

HISTOLOGI SEL PIRAMIDAL HIPOKAMPUS TIKUS PUTIH PASCA PENGHENTIAN PAJANAN MONOSODIUM GLUTAMAT PERORAL

Buddy Dayono, Heru Fajar Trianto, M. In'am Ilmiawan

Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, Jl. Prof. Hadari Nawawi
e-mail : dayonobuddy@gmail.com

Abstract : Histology Of Hippocampal Pyramidal Cells Rats After Cessation Of Oral Administration Monosodium Glutamate. The aim of this study was to determine the histological of hippocampal pyramidal cells adult male wistar rats (*Rattus norvegicus*) after cessation of oral administration monosodium glutamate. This is true experimental study. This study used 27 rats and divided into 9 groups with simple random sampling. Data were analyzed using One-way ANOVA followed by LSD and Kruskal Wallis Test followed by Mann-Whitney Test. There were no significant differences in the mean number of pyramidal cells degeneration between treatment groups (P) ($p \geq 0,05$). There were significant differences in the mean number of normal pyramidal cells between treatment groups (P) ($p < 0,05$).

Keywords: monosodium glutamate (MSG), regeneration, pyramidal cells.

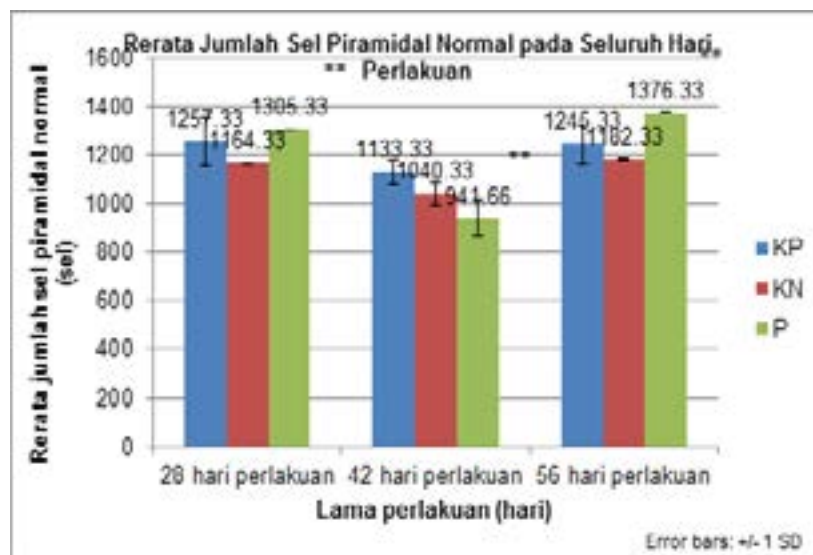
Abstrak : Histologi Sel Piramidal Hipokampus Tikus Putih Pasca Penghentian Paparan Monosodium Glutamate Peroral. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran histologis sel piramidal hipokampus tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dewasa strain wistar pasca penghentian paparan MSG peroral. penelitian ini menggunakan desain *true experiment*. Penelitian ini menggunakan 27 tikus dan dibagi 9 kelompok. Sampel dipilih dengan metode *simple random sampling*. Data dianalisa menggunakan *one-way anova* dilanjutkan LSD dan *Kruskal Wallis Test* dilanjutkan *Mann-Whitney Test*. Hasil menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna rerata jumlah sel piramidal rusak pada seluruh kelompok perlakuan (P) pada hari yang berbeda ($p \geq 0,05$). Terdapat perbedaan bermakna rerata jumlah sel piramidal normal pada seluruh kelompok perlakuan (P) pada hari yang berbeda ($p < 0,05$).

Kata kunci: monosodium glutamat (MSG), regenerasi, sel piramidal

Monosodium glutamat (MSG) merupakan salah satu bahan penyedap masakan yang berperan menciptakan rasa umami. MSG terdiri dari 78% glutamat 12% natrium dan 10% air (Lindemann, Ogiwara, dan Ni-nomiya, 2002). Glutamat digolongkan sebagai asam amino non-esensial, berarti bahwa tanpa adanya asupan glutamat dari luar, tubuh sendiri dapat menghasilkan glutamat untuk mencukupi kebutuhannya (Takahashi *et al*, 2001). Tetapi MSG tetap banyak digunakan sebagai penyedap rasa. Penggunaan MSG sesungguhnya telah dibatasi oleh *Food and Agriculture Organization* (FAO) dan *World Health Organization* (WHO) dalam pertemuannya yang menetapkan keamanan penggunaan MSG yaitu kurang dari 120 mg/kgBB/hari (Ronald dan John, 2000). Namun ken-

yataannya di masyarakat, jumlah penggunaan MSG pada bakso, mie pangsit, dan mie rebus mencapai 1840-3400 mg/mangkok (Setiawati, 2008).

Selain penggunaan MSG yang berlebihan, penggunaan MSG dalam jangka waktu panjang akan meningkatkan kadar glutamat dalam darah. Bila peningkatan mencapai dua puluh kali kadar glutamat dalam darah akan mengakibatkan peningkatan glutamat di otak khususnya hipokampus. Hipokampus merupakan daerah pada otak yang berperan penting dalam proses belajar dan ingatan. Hipokampus sebagian besar terdiri dari neuron yang berbentuk piramid yang disebut dengan sel piramidal. Pada hipokampus terdapat reseptor glutamat yaitu *ionotropic glutamate receptors* (iGluRs) dan *metabotropic glutamate recep-*



Gambar 1. Rerata Jumlah Sel Piramidal Normal Pada Hipokampus

KP = Kelompok kontrol positif;

KN = Kelompok kontrol negatif; P = Kelompok perlakuan

* = Berbeda bermakna dengan kelompok kontrol positif pada hari yang sama.

** = Berbeda bermakna antar kelompok perlakuan yang sama pada hari yang berbeda.

tors (iGluRs) dan *metabotropic glutamate receptors* (mGluRs) sehingga bila kadar glutamat berlebihan dapat menyebabkan kerusakan pada sel piramidal (Simon, Muhartomo dan Pudjonarko, 2013). Belum ada yang melaporkan perubahan yang terjadi pada sel piramidal bila dilakukan penghentian pajanan MSG. Padahal dari penelitian sebelumnya, sel piramidal dapat mengalami regenerasi bila terjadi kerusakan saat otak mengalami iskemik (Nakatomi *et al*, 2002).

METODE

Tikus yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar. Sampel yang digunakan adalah tikus putih jantan galur Wistar sebanyak 27 ekor dengan umur 8-12 minggu dengan berat badan 180-200 gram. Sampel diadaptasikan dengan lingkungan laboratorium selama 10 hari dan dibagi secara acak menjadi 9 kelompok.

Perlakuan pada penelitian ini adalah pemberian MSG dengan dosis sebesar 5mg/gBB tikus/hari yang dilarutkan dalam 1,5 ml Akuadest. Pemberian MSG dilakukan secara peroral menggunakan sonde. MSG diberikan tiap hari selama 28 hari. Setelah diberi perlakuan selama 28 hari, perlakuan kemudian dihentikan selama 1 hari, 14 hari, dan 28 hari sesuai kelompok perlakuan. Pada hari ke-2, hari ke-15, dan hari ke-29 dilakukan pembedahan kepala dan pengambilan otak tikus untuk pembuatan preparat. Otak tikus kemudian dibuat preparat histologis dengan potongan koronal dan dilakukan pengecatan HE. Setiap jaringan

dibuat 2 preparat dengan tebal irisan 2 μ m. Dari setiap preparat dilihat seluruh daerah hipokampus pada kedua hemisfer otak, kemudian dipilih hipokampus pada kedua hemisfer yang utuh dan dihitung seluruh sel piramidal normal dan rusak pada lapisan sel piramidal hipokampus sebanyak tujuh lapang pandang dengan pembesaran 400x yang diamati menggunakan mikroskop cahaya *Labomed*. Perhitungan jumlah sel dilakukan dengan aplikasi *imageJ*. Sel piramidal dihitung pada seluruh daerah CA. Hasil perhitungan masing-masing kelompok kemudian dianalisis secara statistik menggunakan uji *One Way Anova* dilanjutkan *Post Hoc Test LSD* dan *Kruskal Wallis* dilanjutkan *Mann-Whitney Test*.

HASIL

Rerata Jumlah Sel Piramidal Normal

Pada penelitian ini diperoleh rerata jumlah sel piramidal normal seperti tertera pada diagram batang sebagai berikut (seperti terlihat pada Gambar 1):

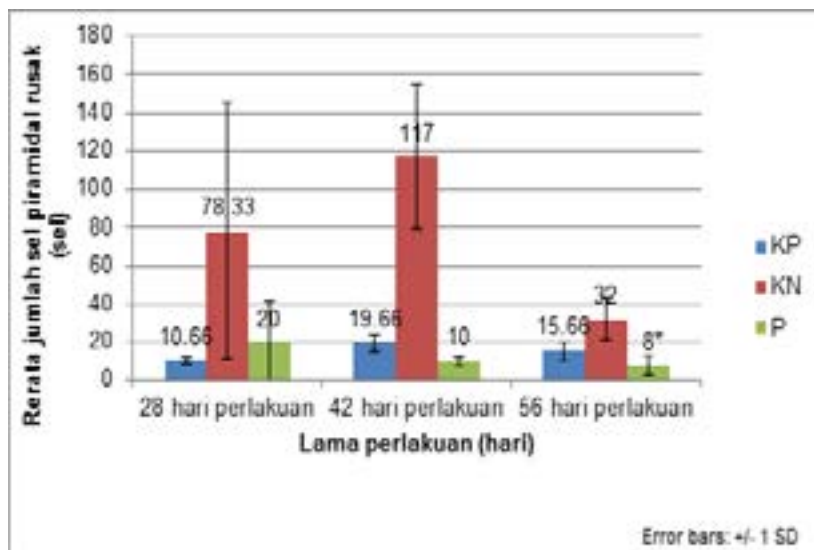
Berdasarkan statistik, seiring dengan pajanan yang diberikan terlihat rerata jumlah sel piramidal normal kelompok kontrol negatif pada 28 hari perlakuan sebesar 1164,33 \pm 1,53; 42 hari perlakuan sebesar 1040,33 \pm 45,82; dan 56 hari perlakuan sebesar 1182,33 \pm 2,34 lebih sedikit dibandingkan kelompok kontrol positif pada 28 hari perlakuan sebesar 1257,33 \pm 99,16; 42 hari perlakuan sebesar 1133,33 \pm 48,26; dan 56 hari perlakuan sebesar 1245,33 \pm 82,97 walaupun secara statistik tidak ber-

makna ($p \geq 0,05$). Pada kelompok perlakuan, setelah pajanan MSG dihentikan terlihat rerata jumlah sel piramidal normal pada kelompok 14 hari pasca penghentian MSG yaitu $941,66 \pm 71,82$ lebih rendah dibandingkan kelompok 1 hari pasca penghentian MSG sebesar $1305,33 \pm 1,25$ ($p < 0,05$). Setelah itu, terjadi peningkatan rerata jumlah sel piramidal normal yang bermakna setelah 28 hari pasca penghentian MSG yaitu $1376,33 \pm 1,60$ ($p < 0,05$).

Rerata Jumlah Sel Piramidal Rusak

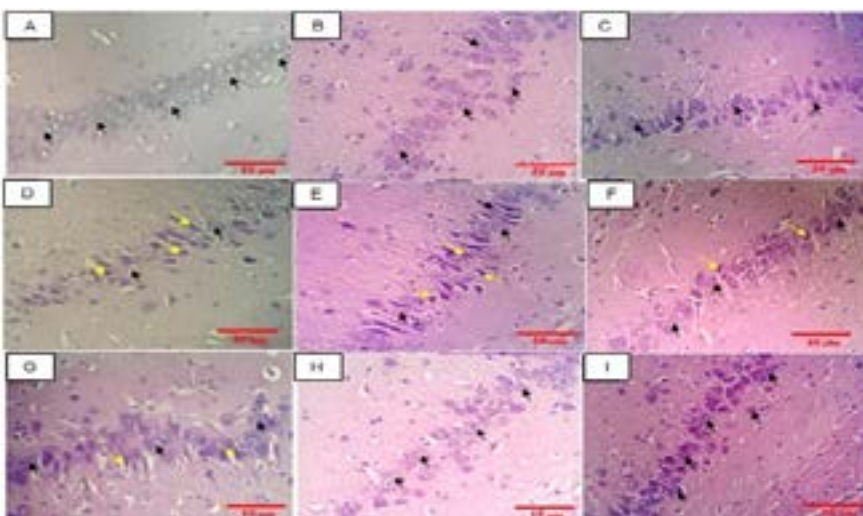
Pada penelitian ini diperoleh rerata jumlah sel piramidal rusak seperti tertera pada diagram batang sebagai berikut (Gambar 2):

Berdasarkan statistik (Gambar 2), seiring dengan pajanan yang diberikan terlihat rerata jumlah sel piramidal rusak kelompok kontrol negatif pada 28 hari perlakuan sebesar $78,33 \pm 66,53$; 42 hari perlakuan sebesar $117 \pm 37,24$; dan 56 hari perlakuan sebesar $32 \pm 11,53$ lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol positif pada 28 hari perlakuan sebesar $10,66 \pm 2,08$; 42 hari perlakuan sebesar $19,66 \pm 4,50$; dan 56 hari perlakuan sebesar $15,66 \pm 4,72$ walaupun secara statistik tidak bermakna ($p \geq 0,05$). Pada kelompok perlakuan, setelah pajanan MSG dihentikan terlihat rerata jumlah sel piramidal rusak semakin menurun seiring berjalan waktu yaitu pada 1 hari pasca pajanan sebesar $20 \pm 21,63$; 14 hari pasca pajanan sebesar $10 \pm 2,64$; dan 28 hari pasca pajanan $P3 = 8 \pm 5,19$ ($p \geq 0,05$).



Gambar 2. Rerata Jumlah Sel Piramidal Rusak Pada Hipokampus

KP = Kelompok kontrol positif; KN = Kelompok kontrol negatif; P = Kelompok perlakuan
 * = Berbeda bermakna dengan kelompok kontrol positif pada hari yang sama.
 ** = Berbeda bermakna antar kelompok perlakuan yang sama pada hari yang berbeda.



Gambar 3. Hasil Pengamatan Mikroskopik Sel Piramidal Normal (panah hitam) dan Sel Piramidal Rusak (panah kuning) Hipokampus Tikus.

Keterangan:

(A) Akuadest 1,5ml/hari selama 28 hari; (B) Akuadest 1,5ml/hari selama 42 hari; (C) Akuadest 1,5ml/hri selama 56 hari; (D) MSG dosis 5mg/gBB/hari selama 28 hari; (E) MSG dosis 5mg/gBB/hari selama 42 hari; (F) MSG dosis 5mg/gBB/hari selama 56 hari; (G) MSG dosis 5mg/gBB/hari selama 28 hari kemudian dihentikan selama 1 hari; (H) MSG dosis 5mg/gBB/hari selama 28 hari kemudian dihentikan selama 14 hari; (I) MSG dosis 5mg/gBB/hari selama 28 hari kemudian dihentikan selama 28 hari. HE, objektif 40x.

Berdasarkan hasil pengamatan (Gambar 3), secara mikroskopik, pada kelompok yang mendapatkan akuadest terdapat banyak sel piramidal normal (A,B,C). Pada kelompok yang mendapatkan pajanan MSG (D,E,F) memiliki jumlah sel piramidal rusak yang lebih banyak dibandingkan kelompok yang mendapatkan akuadest (A,B,C). Jumlah sel piramidal yang rusak semakin bertambah pada pajanan MSG selama 42 hari (E). Akan tetapi, terjadi penurunan jumlah sel piramidal rusak pada pajanan MSG selama 56 hari (F). Pada kelompok yang dihentikan pajanan MSG, terlihat setelah 1 hari pasca penghentian pajanan masih terdapat banyak sel piramidal rusak (G). Pada 14 dan 28 hari pasca penghentian pajanan, hipokampus telah banyak terdapat sel piramidal normal (H,I).

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini diberikan perlakuan berupa pemberian MSG dengan dosis 5mg/gBB. Dosis yang diberikan ini setara dengan 800mg/kgBB pada manusia dengan berat badan rata-rata 70kg. Dosis ini merupakan dosis yang melebihi ambang batas aman yang ditetapkan oleh FDA yaitu sekitar 120mg/kgBB pada manusia. Pada penelitian ini memperlihatkan bahwa telah terjadi kerusakan sel piramidal yang diakibatkan eksitotoksisitas glutamat setelah pemberian MSG dengan dosis yang melebihi batas aman dan terjadi regenerasi sel piramidal setelah pajanan MSG dihentikan (Ronald dan John, 2000)

Pengumpulan data dilakukan dengan menghitung struktur sel piramidal normal dan sel piramidal rusak pada hipokampus. Sel piramidal normal memiliki nukleus yang besar dengan nukleoli yang jelas sedangkan sel piramidal rusak ditandai dengan adanya inti neuron yang piknotik, padat, berwarna lebih gelap, batas tidak teratur dan adanya vakuolisasi (Abass dan El-Haleem, 2011). Terdapat beberapa faktor dan mekanisme yang dapat berperan dalam proses degenerasi sel saraf termasuk peningkatan stress oksidatif, kerusakan sel akibat radikal bebas, gangguan fungsi mitokondria dan eksitotoksisitas glutamat (Pagnussat, Faccioni, Netto dan Achaval, 2007)

Berdasarkan data statistik jumlah sel piramidal normal pada kelompok perlakuan, terlihat bahwa rerata jumlah sel piramidal normal pada kelompok 14 hari regenerasi lebih sedikit dibandingkan kelompok regenerasi 1 hari ($p < 0,05$). Perbedaan rerata jumlah sel piramidal normal pasca penghentian pajanan MSG ini diduga dapat disebabkan oleh kadar glutamat yang masih cukup tinggi pada darah sehingga kerusakan pada hipokampus dapat terus berlanjut. Pernyataan ini didukung oleh penelitian Yousef JM dan Bakoban RA (2012) yang memperoleh hasil bahwa kadar *as-*

partate transaminase (AST) dan *alanine transaminase* (ALT) pada darah masih tetap tinggi setelah pajanan MSG dihentikan selama 7 hari. (Yousef dan Bakoban, 2012).

Pengamatan dilanjutkan hingga pajanan MSG dihentikan selama 28 hari. Hasil menunjukkan bahwa rerata jumlah sel piramidal normal pada kelompok regenerasi 28 hari lebih banyak dibandingkan kelompok regenerasi 14 hari ($p < 0,05$). Hal ini diduga bahwa sel piramidal pada hipokampus mulai mengalami perbaikan setelah pajanan MSG dihentikan (Nakatomi *et al*, 2002). Mekanisme perbaikan sel piramidal ini melibatkan glutamat dan GABA. Penelitian yang dilakukan oleh Vicini S (2008) menyebutkan bahwa glutamat dan GABA merupakan substansi yang penting dalam proses neurogenesis (Vicini, 2008). Glutamat dan GABA berperan penting dalam proliferasi, migrasi sel dan pembentukan sinaps dalam membentuk neuron baru. Aktivitas neurogenesis pada otak dilaporkan terjadi pada *subventricular zone* (SVZ) pada ventrikel lateral dan *subgranular zone* (SGZ) pada *gyrus dentatus*. Pada SVZ, GABA berperan sebagai *feedback regulator* dalam pembentukan dan migrasi sel neuron sedangkan pada SGZ, GABA berperan meregulasi proses diferensiasi sel dan pembentukan sinaps. Selain itu, glutamat juga berperan dalam migrasi sel dan pembentukan neuroblast untuk neurogenesis. Mekanisme regenerasi ini dibuktikan oleh penelitian Nakatomi (2002) yang menggunakan marker NeuN untuk mengamati sel piramidal matur dan marker *5-bromo-2'-deoxyuridine* (BrdU) untuk mengamati sel yang sedang aktif membelah di hipokampus. Hasil penelitian memperlihatkan adanya marker BrdU dan NeuN pada hipokampus setelah 28 hari pasca iskemik. Kerusakan sel piramidal yang terjadi memberikan respon pada sel punca yang terdapat pada SGZ dan SVZ untuk mengalami proliferasi dan memproduksi sel neuron baru di hipokampus (Nakatomi *et al*, 2002).

Berdasarkan pengamatan pada data statistik sel piramidal rusak, didapatkan pada kelompok yang diberikan akuadest juga terlihat sel piramidal yang rusak. Hal ini kemungkinan disebabkan adanya faktor stress yang berkaitan dengan perlakuan fisik saat pemberian MSG dengan sonde, saat menimbang hewan coba, mengangkat hewan coba saat pemberian MSG, kondisi lingkungan hewan coba dan interaksi hewan coba di dalam kandang dimana dalam satu kandang terdapat 3 hewan coba. Kondisi stress dapat menyebabkan penurunan kecepatan aliran darah dan reaktifitas vasomotor, sehingga metabolisme otak dapat terganggu dan akan mempengaruhi neuron otak, termasuk sel piramidal pada hipokampus melalui kaskade iskemik (McVeigh dan Passmore, 2006).

Pada keadaan stress, kelenjar adrenal akan menghasilkan adrenalin dan melepaskan kortisol. Pada kondisi stress yang terjadi terus menerus menyebabkan kadar kortisol menetap dalam jumlah besar dan dapat merusak hipokampus. Kondisi stress ini juga dapat dialami oleh tikus penelitian jenis wistar sehingga menyebabkan kerusakan pada sel piramidal hipokampus (Sandi, 2004).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian MSG dengan dosis pemberian 5mg/gBB secara peroral dapat merusak hipokampus. Hal ini ditandai dengan rerata jumlah sel piramidal rusak pada kelompok yang mendapatkan MSG lebih banyak dibandingkan kelompok yang mendapatkan akuadest. Akan tetapi, perbedaan rerata jumlah sel piramidal yang rusak pada kedua kelompok secara statistik tidak bermakna ($p \geq 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa telah terjadi suatu kondisi eksitotoksisitas glutamat akibat pemberian MSG peroral pada dosis 5mg/gBB yang mulai terlihat pada hari ke-28. Stimulasi glutamat yang berlebihan terhadap reseptor glutamat dapat menyebabkan perubahan pada gradien ionik yang memicu terjadinya proses degenerasi sel saraf dan memicu berbagai kaskade neurotoksik, termasuk kerusakan mitokondria, dan stimulasi berlebihan dari enzim phospholipase, protease, phosphatase dan endonuklease yang berperan dalam kerusakan membran sel, sitoskeleton dan DNA sehingga dapat menyebabkan kematian sel saraf (Mark *et al*, 2001).

Penggunaan MSG yang melebihi batas aman dalam jangka waktu lama dapat menyebabkan eksitotoksisitas glutamat pada hipokampus. Aktivasi reseptor glutamat yang berlebihan dapat menyebabkan peningkatan kalsium intrasel. Peningkatan kalsium intrasel dapat disebabkan oleh aktivasi dari reseptor AMPA dan menyebabkan masuknya natrium yang memicu depolarisasi sel yang mengakibatkan magnesium keluar dari reseptor NMDA sehingga kalsium masuk ke dalam sel sedangkan aktivasi mGluR menyebabkan pelepasan kalsium intrasel dari retikulum endoplasma. Selain itu, peningkatan kadar natrium juga dapat meningkatkan kalsium intrasel melalui stimulasi saluran natrium-kalsium. Depolarisasi yang terjadi mengaktifkan kanal kalsium pada membran dan menghambat pengambilan glutamat (Rang *et al*).

Akumulasi kalsium yang terjadi ini dapat merusak mitokondria sehingga menyebabkan kematian sel. Protein proapoptosis memicu pelepasan sitokrom c dari mitokondria. Sitokrom c dengan protein *apoptotic protease-activating factor-1* (Apaf-1) menyatu dan mengaktifkan procaspase 9. Kompleks ini selanjutnya mengaktifkan caspase 9 dan caspase 3. Pembengkakan yang terjadi pada mitokondria disebabkan oleh peningkatan permeabilitas dari membran mitokondria mengakibatkan protein mitokondria kel-

uar ke sitoplasma. Protein mitokondria ini berikatan dengan *inhibitor apoptosis proteins* (IAP) sehingga protein ini menjadi bentuk yang tidak aktif. Aktivasi caspase 3 dalam fragmentasi DNA dan inhibisi IAP menyebabkan kematian sel (Rang *et al*).

Berdasarkan uji statistik, kerusakan hipokampus yang paling tinggi terjadi pada kelompok yang mendapatkan MSG selama 42 hari. Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Simon H (2013), MSG dengan dosis 5mg/gBB diberikan selama 28 hari dan pada penelitian ini kerusakan sel piramidal semakin bertambah hingga 42 hari. Hasil ini sejalan dengan penelitian Simon H (2013) yang mengatakan bahwa semakin lama paparan MSG peroral diberikan terbukti semakin bertambah jumlah sel piramidal yang mengalami degenerasi di hipokampus (Simon, Muhartomo dan Pudjonarko, 2013). Akan tetapi, data statistik memperlihatkan bahwa sel piramidal hipokampus mulai mengalami perbaikan pada pemberian MSG hingga hari ke-56 yang ditandai dengan semakin berkurangnya kerusakan pada sel piramidal hipokampus. Penurunan jumlah sel piramidal rusak pada hipokampus ini kemungkinan dapat disebabkan oleh kerusakan yang terjadi pada mukosa duodenum akibat pemberian MSG seperti yang telah dilaporkan Vincent A (2015) sehingga absorpsi dan distribusi glutamat ke otak terganggu. Selain itu, sel piramidal yang rusak akan difagosit oleh mikroglia. (Vinsent, 2015). Oleh karena itu, hasil penelitian ini dapat dijadikan landasan bagi penelitian selanjutnya bahwa kerusakan maksimal sel piramidal hipokampus terjadi pada pemberian MSG dengan dosis 5mg/gBB selama 42 hari pada tikus wistar dewasa.

Keterbatasan penelitian ini adalah peneliti tidak dapat membedakan apakah sel piramidal normal yang diteliti merupakan hasil dari proses regenerasi atau merupakan sel piramidal normal yang sebelumnya memang sudah ada di hipokampus. Selain itu, peneliti hanya mengambil dua potongan koronal pada otak saja sehingga kurang menggambarkan kerusakan yang terjadi pada hipokampus serta jumlah sel piramidal yang dihitung merupakan jumlah dari sel piramidal CA1, CA2 dan CA3. Padahal masing-masing regio CA memiliki distribusi reseptor glutamat yang berbeda.

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian tentang Gambaran Histologis Sel Piramidal Hipokampus Tikus Putih Pasca Penghentian Paparan Monosodium Glutamate Peroral maka diperoleh simpulan sebagai berikut : Pemberian MSG dengan dosis 5mg/gBB secara peroral mengakibatkan kerusakan pada hipokampus; Kerusakan tertinggi hipokampus terjadi pada pemberian MSG

dengan dosis 5mg/gBB secara peroral terhadap tikus jantan dewasa galur wistar pada pajanan selama 42 hari; Kerusakan pada hipokampus terus berlanjut hingga 14 hari penghentian pajanan MSG; Terjadi regenerasi pada hipokampus setelah 28 hari penghentian pajanan MSG.

DAFTAR RUJUKAN

638. Glutamic acid and its salts (WHO Food Additives Series 22) [Internet]. [cited 2014 Apr 10]. Available from: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v22je12.htm>.
- Abass MA, El-Haleem MRA. (2011). Evaluation of monosodium glutamate induced neurotoxicity in adult male albino rats. *Journal of American Science*, 7(8), 264-76.
- Alexandru I. (2011). Experimental use of animals in research spa. *Balneo-Research Journal*, 2, 65-9.
- Andersen P, Morris R, Amaral D, Bliss T, Kelle JO. (2007) *The hippocampus book*. Oxford University Press; Chapter 6, Synaptic Function; P.203-41.
- Anil S, Rajendran R. n.d. Routine histotechniques, staining and notes on immunohistochemistry. p936-53.
- Ault A. (2004). The monosodium glutamate story: the commercial production of msg and other amino acids. *Journal of Chemical Education*, 1, 81(3), 347.
- Blaylock R.L. (2000) Excitotoxins, Neurodegeneration and Neurodevelopmental. *The Medical Sentinel Journal*.
- Blumenthal D, Brunton L, Buxton I, parker K. (2010). *Goodman and Gilman: manual farmakologi dan terapi*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. H. 187-97.
- Dahlan MS. (2011). *Statistik untuk kedokteran dan kesehatan*. Jakarta: Salemba Medika. H. 1-29.
- De Jong GI, Stiensma CM, Plass JRM, Keijser JN, de Latore JC, Luiten PGM. (1999) Cerebral hypoperfusion yields capillary damage in the hippocampal CA1 area that's correlates with spatial memory impairment. *Neuroscience*, 91(1), 203-10.
- El Falougy H, Kubikova E, Benuska J. (2008). The microscopical structure of hippocampus in the rat. *Bratisl Lek Listy*, 109(3), 106-10.
- Eroschenko VP. (2010). *Atlas histology difiore dengan korelasi fungsional*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. H. 142.
- García-López P, García-Marín V, Freire M. (2006) Three-dimensional reconstruction and quantitative study of a pyramidal cell of a Cajal histological preparation. *J. Neurosci*, 26(44), 11249-52.
- Kempf SC, Hortsch M, MacCallum D. n.d. *Don MacCallum's Michigan Histology Volume 2*. University of Michigan.
- Kumar V, Cotran RS, Robbins S. (2012). *Buku Ajar Patologi volume 2*. Edisi ke-7. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Chapter 23; p.905.
- Lindemann B, Ogiwara Y, Ninomiya Y. (2002). The discovery of umami. *Chem Senses*, 27, 843-4.
- Mark LP, Prost RW, Ulmer LJ, Smith MM, Daniels DL, Strottmann JM *et al.* (2001) Pictorial review of glutamat excitotoxicity: fundamental concepts for neuroimaging. *Am J Neuro-radiol*, 22, 1813-24.
- McEwen BS. (1999). Stress and hippocampal plasticity. *Annu Rev. Neuroscience*, 22, 105-22, 116.
- McVeigh C, Passmore P. (2006) Vascular dementia prevention and treatment. *Review Clinical Intervention in Aging*, 1(3), 229-35.
- Morawietz G, Fehlert CR, Kittel B, Bube A, Keane K, Halm S, *et al.* (2004) Revised guides for organ sampling and trimming in rats and mice-part 3. *Exp Toxic Pathol*, 55, 433-49.
- Nakatomi H, Kuriu T, Okabe S, Yamamoto S, Hatano O, Kawahara N, *et al.* (2002). Regeneration of hippocampal pyramidal neurons after ischemic brain injury by recruitment of endogenous neural progenitors. *Cell*, 110, 429-41.
- Pagnussat AdS, Faccioni MC, Netto CA, Achaval M. (2007). An ultrastructural study of cell death in the CA1 pyramidal field of the hippocampus in rats submitted to transient global ischemia followed by reperfusion. *J. Anat*, 211, 589-99.
- Palmada M, Centelles JJ. (1998). Excitatory amino acid neurotransmission. pathway for metabolism, storage and reuptake of glutamate in brain. *Frontier in Bioscience*, d701-18.
- Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower RJ, Henderson G. n.d. *Rang and dale's pharmacology 7th ed.* Elsevier Churchill Livingstone.
- Ronald W, John RL. (2000). The safety evaluation of monosodium glutamate. *J Nutr*, 130, 1049S-52S.
- Sandi C. (2004). Stress, cognitive impairment and cell adhesion molecules. *Neuroscience*, 5, 917-30.

- Setiawati FSN. (2008). Dampak penggunaan MSG terhadap kesehatan lingkungan. *Orbith*,4, 453-9.
- Sherwood L. (2011). Fisiologi manusia dari sel ke sistem 6th ed. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. H. 177-9.
- Simon H, Muhartomo H, Pudjonarko. (2013). Pengaruh pemberian monosodium glutamat peroral terhadap degenerasi neuron piramidal CA1 hipokampus pada tikus wistar. *Med Hosp*,1(3),175-81.
- Suradjono D. (1995). Percobaan hewan laboratorium. Yogyakarta: Gajah Mada University. H. 207.
- Takahashi T, Toda E, Singh RB, Meester FD, Wilczynska A, Wilson D, *et al.* (2001). Essential and non-essential amino acids in relation to glutamate. *The Open Nutraceuticals Journal*,4,205-12.
- Tiemeier H, Bekker SLM, Hofman A, Kaudstaal PJ, Breteler MMB. (2002). Cerebral haemodynamics and depression in the elderly. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*,73,34-9.
- Vicini S. (2008). The role of GABA and glutamate on adult neurogenesis. *J Physiol*,586(16),3737-8.
- Vinsent A. (2015). Pengaruh pajanan monosodium glutamat (MSG) terhadap gambaran histologis duodenum tikus putih (*rattus norvegicus*) jantan galur wistar dan kemampuan regenerasinya. [Skripsi]. Universitas Tanjungpura, Pontianak.
- Yousef JM, Bakoban RA. (2012). An assessment hazard of monosodium glutamate (MSG) by some biochemical and statistical analysis on serum rats. *JP Journal of Biostatistics*,7(1),35-59.
- Za'rate CB, Pe'rez Vega MI, Gonza'lez-Burgos I. (2002). Neonatal exposure to monosodium l-glutamate induces lose of neurons and cytoarchitectural alteration in hippocampal CA1 pyramidal neurons of adult rats. *Brain Research*,952,275-81.