa lebih sehat daripada bahan alami. Diakses pada tanggal 16 Maret 2017. Tersedia di: <https://www.zenius.net/blog/5079/bahan-kimia-buatan-bahaya-alami-sehat>.

Wathoni N, Taofik R, Riny YH. 2009. Formulasi gel antioksidan ekstrak rimpang lengkuas (*Alpinia galangal L.Willd*) dengan menggunakan basis aqupec 505 HV. *Farmaka*. 7: 15-27.

Wiati FF. 2014. Pengaruh madu terhadap gambaran mikroskopis duodenum pada tikus wistar yang diberi *monosodium glutamate* (MSG) [skripsi]. Semarang: Universitas Diponegoro.

Wibowo NT. 2013. Uji efek ekstrak etanol 70% lengkuas (*Alpinia galanga*) terhadap kadar *alanin aminotransferase* (ALT) pada tikus putih yang diinduksi asetaminofen [skripsi]. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Widia L. 2015. Anatomi, fisiologi, dan Siklus Kehidupan. Yogyakarta: Nuha Medika.

Windarti I, Muhartono, Widyagana G. 2015. Pengaruh pemberian herbisida paraquat diklorida per oral terhadap derajat kerusakan esofagus tikus putih jantan galur *Sprague dawley*. Juke Unila. 5(9):9-12.

Yoneda J, Keigichi C, Kunio T, Ryosei S. Effects of oral *monosodium glutamate* in mouse models of asthma. Elsevier. 2011. 49:299-304.

Yuliana. 2013. Tinjauan histologi sawar darah otak. Berkala Kedokteran. 9(1): 109-17.