

Vol. 4 No. 2, September 2010
ISSN : 1978-225X

Jurnal Kedokteran Hewan



FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS SYIAH KUALA
Bekerjasama dengan
PERHIMPUNAN DOKTER HEWAN INDONESIA



ISSN : 1978-225X

JURNAL KEDOKTERAN HEWAN
Vol. 4 No. 2, September 2010

Terbit setiap Maret dan September

Alamat Redaksi : Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala,
Jl. Tgk. Hasan Krueng Kalee No. 4 Darussalam, Banda Aceh, 23111
Telp./Fax. No. 0651-7551536, *E-mail* : jurnal_khusk@yahoo.com

Ketua Penyunting :
Tongku N. Siregar

Penyunting Pelaksana :
Hamdan
T. Armansyah TR
Arman Sayuti
Erdiansyah Rahmi
Amalia Sutriana
Dwinna Aliza

Penyunting Ahli :
Mahdi Abrar
M. Hambal
T. Fadrial Karmil
M. Aman Yaman
Yudha Fahrimal
Sugito
Samadi

Sekretariat :
Fakhrurrazi

Rekening : 158-0000007419 Bank Mandiri
Cabang Banda Aceh

JURNAL KEDOKTERAN HEWAN

SYARAT-SYARAT PENULISAN

1. Ketentuan Umum

Naskah harus asli yang dihasilkan dari hasil penelitian bidang kedokteran hewan dan peternakan yang belum pernah dipublikasikan.

2. Format Penulisan

- Artikel diketik dengan jarak 2 spasi kecuali untuk judul, abstrak, judul tabel, judul gambar dan daftar pustaka diketik menurut ketentuan tersendiri
- First line* dimulai 5 ketukan ke dalam.
- Huruf *Times New Roman* 12
- Kertas HVS ukuran kuarto (8,5 x 11")
- Naskah dapat ditulis dalam bahasa Indonesia atau bahasa Inggris
- Jumlah halaman penulisan maksimal 8 (delapan) halaman

3. Sistematika Penulisan

- Judul*
Judul artikel dalam berkala ilmiah haruslah spesifik dan efektif (tidak boleh lebih dari 14 kata dalam tulisan berbahasa Indonesia, atau 10 kata bahasa Inggris, atau 90 ketuk pada papan kunci). Judul dibuat dalam 2 bahasa yaitu bahasa Indonesia dan bahasa Inggris.
- Identitas Penulis*
Nama-nama penulis ditulis tanpa gelar akademis atau indikasi jabatan dan kepangkatan. Identitas penulis harus dilengkapi dengan alamat lembaga tempat kegiatan penelitian dilakukan untuk keperluan alamat korespondensi kalau berbeda (jika ada alamat *e-mail* dicantumkan)
- Abstrak*
Setiap artikel harus disertai satu paragraf abstrak (bukan ringkasan yang terdiri atas beberapa paragraf) secara gamblang, utuh, dan lengkap yang menggambarkan esensi isi keseluruhan tulisan. Abstrak ditulis dalam 2 bahasa yakni bahasa Indonesia dan bahasa Inggris yang maksimal terdiri dari 200 kata. Abstrak dilengkapi dengan 3-5 kata kunci yang mencerminkan konsep yang dikandung artikel.
- Pendahuluan*
Pendahuluan berisi latar belakang, tujuan dan manfaat penelitian
- Materi dan Metode*
Materi dan metode memuat bahan dan peralatan yang digunakan terutama yang spesifik. Prosedur penelitian harus ditulis secara singkat.
- Hasil dan Pembahasan*
- Kesimpulan*
- Ucapan Terimakasih* (bila perlu)
- Daftar Pustaka*
Daftar pustaka disusun berdasarkan abjad dan bukan nomor urut. Penulisan nama jurnal harus sesuai dengan singkatan yang berlaku (kalau tidak ada singkatan, jangan disingkat). Komposisi sumber pustaka adalah jurnal ilmiah/majalah ilmiah minimal 60% dan *textbook* maksimal 40%.

Contoh.

- Jainudeen, M.R. and E.S.E. Hafez. 2000. Gestation, Prenatal Physiology, and Parturition. In **Reproduction in Farm Animals**, B. Hafez and E.S.E. Hafez (ed). 7th Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
- Siregar, T.N., N. Areuby, G. Riady, dan Amiruddin. 2004. Efek pemberian PMSG terhadap respon ovarium dan kualitas embrio kambing lokal prepuber. **Media Kedokteran Hewan** 20(3):108-112.

4. Prosedur Pengiriman Naskah

Pengiriman makalah dapat dilakukan setiap saat dalam bentuk cetakan (*print out*) sebanyak 3 (tiga) eksemplar dan 1 (satu) disket 3,5" atau CD (program MS World) dikirim ke alamat redaksi :

Jurnal Kedokteran Hewan

Alamat Redaksi : Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala,
Jl. Tgk. Hasan Krueng Kalee No. 4 Darussalam, Banda Aceh, 23111
Telp./Fax. No. 0651-7551536, *E-mail* : jurnal_khusk@yahoo.com

Makalah yang telah dimuat dikenai biaya penerbitan dan pengiriman lewat transfer-bank Mandiri cabang Banda Aceh atas nama drh. Hamdan, MP., Rek. No. 158-0000007419. Semua keputusan redaksi tidak dapat diganggu-gugat dan tidak diadakan surat menyurat untuk keputusan tersebut.

STUDI MIKROANATOMI PANKREAS BABIRUSA (*Babyrousa babyrussa*) MENGGUNAKAN METODE PEWARNAAN BAKU DAN IMUNOHISTOKIMIA

Microscopical Study of Pancreatic Tissue of Babirusa (Babyrousa babyrussa) Using Conventional and Immunohistochemical Methods

I Ketut Mudite Adnyane¹, Alastair A. Macdonald², Adi Winarto¹, dan Srihadi Agungpriyono¹

¹Departemen Anatomi, Fisiologi dan Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor

²Dept. of Preclinical Veterinary Sciences, Royal (Dick) School of Veterinary Studies, The University of Edinburgh, Edinburgh, UK

E-mail: adnyane@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini memanfaatkan metode pewarnaan baku dan imunohistokimia dengan tujuan untuk menggambarkan morfologi dan distribusi sel-sel glukagon dan insulin pada pankreas babirusa (*Babyrousa babyrussa*) jantan dewasa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bagian endokrin (pulau Langerhans) pankreas tersebar merata pada bagian asinar. Visualisasi dengan teknik imunohistokimia, dapat dilihat sel-sel glukagon terdistribusi pada bagian perifer, sedangkan sel-sel insulin tersebar di bagian tengah dari pulau Langerhans. Secara umum jumlah sel-sel insulin jauh lebih banyak dibandingkan dengan sel-sel glukagon. Pada pankreas babirusa ditemukan juga unsur neonatal (200-700 μm), mirip dengan pulau Langerhans besar pada hewan ruminansia. Sel-sel di dalam pankreas memberikan reaksi negatif terhadap antisera insulin dan glukagon pada pewarnaan imunohistokimia.

Kata kunci: pankreas, babirusa, imunohistokimia

ABSTRACT

This study utilized conventional and immunohistochemical methods, to describe the morphology and distribution of glucagon and insulin cells in the pancreas of adult male babirusa (Babyrousa babyrussa). The results of research showed that the endocrine portion (Langerhans islet) spread evenly on the acinar portion of pancreas. Observation using immunohistochemical method showed that glucagon cells were distributed on the perifer, whereas insulin cells in the center of the Langerhans islet of pancreas. In general, the number of insulin cells was higher than glucagon cells. It is interesting to note, in the pancreas babirusa also found that neonatal elements similar to the Langerhans islet, but have larger sizes (ranging between 200 -700 μm). The picture is similar to the large Langerhans islet was reported in ruminant. These cells give a negative reaction to insulin and glucagon antisera.

PENDAHULUAN

Babirusa (*Babyrousa babyrussa*) merupakan salah satu jenis satwa asli dan khas Indonesia dan telah tercatat oleh *International Union for the Conservation of Nature* (IUCN) sebagai satwa langka yang perlu untuk dijaga kelestariannya. Habitat asli babirusa adalah pulau Sulawesi dan beberapa pulau di sekitar Sulawesi bagian timur, termasuk pulau Lembe, Peleng, Bagai, kepulauan Togian sampai ke pulau Buru dan Sula di kepulauan Maluku bagian tengah (Groves, 1980). Satwa ini termasuk ke dalam famili *Suidae* dan genus

Dengan demikian babirusa merupakan satu-satunya jenis hewan yang digolongkan ke dalam genus *Babyrousa* di bawah famili *Suidae*. Sampai saat ini sistem pencernaan babirusa belum banyak diketahui, walaupun penelitian terhadap lambung, jenis makanan serta pola pakan babirusa yang ditangkarkan di kebun binatang sudah pernah dilakukan (Leus, 1994; Agungpriyono *et al.*, 2000). Penelitian terhadap pankreas babirusa terutama bagian endokrinnya belum pernah dilaporkan.

Pankreas merupakan organ pembantu dalam sistem pencernaan yang berfungsi ganda sebagai kelenjar eksokrin dan kelenjar

berfungsi dalam mensekresikan enzim pencernaan. Bagian dari pankreas yang berfungsi sebagai organ endokrin adalah pulau Langerhans (*Langerhans islet*) yang tersebar di antara bagian eksokrin pankreas berfungsi dalam menghasilkan hormon (Cunningham dan Klein, 2007; Norris, 2007).

Pulau Langerhans pada hewan mamalia berisi kurang lebih lima jenis sel endokrin. Empat dari lima tipe tersebut adalah sel insulin (β), glukagon (α), somatostatin (SS), dan *polypeptide pancreas* (PP), yang dapat diketahui melalui respon dari hormon yang dikandungnya. Secara umum topografi sel insulin berada di tengah, sel glukagon dan sel PP berada di perifer atau di sepanjang tepi pulau Langerhans sedangkan sel-sel somatostatin berada pada posisi yang cukup strategis yaitu di antara sel-sel glukagon, sel insulin serta sel PP (Norris, 2007; Huang *et al.*, 2009). Susunan ini berbeda pada hewan kuda, lokasi sel insulin tersebut berada di perifer sedangkan sel glukagon di bagian tengah pulau Langerhans (Grimelius, 1968). Penelitian ini menjadi sangat menarik untuk dilakukan, karena penelitian terhadap pankreas babirusa belum pernah dilaporkan. Tujuan penelitian ini adalah melihat struktur pankreas babirusa dengan tinjauan khusus pada morfologi dan distribusi sel-sel penghasil hormon glukagon dan insulin menggunakan teknik imunohistokimia.

MATERI DAN METODE

Hewan Coba dan Penyiapan Sampel Jaringan

Sampel jaringan pankreas diambil dari babirusa yang dikorbkan secara berkala karena *over* populasi atau afkir (daya reproduksinya rendah) di kebun-kebun binatang di Indonesia (Kebun Binatang Surabaya dan Kebun Binatang Ragunan). Organ dicuci dengan 0,9% NaCl fisiologis, kemudian dimasukkan ke dalam larutan fiksatif Bouin (dengan komposisi asam pikrat jenuh : formalin p.a : asam asetat glasial = 15 : 5 : 1) selama 24 jam. Setelah organ terfiksasi, larutan diganti dengan alkohol 70% yang dikenal sebagai "*stopping point*" dengan pengertian jaringan dapat disimpan lama pada larutan ini.

Proses penarikan air dari jaringan (*dehidrasi*) dilakukan menggunakan alkohol konsentrasi bertingkat mulai 80% sampai dengan 100% dan dijernihkan dengan silol (*clearing*) sebelum akhirnya ditanam dalam parafin (*embedding*). Jaringan dalam blok parafin disayat secara serial dengan ketebalan

Yamatokoki, Japan), dilekatkan pada gelas objek kemudian disimpan dalam inkubator 40 °C selama 24 jam.

Pewarnaan Jaringan

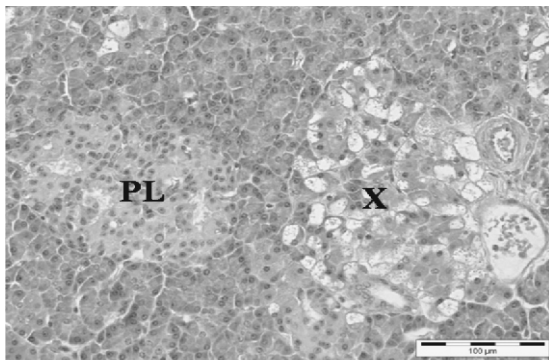
Hasil sayatan diwarnai dengan pewarnaan hematoksilin eosin (HE) dan pewarnaan imunohistokimia. Pewarnaan HE digunakan untuk melihat struktur umum jaringan (Kiernan, 1993). Morfologi dan distribusi sel-sel penghasil hormon glukagon dan insulin dideteksi menggunakan pewarnaan imunohistokimia metode *Avidin-Biotin Complex* (ABC) (Hsu *et al.*, 1981). Teknik ini memanfaatkan prinsip ikatan antara antigen dan antibodi. Proses pewarnaan diawali dengan deparafinisasi jaringan dengan silol dan rehidrasi dengan alkohol dan *phosphate buffer saline* (PBS). Jaringan kemudian diinkubasi dengan larutan H₂O₂ 3% dalam metanol selama 15 menit untuk menghilangkan aktivitas enzim peroksidase endogen. Jaringan diinkubasi dalam serum normal kambing (S-1000, Vector Laboratories Inc., USA) selama 30 menit untuk menutupi bagian antigen yang tidak spesifik. Setelah itu, jaringan diinkubasi dalam antibodi primer yaitu anti glukagon (Glucagon rabbit polyclonal antibody G-P806, Vector Laboratories Inc., USA) 1 : 50 dan anti insulin (Insulin mouse monoclonal I2018, Sigma Aldrich Inc., USA) 1 : 2000 pada suhu 4 °C selama 1 malam. Kemudian diinkubasikan selama 60 menit dalam antibodi sekunder (Biotinylated anti rabbit untuk glukagon dan Biotinylated anti mouse untuk insulin, Vector Laboratories Inc., USA). Reaksi positif divisualisasi dengan diaminobenzidin (ImmPACT DAB Peroxidase Substrate SK-4105, Vector Laboratories Inc., USA).

Untuk menjamin spesifisitas reaksi dilakukan prosedur kontrol negatif dan kontrol positif. Kontrol negatif dilakukan dengan menginkubasikan sediaan menggunakan PBS sebagai ganti antibodi primer. Pengamatan dilakukan dengan mikroskop cahaya yang dilengkapi *image analyzer* (Olympus BX51, Japan).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini berhasil menggambarkan morfologi secara mikroskopis pankreas babirusa. Pankreas babirusa terdiri atas bagian kelenjar eksokrin dan bagian kelenjar endokrin. Komponen eksokrin terdiri atas ujung kelenjar

terdiri atas kumpulan sel-sel serous yang berbentuk piramid dengan sel sentro asinarnya (Gambar 1). Hal yang sama dilaporkan pada kambing dan domba (Adnyane *et al.*, 2001). Alat penyalur bagian eksokrin ini terdiri atas: duktus interkalatus, duktus interlobularis, duktus interlobaris, dan duktus pankreatikus. Saluran-saluran ini dapat dibedakan menurut ukuran dan struktur histologinya. Ukuran dan struktur histologinya beragam, mulai dari yang kecil dan hanya mengandung jaringan ikat saja sampai yang tebal dengan lapisan otot polos pada duktus-duktus yang besar. Gambaran yang sama juga ditemukan pada ruminansia, manusia, dan tikus (Dellmann dan Carithers, 1996; Ku dan Lee, 2005; Huang *et al.*, 2009).



Gambar 1. Fotomikrograf pankreas babirusa terdiri atas bagian endokrin dan eksokrin. Selain itu ditemukan juga unsur neonatal (X) yang mirip dengan Langerhans besar (*large islet*) pada ruminansia. Bagian endokrin atau pulau Langerhans (PL) terletak di antara bagian eksokrin pankreas. Pewarnaan HE. Skala: 100 µm

Kapsula jaringan ikat membentuk sekat-sekat, membagi pankreas menjadi lobus dan lobulus. Dalam jaringan ikat interlobularis ditemukan pembuluh darah, saraf, dan saluran kelenjar. Pankreas babirusa mempunyai batas antar lobulus yang jelas, sama seperti yang ditemukan pada pankreas domba (Adnyane *et al.*, 2001; Rahayu *et al.*, 2005).

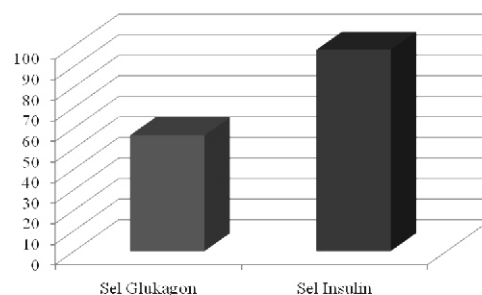
Pada pewarnaan HE terlihat bahwa inti sel pada bagian asinar maupun pada pulau Langerhans mengambil warna biru (bersifat basofilik) dan sitoplasmanya mengambil warna merah (bersifat eosinofilik).

Bagian endokrin pankreas (pulau Langerhans) dilapisi oleh jaringan ikat dan tersebar di antara sel-sel asinar/eksokrin pankreas dengan bentuk yang tidak beraturan. Sitoplasma sel-sel di pulau Langerhans mengambil warna bersifat eosinofilik lemah dan lebih muda sehingga sangat mudah untuk dibedakan dengan bagian eksokrinnya (Gambar 1). Di dalam pulau

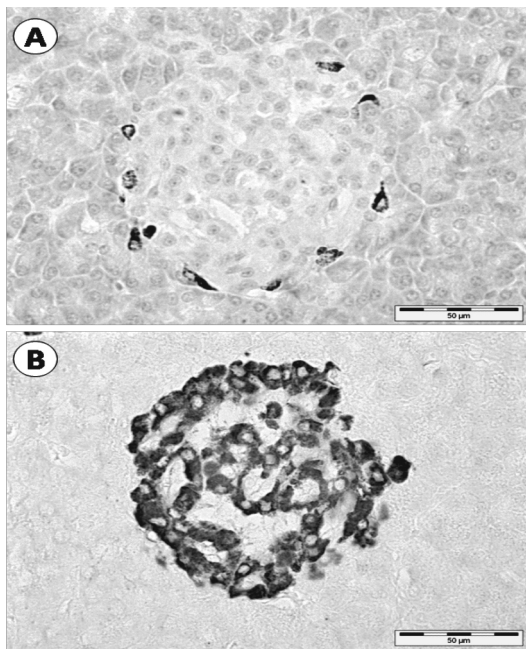
banyak pembuluh darah kapiler. Keberadaan pembuluh darah ini berkaitan dengan fungsinya menyalurkan sekret hormon dari pulau Langerhans. Sel-sel endokrin dikatakan menyalurkan hormon yang dihasilkannya melalui pembuluh darah kapiler (Cunningham dan Klein, 2007; Norris, 2007). Berbeda dengan hewan mamalia lainnya, pada pankreas babirusa ditemukan bagian yang mirip dengan pulau Langerhans akan tetapi mempunyai ukuran jauh lebih besar (200-700 µm). Sel yang terdapat di dalamnya mengandung granula-granula dengan sitoplasma yang bening (Gambar 1).

Secara imunohistokimia reaksi positif ditunjukkan dengan adanya warna coklat pada bagian sitoplasma sel dengan inti yang tidak terwarnai. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa sel-sel endokrin pada pulau Langerhans pankreas babirusa memiliki gambaran khas sel endokrin baik bentuk terbuka maupun bentuk tertutup. Morfologi sel-sel glukagon yang teramati adalah polimorfik, bulat, oval, segitiga, atau seperti tetes air. Bentuk ini sama seperti pada hewan mamalia lainnya (Adnyane *et al.*, 2001; Ku dan Lee, 2005). Sel-sel glukagon berdistribusi di bagian perifer dari pulau Langerhans (Gambar 3A). Selain itu sel glukagon dan insulin juga ditemukan di antara sel-sel asinar pada bagian eksokrin pankreas di luar pulau Langerhans. Hal yang sama dilaporkan pada pankreas tikus (Ku dan Lee, 2005), kambing, dan domba (Adnyane *et al.*, 2001; Rahayu *et al.*, 2005), sapi (Dellmann dan Carithers, 1996) dan manusia (Grimelius, 1968). Sel-sel insulin terdistribusi di bagian tengah dari pulau Langerhans (Gambar 3B). Hal ini berbeda dengan yang ditemukan pada pankreas kuda, sel-sel glukagon terdistribusi di bagian tengah pulau Langerhans (Dellmann dan Carithers, 1996).

Pengamatan secara mikroskopis menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 40x, dapat dikemukakan bahwa jumlah sel-sel insulin lebih banyak dibandingkan dengan jumlah sel-sel glukagon (Gambar 2).



Gambar 2. Jumlah rata-rata sel glukagon dan insulin



Gambar 3. Fotomikrograf pankreas babirusa, (A) memperlihatkan sel-sel glukagon terdistribusi di bagian perifer dari pulau Langerhans. (B) memperlihatkan sel-sel insulin terdistribusi di bagian tengah dari pulau Langerhans. Pewarnaan imunohistokimia. Skala: A-B = 50 µm

Pola yang sama juga ditemukan pada pankreas hewan mamalia lainnya. Ku dan Lee (2005) juga melaporkan hal yang sama pada pankreas tikus. Bagian yang mirip dengan pulau Langerhans dengan pewarnaan imunohistokimia memberikan reaksi negatif terhadap antisera glukagon maupun insulin, dengan demikian maka sel-sel tersebut bukan sebagai penghasil hormon glukagon maupun insulin.

KESIMPULAN

Secara umum pankreas babirusa mirip dengan pankreas mamalia lainnya. Sel-sel penghasil hormon glukagon terdistribusi di bagian perifer dari pulau Langerhans dan sel insulin terdistribusi di bagian tengah. Jumlah sel insulin lebih banyak dibandingkan dengan sel glukagon. Pada pankreas babirusa ditemukan unsur neonatal yang mirip dengan Langerhans besar (*large islet*) pada ruminansia. Unsur ini bereaksi negatif terhadap antisera glukagon maupun insulin pada pewarnaan imunohistokimia.

DAFTAR PUSTAKA

Adnyane, I.K.M., S. Novelina, D.K. Sari, T. Wresdiyati, dan S. Agungpriyono. 2001. Perbandingan antara mikroanatomi

dan domba lokal dengan tinjauan khusus pada distribusi dan frekuensi sel-sel glukagon pankreas. **Media Veteriner.** 8(1):5-9.

- Agungpriyono, S., A.A. Macdonald, K.Y. Leus, N. Kitamura, I.K.M. Adnyane, G.P. Goodall, E. Hondo, and J. Yamada. 2000. Immunohistochemical study on the distribution of endocrine cells in the gastrointestinal tract of the babirusa, *Babyrousa babyrussa* (Suidae). **Anat. Histol. Embryol.** 29:173-178.
- Cunningham, J.G. and B.G. Klein. 2007. **Textbook of Veterinary Physiology.** 4th ed. Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri.
- Dellmann, H.D. and J.R. Carithers. 1996. **Cytology and Microscopic Anatomy.** William and Wilkins, USA.
- Grimelius, B. 1968. A silver nitrate stain for alpha-2 cells in human pancreatic islet. **Acta Soc. Med. Upsal.** 73:234-270.
- Groves, C.P. 1980. Notes on the systematic of *Babyrousa* (Artiodactyla, Suidae). **Zool. Med.** 55:29-46.
- Hsu, S., L. Raine, and F.H. 1981. Use of Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: A comparison between ABC and unlabelled antibody (PAP) procedures. **J. Histochem. Cytochem.** 92:577-580.
- Huang, Y.H., M.J. Sun, M. Jiang, and B.Y. Fu. 2009. Immunohistochemical localization of glucagon and pancreatic polypeptide on rat endocrine pancreas: coexistence in rat islet cells. **Eur. J. Histochem.** 53:81-85.
- Kiernan, J.A. 1993. **Histological and Histochemical Method: Theory and Practice.** 3rd ed. Pergamon Press, USA.
- Ku, S.K. and H.S. Lee. 2005. Distribution and frequency of endocrine cells in the pancreas of the ddY mouse: an immunohistochemical study. **Eur. J. Histochem.** 49:125-130.
- Leus, K.Y. 1994. **Foraging Behaviour, Food Selection and Diet Digestion of *Babyrousa babyrussa* (Suidae, Mammalia).** The University of Edinburgh, Edinburgh.
- Norris, D.O. 2007. **Vertebrate Endocrinology.** 4th ed. Elsevier Inc., United State.
- Rahayu, E.Y., I.K.M. Adnyane, S. Agungpriyono, dan S. Novelina. 2005. Studi histologi sel-sel ekstra insular pankreas kambing dan domba lokal. **J.**