

Laporan Hasil Penelitian**PENGARUH EKSTRAK TEH HIJAU TERHADAP KADAR FSH, MDA OVARIUM DAN DIAMETER FOLIKEL PADA TIKUS YANG DIPAPAR MSG****Rizqi Kamalah¹, Umi Kalsum²**¹⁾ Program Studi Magister Kebidanan Universitas Brawijaya Malang,²⁾ Laoratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang*Submitted : Juli 2018**Accepted : November 2018**Published : Januari 2019***ABSTRACT**

Monosodium Glutamate (MSG) is a sodium salt of glutamic acid. The main function of glutamate is as a communicator cells, and also control GnRH. Consumption of MSG can causes the amount of glutamate in the plasma to increase so as to trigger the occurrence of oxidative stress To minimize the negative impact is needed endogenous antioxidants one of which is green tea. Polyphenol content in green tea is able to inhibit transcription factors of reduction, inhibit prooxidant enzymes. This study aims to determine the effect of MSG exposure and green tea ethanol extract on the prevention of decreased levels of FSH, prevention of the increasing levels of ovarian Malondialdehyde (MDA) and antral follicle diameter. The methode used in this research is elisa essay, spectrophotometry and haematoxylin eosin (HE). The rats were dividing into 5 grups, namely control grup, positive grup and treatment grups (PI,PII,PIII) treated with 0,7 mg/gBB of MSG and 0,7 mg, 1,4 mg, 2,8 mg of green tea ethanol extract (PI,PII,PIII). The results showed a significant correlation between giving green tea ethanol extract dose 1,4 mg and 2,8 mg can prevent decrease of FSH level and increase of ovarian MDA in rat exposed MSG ($p=0,002$, $r=0,370$ dan $0,366$, $p=0,021$, $r=0,039$ dan $0,040$, $p=0,474$). This study concludes that MSG exposure and green tea ethanol extract can increase FSH levels and decrease MDA ovary level of female rat but can't prevent decrease diameter of follicle antral in rat with exposed MSG

Keywords : MSG, green tea extract, FSH, MDA ovary, antral follicle diameter.**Correspondence to** : rizqikamalah**ABSTRAK**

Monosodium Glutamat (MSG) adalah garam natrium dari asam glutamat. Glutamat memiliki fungsi dalam komunikasi antar sel, dan juga dapat mengendalikan GnRH. Konsumsi MSG yang berlebihan dapat menyebabkan jumlah glutamat dalam plasma darah meningkat sehingga memicu terjadinya stres oksidatif. Untuk meminimalisirnya tubuh memerlukan antioksidan, khususnya antioksidan endogen seperti teh hijau. Teh hijau mengandung polifenol yang dapat menghambatan faktor transkripsi reduksi, menghambatan enzim prooksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pemberian ekstrak etanol teh hijau terhadap kadar FSH, MDA ovarium dan diameter folikel antral pada tikus yang dipapar MSG. Metode yang digunakan dalam penelitian ini *elisa essay*, *spectrophotometry* dan *Haematoxylin Eosin* (HE). Sampel dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif dan perlakuan (PI,PII,PIII) masing-masing mendapat dosis MSG yang sama 0,7 mg/gBB. Dosis ekstrak etanol teh hijau untuk kelompok perlakuan (PI,PII,PIII) masing-masing mendapat dosis 0,7 mg, 1,4 mg dan 2,8 mg. Berdasarkan hasil analisis statistik, didapatkan hubungan yang signifikan bahwa pemberian ekstrak etanol teh hijau dosis 1,4 mg dan 2,8 mg dapat mencegah penurunan kadar FSH, dapat mencegah peningkatan kadar MDA ovarium pada

mendapat dosis MSG yang sama 0,7 mg/gBB. Dosis ekstrak etanol teh hijau untuk kelompok perlakuan (PI,PII,PIII) masing-masing mendapat dosis 0,7 mg, 1,4 mg dan 2,8 mg. Berdasarkan hasil analisis statistik, didapatkan hubungan yang signifikan bahwa pemberian ekstrak etanol teh hijau dosis 1,4 mg dan 2,8 mg dapat mencegah penurunan kadar FSH, dapat mencegah peningkatan kadar MDA ovarium pada tikus yang dipapar MSG ($p=0,002$, $r=0,370$ dan $0,366$, $p=0,021$, $r=0,039$ dan $0,040$, $p=0,474$). Penelitian ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak etanol teh hijau dapat mencegah penurunan kadar FSH, mencegah peningkatan kadar MDA ovarium, akan tetapi tidak dapat mencegah penurunan diameter folikel antral pada tikus yang dipapar MSG

Kata kunci : MSG, ekstrak teh hijau, FSH, MDA ovarium, diameter folikel antral
Korespondensi : tantpopo16@gmail.com

PENDAHULUAN

Monosodium Glutamat atau yang dikenal dengan nama MSG merupakan garam natrium dari asam glutamat yang sering dijadikan penambah rasa pada makanan karena dapat menambah rasa sedap atau yang disebut dengan umami. Asam glutamat merupakan salah satu asam amino non esensial yang nantinya akan dikonversi menjadi glutamat di dalam tubuh. Fungsi utama glutamat dalam metabolisme tubuh sebagai komunikasi antar sel, serta dapat mengendalikan *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH) (Iremonger *et al.* 2010).

Penggunaan MSG yang berlebihan menyebabkan jumlah glutamat dalam plasma darah meningkat sehingga memicu terjadinya radikal bebas yang dapat mengakibatkan kematian sel (*excitotoxicity*) (Macarina 2011). *Excitotoxicity* dapat menyerang seluruh area tubuh yang memiliki reseptor glutamat seperti hipotalamus dan organ reproduksi. Rusaknya hipotalamus dapat mengakibatkan terganggunya area hipofise anterior (*pituitary adrenal axis*) {Formatting Citation} dalam mensekresi *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH) sehingga dapat mempengaruhi perkembangan ukuran folikel (Maidawilis 2010, Megawati and Listyawati 2005). Sedangkan pada organ reproduksi, kelebihan glutamat dapat

mengakibatkan kerusakan jaringan sel (Megawati and Listyawati 2005). Untuk dapat mendeteksi kerusakan jaringan sel tersebut dapat dideteksi dengan jumlah peroksidasi lipid yang dapat dilihat dengan jumlah kadar MDA. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa pemberian MSG 77 mg/200 g BB menyebabkan penurunan jumlah korpus luteum dan peningkatan jumlah folikel atresia (Megawati and Listyawati 2005), MSG dosis 0,7 mg/g BB menyebabkan penipisan lapisan otot dan penurunan jumlah sel epitel sekretorik pada tuba fallopii (Umami *et al.* 2014).

Antioksidan dibutuhkan dalam menetralisir radikal bebas dalam tubuh yang sedang meningkat, salah satu contoh antioksidan adalah teh hijau. Teh hijau mengandung senyawa polifenol yang dapat menetralisir radikal bebas dengan melakukan substituen hidroksil (Ogaly *et al.* 2015). Beberapa penelitian menyatakan bahwa teh hijau dosis 0,7 mg/mL selama 21 hari dapat meningkatkan kadar FSH dan LH pada tikus yang dipapar kadmium klorida (Mahmood, Mokhtar and Esfandiar 2015), dan teh hijau dosis bertingkat (0.75, 1.5 dan 3 g/kg BB/hari) dapat menurunkan kadar Pb dan MDA serta dapat meningkatkan kadar NO dan GPx pada tikus yang terpapar plumbum (Pb) (Hernayati 2013).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol teh hijau dalam mencegah penurunan kadar FSH, mencegah peningkatan kadar MDA ovarium dan mencegah penurunan diameter folikel antral (Maidawilis 2010, Megawati and Listyawati 2005, Ao and Fae, 2011) pada tikus yang dipapar MSG.

METODE PENELITIAN

Hewan Coba

Hewan yang digunakan berjumlah 25 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar, usia 2-3 bulan, berat 100-200 g, diperoleh sehat dan tidak cacat.

Prosedur Penelitian

Tikus berjumlah 25 ekor dibagi 5 kelompok masing-masing kelompok 5 ekor. Dengan pembagian kelompok sebagai berikut; (1) K(-) kelompok yang tidak mendapat MSG dan tidak mendapat ekstrak etanol teh hijau, (2) K(+) kelompok tikus yang mendapat MSG 0,7 mg/gBB/hr dan tidak mendapat ekstrak etanol teh hijau, (3) (PI) kelompok tikus yang mendapat MSG 0,7 mg/gBB/hr dan ekstrak etanol teh hijau dengan dosis 0,7 mg, (4) (PII) kelompok tikus yang mendapat MSG 0,7 mg/gBB/hr dan ekstrak etanol teh hijau dengan dosis 1.4 mg, (5) (PIII) kelompok tikus yang mendapat MSG 0,7 mg/gBB/hr dan ekstrak etanol teh hijau dengan dosis 2.8 mg. Pemberian MSG dilakukan sebelum pemberian teh hijau dengan pengenceran 2 ml, diberikan 1x/hr secara oral selama 30 hari, sedangkan pemberian ekstrak etanol teh hijau

dilakukan setelah 2 jam pemberian MSG dengan pengenceran 2 ml, diberikan 1x/hari secara oral selama 30 hari. Pengenceran MSG dan ekstrak teh hijau menggunakan aquades.

Pengambilan Sampel

Pada hari ke-31 dilakukan pemeriksaan swab vagina untuk mengetahui siklus estrusnya. Tikus yang berada pada fase proestrus dilakukan terminasi. Kemudian, darah diambil melalui ventrikel kanan jantung sebanyak 3 ml, organ ovarium kanan diambil untuk pemeriksaan kadar MDA ovarium dan organ ovarium kiri diambil untuk pemeriksaan diameter folikel antral.

Pengukuran Kadar FSH

Pengukuran kadar FSH dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Darah yang telah diperoleh langsung dilakukan sentrifuge untuk memisahkan plasma dan eritrositnya. Kemudian, plasma diletakkan di dalam well, dan tambahkan 50 µl HRP-Conjugate untuk setiap well, kemudian campur dan inkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C, lalu cuci well menggunakan wash buffer dengan volume 200 µl dan biarkan selama 10 detik. Tambahkan 50 µl larutan substrat A dan 50 µl larutan substrat B kemudian aduk rata dan inkubasi selama 15 menit pada suhu 37°C, Tambahkan 50 µl Stop Solution di setiap well, masukkan micro plate

kedalam ELISA dan baca dengan panjang gelombang 450 nm.

Pengukuran Kadar MDA Ovarium

Pengukuran kadar MDA dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Kadar MDA diukur dengan mengambil jaringan ovarium tikus sebanyak 250 uL lalu tambahkan 10 uL reagen BHT, 250 uL reagen acid dan 250 uL reagen TBA kemudian di *vortex*, setelah itu di inkubasi selama 60 menit dengan suhu 60°C kemudian larutan di *centrifuge* pada kecepatan 10.000 xg selama 2-3 menit, supernatan yang terbentuk ditempatkan dalam *cuvete*. Kemudian ukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 532 nm

Pembuatan Preparat HE

Pembuatan preparat HE dilakukan di Laboratorium Kessima – Malang. Organ ovarium yang telah direndam dengan buffer formalin 10% dilakukan proses parafinisasi selanjutnya dilakukan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE). Kemudian diberi cat eosin 1% selama 5 menit. Dan di dehidrasi menggunakan alkohol 70% selama 2 menit, alkohol 80% selama 2 menit, alkohol 90% selama 4 menit, alkohol 96% selama 4 menit dan alkohol absolut selama 5 menit. Selanjutnya dimasukkan ke dalam xylol dan dilakukan

mounting, dan ditutup dengan *cover glass* dan biarkan mengering dalam suhu ruang. Slide di scan menggunakan mikroskop Olympus dengan pembesaran 400x

Analisa Statistik

Data dilakukan analisis statistik menggunakan SPSS versi 24. Untuk menganalisis kadar FSH, kadar MDA ovarium dan diameter folikel antral menggunakan analisis *one way anova* yang dilanjutkan dengan LSD jika *p* value anova < 0,05

HASIL PENELITIAN / RESULTS

Hasil Analisa Kadar FSH pada Hewan

Coba

TABEL 1. Kadar FSH pada Tikus setelah Induksi MSG dan Pemberian Ekstrak Teh Hijau Berbagai Dosis

Kelompok sampel	Rerata FSH \pm SD	<i>p</i> -value
Kontrol Negatif	0,387 \pm 0,049 ^a	0,002
Kontrol Positif	0,319 \pm 0,014 ^b	
PI	0,341 \pm 0,024 ^{bd}	
PII	0,370 \pm 0,005 ^{ad}	
PIII	0,366 \pm 0,012 ^{ad}	

Keterangan : kolom rerata FSH \pm SD yang memuat huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna (*p*>0,05) dan jika memuat huruf yang berbeda berarti terdapat perbedaan yang bermakna (*p*<0,05)

Hasil Analisa Kadar MDA Ovarium

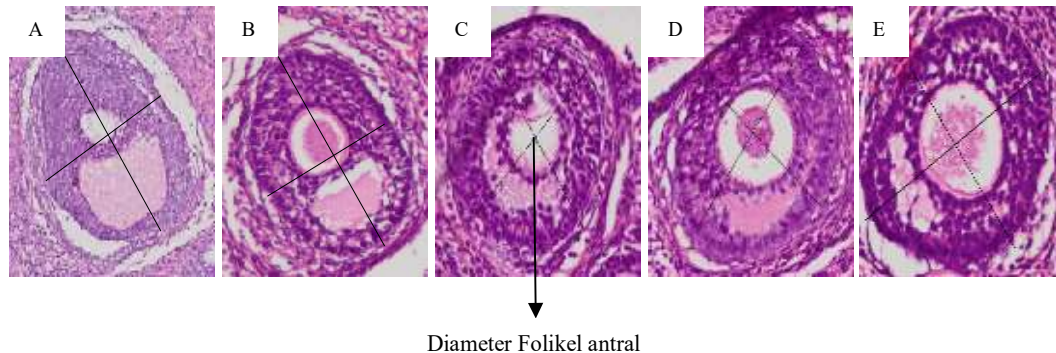
Hewan Coba

TABEL 1. Kadar MDA pada Tikus setelah Induksi MSG dan Pemberian Ekstrak Teh Hijau Berbagai Dosis

Kelompok sampel	Rerata MDA \pm SD	<i>p</i> -value
Kontrol Negatif	0,038 \pm 0,003 ^a	0,021
Kontrol Positif	0,046 \pm 0,003 ^b	
PI	0,043 \pm 0,002 ^{bc}	
PII	0,039 \pm 0,004 ^{ac}	
PIII	0,040 \pm 0,004 ^{ac}	

Keterangan : kolom rerata MDA \pm SD yang memuat huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna (*p*>0,05) dan jika memuat huruf yang berbeda berarti terdapat perbedaan yang bermakna (*p*<0,05)

Hasil Analisa Kadar Diameter Folikel Antral pada Hewan Coba



Gambar 1. Pengukuran diameter folikel antral menggunakan mikroskop olympus dengan pembesaran 400x dan diukur menggunakan software dotslide

Keterangan A: K(-) : Kelompok Negatif
 B: K(+): kelompok mendapat MSG 0,7mg/gBB
 C: PI : kelompok mendapat MSG 0,7mg/gBB dan ekstrak teh hijau 0,7 mg
 D: PII : kelompok mendapat MSG 0,7mg/gBB dan ekstrak teh hijau 1,4 mg
 E: PIII : kelompok mendapat MSG 0,7mg/gBB dan ekstrak teh hijau 2,8 mg

Kelompok sampel	Rerata Diameter Folikel antral \pm SD	<i>p-value</i>
Kontrol Negatif	3,357 \pm 21,779	
Kontrol Positif	2,400 \pm 87.848	
PI	2,701 \pm 80,685	0,474
PII	3,130 \pm 94,383	
PIII	2,949 \pm 118,960	

Keterangan : Kolom rerata Diameter Folikel Antral \pm SD menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol teh hijau pada tikus yang dipapar MSG secara kuantitatif mencegah penurunan diameter folikel antral dengan *p* value 0,474 (*p*>0,05)

PEMBAHASAN

Mekanisme utama kerusakan sel yang diakibatkan paparan MSG adalah adanya stres oksidatif (Iremonger *et al.* 2010, Olney 1969, Rueda *et al.* 2016, James, Yetunde and Akanmu 2016, Athology 2001). Penggunaan MSG yang berlebihan mengakibatkan jumlah glutamat dalam plasma darah meningkat

sehingga memicu terjadinya radikal bebas (Iremonger *et al.* 2010, Olney 1969, Rueda *et al.* 2016, James, Yetunde and Akanmu 2016, Athology 2001). Radikal bebas diakibatkan oleh aktivitas reseptor glutamat yang berlebihan sehingga menimbulkan influx Ca^{2+} yang mengakibatkan ion Ca^{2+} masuk ke dalam sel saraf sehingga terjadi *excitotoxicity* yaitu kematian sel yang disebabkan oleh kelebihan glutamat (Rueda *et al.* 2016), kondisi ini akan menyerang seluruh area tubuh yang memiliki reseptor glutamat seperti hipotalamus dan organ reproduksi (Olney 1969). Rusaknya hipotalamus mengakibatkan gangguan pada area *pituitary adrenal axis* (hipofise anterior) dalam mensekresi FSH dan LH (Olney 1969, Maidawilis 2010). Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya pemberian MSG secara intraperitoneal pada mencit betina dapat memberikan pengaruh terhadap penurunan

kadar FSH secara signifikan dan penurunan kadar LH walaupun tidak signifikan (Maidawilis 2010).

Pada penelitian ini, terjadi peningkatan kadar FSH seiring dengan penambahan dosis ekstrak etanol teh hijau pada tikus yang dipapar MSG. Adanya kandungan polifenol pada teh hijau berperan dalam pertahanan diri terhadap radikal bebas (Mahmood, Mokhtar and Esfandiar 2015). Unsur polifenol – *catechin* pada ekstrak teh hijau dapat menghambat aktivitas enzimatis *catechol-O-methyltransferase* dan senyawa kafein yang dapat menghambat dekomposisi yang disebabkan oleh induksi *phosphodiesterase* sehingga menyebabkan tersekresinya *norepinephrine*. *Norepinephrine* dapat menginduksi terjadinya sekresi GnRH melalui vena portal hipofisis (Mahmood, Mokhtar and Esfandiar 2015).

Hal ini membuktikan bahwa polifenol dapat digunakan sebagai alternatif dalam meningkatkan kadar antioksidan pada tubuh. Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya bahwa ekstrak teh hijau dapat meningkatkan rerata FSH dan LH pada tikus yang dipapar kadmium klorida (Mahmood, Mokhtar and Esfandiar 2015) dan pemberian ekstrak teh hijau dapat meningkatkan konsentrasi, morfologi dan viabilitas spermatozoa, serta meningkatkan diameter tubulus seminiferus mencit yang dipapar MSG (Nuril 2015).

Seperti telah diketahui sebelumnya kadar glutamat yang berlebihan dapat mengakibatkan kerusakan sel, kerusakan ini akan menyerang pada sel yang memiliki reseptor glutamat (Athology 2001). Kerusakan tersebut akan memicu kelebihan radikal bebas yang nantinya akan bereaksi dengan lemak, protein, asam nukleat seluler sehingga terjadi kerusakan lokal dan disfungsi organ tertentu termasuk ovarium. Salah satu indikator terjadinya stres oksidatif ditunjukkan dengan tingginya kadar MDA. Dalam penelitian ini

terjadi peningkatan secara signifikan kadar MDA pada K(+). Peningkatan ini nantinya akan memicu kerusakan organ yang berdampak pada fungsi organ tersebut. Pemberian MSG pada tikus dapat menyebabkan kerusakan struktur histologis ovarium (Megawati and Listyawati 2005). Hal ini dikaitkan dengan efek neurotoksik, dimana glutamat dapat memicu terjadinya stres oksidatif. Teh hijau melalui polifenolnya (*catechins*) dapat bertindak sebagai antioksidan eksogen melalui perannya dalam substituen hidroksil (Ogaly *et al.* 2015). Senyawa polifenol pada teh dapat menghambat aktivasi *nuclear factor kB* (NF-kB) serta dapat menginduksi enzim antioksidan endogen melalui peningkatan gen reporter untuk elemen respon antioksidan yang dimediasi oleh kegiatan dalam sel *HepG2* transfected (Frei and Higdon 2003). Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya bahwa pemberian teh hijau pada tikus secara signifikan dapat menurunkan MDA testis mencit yang dipapar MSG (Nuril 2015) dan pemberian ekstrak teh hijau dapat menurunkan kadar MDA pada tikus yang dipapar Pb (Hernayati 2013).

Perubahan histopatologi pada organ ovarium juga dapat ditandai dengan penurunan diameter folikel antral (Maidawilis 2010, Megawati and Listyawati 2005, Ao and Fae 2011). Berdasarkan tabel 3 hasil pengukuran diameter folikel antral pada kelompok kontrol positif memiliki nilai rerata yang paling rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dan kelompok PI, PII, PIII. Dengan demikian pemberian MSG 0,7 mg/gBB dapat menyebabkan penurunan diameter folikel antral. Folikel antral merupakan tahap folikulogenesis yang dipengaruhi oleh hormon dependen dan *growth factor*. Perkembangan folikel dipengaruhi oleh mekanisme endokrin,

parankrin dan autokrin dalam aksi seleksi folikel dan juga dipengaruhi hormon FSH.

MSG memainkan peran penting dalam patogenesis infertilitas anovulatori. Penggunaan MSG dalam jumlah banyak dan jangka waktu yang lama akan menyebabkan terbentuknya radikal bebas yang berasal dari oksigen dan spesies oksigen reaktif yang terkait (ROS) dan aktivitas reseptor glutamat dalam memainkan peran yang sangat penting dalam gangguan patogenesis yang diinduksi oleh MSG. ROS yang berasal dari MSG dapat mengganggu aliran pembuluh darah dan *hyalinosis arteriola* di dalam medula ovarium yang kemungkinan besar adanya hambatan dalam sintesis prostaglandin. Hasil penelitian ini didukung penelitian sebelumnya bahwa telah terjadi hambatan pada pembuluh darah testis setelah pemberian MSG pada tikus jantan. Vakuola dalam sel granulosa dapat mengakibatkan pengelupasan sel kulit di dalam rongga folikular, dan vakuola yang terjadi di dalam stroma dan medula ovarium dapat sebagai tanda toksisitas ovarium dan degenerasi sel. Sehingga dapat disimpulkan, pemberian MSG akan mempengaruhi ukuran diameter folikel antral.

Teh hijau melalui *catechins* dapat menghambat efek negatif ROS yang dihasilkan MSG, namun dalam kondisi tertentu, *catechins* dapat sebagai autooksidasi dan berperilaku seperti pro-oksidan. Dalam dosis tinggi, *catechins* dapat menekan HIF-1A yang berakibatkan pada penurunan ekspresi VEGF. *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) diketahui memainkan peranan dalam pembentukan jaringan vaskular dalam siklus reproduktif wanita, yaitu dalam perkembangan *corpus luteum* dan dalam regenerasi endometrium serta dapat menghambat pembentukan tabung vascular dari sel pembentuknya. Pemberian EGCG dosis 5 dan 50 µg/ml secara signifikan dapat meningkatkan aktivitas dari SOD dan secara

signifikan pula menghambat proliferasi, steroidogenesis, dan VEGF di sel granulosa babi (Basini, Bianco and Grasselli, 2005). Diduga kondisi tersebut yang mempengaruhi pemberian ekstrak teh hijau tidak signifikan terhadap diameter folikel antral pada tikus yang dipapar MSG. Berbagai senyawa aktif yang mungkin ikut terekstraksi dan bekerja secara sinergis maupun antagonis mungkin juga menyebabkan efek hambatan pada diameter folikel antral.

KESIMPULAN

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol teh hijau dapat mencegah penurunan kadar FSH, dan dapat mencegah peningkatan kadar MDA ovarium pada tikus yang dipapar MSG. Namun tidak dapat mencegah penurunan diameter folikel antral pada tikus yang dipapar MSG.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, A. A. et al. (2014) 'Effect of monosodium glutamate on the ovaries of adult female albino rats and the possible protective role of green tea', pp. 793–800. doi: 10.4103/1110-2098.149773.
- Ao, E. and Fae, O. I. (2011) 'Histological Studies of the Effects of Monosodium Glutamate on the Ovaries of Adult Wistar Rats', 1(January), pp. 37–43.
- Athology, T. O. P. (2001) 'Glutamate Receptors in Peripheral Tissues: Current Knowledge, Future Research, and Implications for Toxicology', 29(2), pp. 208–223.
- Basini, G., Bianco, F. and Grasselli, F. (2005) 'Epigallocatechin-3-gallate from green tea negatively affects swine granulosa cell function', 28, pp. 243–256. doi: 10.1016/j.domaniend.2004.10.002.
- Frei, B. and Higdon, J. V (2003) 'Proceedings of the Third International Scientific Symposium on Tea and Human Health: Role of Flavonoids in the

- Diet Antioxidant Activity of Tea Polyphenols In Vivo: Evidence from Animal’.
- Hernayati 2013, *Efek Ekstrak Daun Teh (Camellia Sinensis (L.) Kuntze) Terhadap Gambaran Hematologi, Kadar No, Aktivitas Gpx Pada Individu Dengan Polimorfisme Gena Nos3 Dan Δ-Alad Yang Terpapar Plumbum*, Electronic Theses & Dissertations (ETD) Gadjah Mada University, dilihat pada 17 Maret 2017, <<http://etd.repository.ugm.ac.id>>
- Iremonger, K. J. et al. (2010) ‘Glutamate regulation of GnRH neuron excitability’, *Brain Research*. Elsevier B.V., 1364, pp. 35–43. doi: 10.1016/j.brainres.2010.08.071.
- James, O., Yetunde, A. and Akanmu, M. A. (2016) ‘Pathophysiology Evidence of alterations in brain structure and antioxidant status following “ low-dose ” monosodium glutamate ingestion’, *Pathophysiology*. Elsevier Ireland Ltd, 23(3), pp. 147–156. doi: 10.1016/j.pathophys.2016.05.001.
- Macharina, Yetty 2011, *Pengaruh Monosodium Glutamat terhadap Folikel dan Siklus Estrus Mencit Betina*, Repository Institusi Universitas Sumatera Utara, dilihat 17 Maret 2017, <<http://repository.usu.ac.id/handle/123456789/27777>>
- Mahmood, B., Mokhtar, M. and Esfandiar, S. (2015) ‘The Impact of Green Tea (Camellia Sinensis) on the Amount of Gonadotropin Hormones (LH , FSH) in Immature Female Rats Poisoned with Cadmium Chloride’, 8(1), pp. 261–268.
- MAIDAWILIS (2010) ‘Terhadap Kadar Follicle Stimulating Hormon Program Pascasarjana Universitas Andalas’.
- Megawati, D. and Listyawati, S. (2005) ‘Siklus Estrus dan Struktur Histologis Ovarium Tikus Putih (Rattus norvegicus L .) Setelah Pemberian Monosodium Glutamat (MSG) Secara Oral’, 7(April), pp. 47–52.
- Nuril, SMA 2015, *Efek Pemberian Ekstrak Teh Hijau (Camellia Sinensis) Terhadap Analisis Semen, Diameter Tubulus Seminaferus, Dan Kadar Malondialdehyde (MDA) Testis Mencit Balb/c Setelah Dipapar Monosodium Glutamate*, Perpustakaan Universitas Airlangga, dilihat pada 17 Maret 2017, <<http://repository.unair.ac.id/29475/1/HALAMAN%20DEPAN.pdf>>
- Ogaly, H. A. et al. (2015) ‘Neurotoxicology and Teratology In fl uence of green tea extract on oxidative damage and apoptosis induced by deltamethrin in rat brain’, *Neurotoxicology and Teratology*. Elsevier Inc., 50, pp. 23–31.
- Olney, J. W. (1969) ‘Brain Lesions, Obesity, and Other Disturbances in Mice Treated with Monosodium Glutamate’, *Science*, 164(3880), pp. 719–721. doi: 10.1126/science.164.3880.719.
- Press, C. and Press, C. (2015) ‘A Short History of MSG’, 5(4), pp. 38–49.
- Rueda, C. B. et al. (2016) ‘Biochimica et Biophysica Acta Glutamate excitotoxicity and Ca²⁺ -regulation of respiration: Role of the Ca²⁺ + activated mitochondrial transporters (CaMCs)’, *BBA - Bioenergetics*. Elsevier B.V., 1857(8), pp. 1158–1166. doi: 10.1016/j.bbabi.2016.04.003.
- Umami, R. et al. (no date) ‘Pengaruh Vitamin C dan E terhadap Histologi Tuba Fallopii pada Tikus yang Dipapar MSG The Effect of Vitamin C and E on the Fallopian Tubes Histology of MSG-exposed Rats’, 28(2), pp. 63–67.
- Walker, R. and Lupien, J. R. (2000) ‘Glutamate Safety in the Food Supply The Safety Evaluation of Monosodium Glutamate 1’, pp. 1049–1052.