

GAMBARAN STRUKTUR HISTOLOGIS TULANG EKOR PADA TIKUS OVAREKTOMI DAN NON-OVAREKTOMI

The Histological Structures of Tail Bones in Ovariectomy and Non-ovariectomy Rats

Dian Masyitha¹

¹Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh
E-mail: dianchairida@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mempelajari struktur mikroskopis tulang ekor pada tikus yang telah diovariectomi dan non-ovarektomi. Empat belas ekor tikus putih betina galur Sprague Dawley umur 7 minggu dibagi rata secara acak dalam 2 kelompok, masing-masing 7 ekor. Tikus non-ovarektomi (K1) dan ovarektomi (K2) diberi pakan rasio fosfat/kalsium= 2. Setelah perlakuan berlangsung 12 minggu, dilakukan pembedahan. Tulang ekor diambil dan disiapkan untuk pemeriksaan mikroskopis dengan pengecatan trikrom. Hasil penelitian menunjukkan osteoporosis terjadi pada tulang ekor tikus ovarektomi (K2). Dapat disimpulkan bahwa pada kondisi kekurangan hormon estrogen (ovarektomi) menyebabkan terjadinya osteoporosis pada tulang ekor.

Kata kunci: osteoporosis, ovarektomi, tulang ekor

ABSTRACT

This experiment was conducted to study the microscopic structure of tail bones in ovariectomized and non-ovariectomy rats. Fourteen female Sprague Dawley rats 7 weeks old were randomly divided into 2 groups. The rats in the control group were non-ovariectomized. The rats in group II were ovariectomized. The samples were then fed with phosphate/calcium diet with ratio of 2 to 1. The rats was sacrificed after 12 weeks. The tail bone were collected and processed for microscopic examination with trichrome staining. The results showed that structurally the osteoporosis occurred in tail bone of group K2. Its could be concluded that estrogen deficiency condition (ovariectomy) caused osteoporosis in tail bones.

Key words: osteoporosis, ovariectomy, tail bone

PENDAHULUAN

Osteoporosis atau rapuh tulang adalah penyakit metabolisme tulang dengan karakteristik pengurangan massa tulang dan kemunduran mikroarsitektur tulang. Manifestasi klinis akan tampak sebagai akibat timbulnya fraktur. Fraktur lebih sering timbul secara spontan atau setelah trauma ringan (Marcus, 1996). Osteoporosis banyak terjadi pada wanita pascamenopause. Dalam kehidupan wanita secara fisiologis terjadi penurunan fungsi ovarium. Hal ini mengakibatkan penurunan estrogen yang biasa terjadi diawal masa klimakterium yaitu usia 40 sampai 65 tahun. Pada usia 70 tahun hampir 40% wanita mengalami patah tulang akibat osteoporosis. Dengan hilangnya estrogen karena menopause, wanita akan kehilangan mineral tulang sangat cepat (3% per tahun) selama 5 tahun pertama dan 1% per tahun sesudah itu (Dawson-Hughes, 1996).

Pada wanita pascamenopause, kadar estrogen yang mulai menurun akan mengakibatkan gangguan keseimbangan antara sel penghancur tulang (osteoklas) dan sel pembentuk tulang (osteoblas). Selain hormon estrogen, hormon paratiroid, vitamin D, dan kalsitonin sangat berpengaruh terhadap wanita yang akan mencapai usia menopause (Mizuno *et al.*, 1995).

Faktor-faktor risiko penyebab terjadinya fraktur-osteoporosis adalah ras, kulit putih atau Asia, riwayat keluarga, setelah operasi pengangkatan indung telur (oovorektomi), penurunan fungsi ovarium sebelum menopause, penurunan fungsi ovarium, hiperprolaktinemia, gangguan nafsu makan oleh karena

psikogen/anoreksia nervosa, kebiasaan makan yang merugikan (tinggi kafein, tinggi protein, tinggi natrium, tinggi fosfat dan rendah kalsium) (Felson *et al.*, 1995). Tikus putih ovarektomi cukup baik digunakan sebagai hewan model pada penelitian mempelajari osteoporosis (Kimmel, 1996; Eklou-Kalonji *et al.*, 1999) karena pada tikus ovarektomi hilangnya massa tulang karsinoma dan peningkatan angka pergantian tulang menyerupai ciri-ciri osteoporosis menopause alami manusia, secara anatomi pertumbuhan kartilagonya identik pada wanita dan memberikan data pokok akurat yang digunakan pada skeleton manusia (Kimmel, 1996). Osteoporosis pertama-tama akan menyerang tulang aksial, baru kemudian tulang-tulang anggota gerak (Krane, 1974). Hasil penelitian Sumiyati (1998) juga menemukan bahwa osteoporosis pertama menyerang tulang aksial (tulang ekor), kemudian tulang-tulang anggota gerak (tulang paha). Berdasarkan uraian di atas, penelitian untuk mengetahui gambaran struktur histologi tulang ekor pada tikus ovarektomi dan non-ovarektomi perlu dilakukan. Diharapkan data gambaran histologi tulang hewan model tikus ovarektomi dapat memberi petunjuk dan rujukan pada kondisi kerapuhan tulang (osteoporosis), khususnya pada wanita pasca-menopause.

MATERI DAN METODE

Pada penelitian ini digunakan 14 ekor tikus putih galur *Sprague Dawley* betina umur 7 minggu. Tikus secara acak dibagi rata dalam 2 kelompok dengan 7

ulangan dan dikandangkan secara individual. Masa adaptasi 2 minggu, satu kelompok digunakan sebagai kelompok kontrol (K1= tanpa ovariectomy) dan satu kelompok lain sebagai kelompok perlakuan (K2= ovariectomy).

Prosedur Ovariectomy dan Pemeliharaan Tikus Pasca-ovariectomy

Ovariectomy (pengangkatan ovarium) dilakukan dengan anestesi perinhalasi menggunakan eter. Sebelum operasi dimulai daerah operasi dipersiapkan dahulu yaitu dengan mencukur bulu di sekitar daerah operasi kemudian diolesi dengan yodium. Irisan pada dinding abdomen dilakukan lewat *caudal linea mediana* yaitu tepat dibelakang *umbilicus* ke arah *caudal*. Panjang irisan dibuat secukupnya. Kulit dan jaringan subkutan diinsisi dengan pisau bedah. Setelah itu dinding abdomen dibuka melalui *linea alba* dengan menggunakan gunting dan jari sebagai pemandunya agar tidak mengunting organ viseral. Setelah dinding abdomen dibuka, organ reproduksi dicari kemudian serviks uteri diangkat dengan menggunakan *forcep allis* kemudian diurut ke depan sehingga sampai pada bifurkasio uteri, kornua uteri kiri dan kanan. Kedua kornua sampai ovarium dikeluarkan dari rongga abdomen. Selanjutnya pembuluh darah yang terdapat di sebelah kanan dan kiri serviks uteri diligasi. Kemudian ovarium diangkat dengan cara melakukan pemotongan di antara ligasi kemudian rongga abdomen diirigasi dengan antibiotik penstrep (campuran penisilin dan streptomisin) untuk mencegah infeksi. *Linea alba* dipertautkan dengan jahitan sederhana tunggal menggunakan *cat gut*. Lapisan sub kutan dijahit dengan pola jahitan sederhana menerus menggunakan *cat gut*, lapisan kulit dijahit dengan pola sederhana tunggal menggunakan nilon. Setelah operasi daerah jahitan diolesi dengan salep sulfanilamid. Selama masa adaptasi dan penyembuhan tikus diberi pakan standar dengan rasio kalsium/fosfat pakan= 2 dan air secara ad libitum.

Prosesing Mikroteknik Tulang Ekor

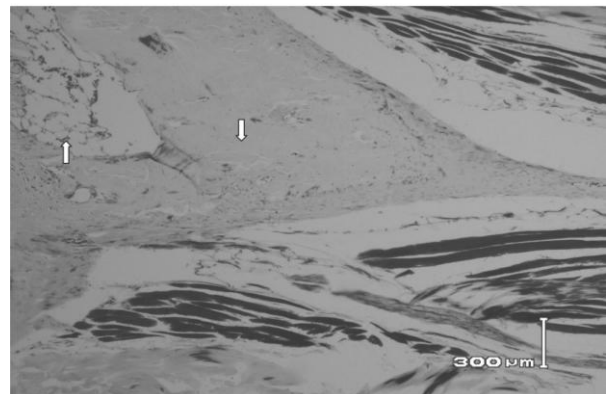
Setelah 12 minggu pasca-ovariectomy diharapkan tikus telah menderita osteoporosis, kemudian tulang ekor diambil dengan operasi potong ekor menggunakan anestesi lokal. Kemudian difiksasi dalam formalin 10% dan didekalsifikasi untuk prosesing mikroteknik. Pembuatan sediaan mikroteknik menggunakan metode parafin dan diiris dengan mikrotom dengan ketebalan 6 μ . Sediaan histologis diwarnai dengan pewarnaan trikrom. Pengamatan sediaan mikroskopis dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya binokuler.

Pengamatan Histologik Tulang dan Analisis Data

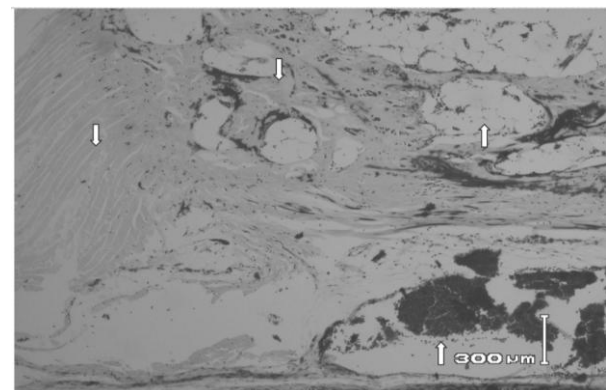
Pengamatan histologik tulang ekor difokuskan pada bagian fisis, ketebalan lapisan subkartilago artikularis dengan keberadaan kondrosit di dalamnya, kepadatan tulang trabekula dan sumsum tulang dan susunan osteoid. Keseluruhan hasil pengamatan sediaan mikroskopis dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah 12 minggu perlakuan berlangsung terlihat perbedaan pada tulang ekor antara K1 dan K2. Pada K1 menunjukkan histologis tulang ekor, lapisan fisis tampak tebal dan jelas dengan kondrosit yang banyak tersebar di dalamnya. Trabekula tampak padat, sumsum tulang terisi oleh eritrosit (Gambar 1). Pada kelompok K2 menunjukkan adanya kerusakan yang jelas dibandingkan dengan kelompok K1. Terlihat gambaran osteoporosis yang ditandai lapisan fisis tampak tipis, kondrosit terlihat sedikit. Tulang trabekula berkurang kepadatannya, sumsum tulang tampak melebar (Gambar 2).



Gambar 1. Fotomikrograf tulang ekor tikus kelompok K1 (non-ovariectomy). Struktur normal, lapisan fisis tebal dengan kondrosit di dalamnya dan tulang trabekula padat (↓); sumsum tulang terisi eritrosit (↑) (Trikrom, 200x).



Gambar 2. Fotomikrograf tulang ekor tikus kelompok K2 (ovariectomy). Terlihat gambaran osteoporosis, lapisan fisis tampak tipis, kondrosit terlihat sedikit, tulang trabekula kurang padat (↓); sumsum tulang tampak melebar (↑) (Trikrom, 200x).

Osteoporosis yang terjadi akibat meningkatnya penyerapan tulang tersifat dengan menurunnya jumlah trabekula, sementara yang terjadi akibat menurunnya pembentukan tulang, jumlah trabekula tetap normal tetapi trabekula yang terbentuk lebih tipis. Pada osteoporosis yang terjadi akibat dominannya proses penyerapan tulang tidak semua trabekula diserap (Jubb *et al.*, 1991). Aktivitas remodeling berlangsung melalui sel-sel osteogenik dan osteoklas yang terdapat di periosteum, endosteum osteonal, korteks, dan

trabekula. Periosteum bersifat balans positif, deposisi tulang oleh osteoblas lebih tinggi dibanding pembongkaran oleh osteoklas. Endosteum osteonal bersifat balans, aktivitas osteoblas dan osteoklas seimbang, sedangkan endosteum korteks dan trabekula bersifat balans negatif, yang berarti osteoklas mendominasi aktivitas remodeling (Banks, 1993). Seperti yang terjadi pada penelitian ini, penyerapan tulang didominasi di tulang trabekula, sehingga tulang trabekula tampak semakin tipis.

Osteoporosis terutama terjadi pada tulang atau bagian tulang yang sebagian besar tersusun dari jaringan kanselus, seperti korpus vertebralis, tulang pipih pada tengkorak, skapula, ilium, dan trabekula metafisis tulang panjang. Di tulang-tulang itu terjadi penyerapan trabekula maka spikulum trabekula menjadi lebih tipis dan jumlahnya berkurang. Pada bagian metafisis belum dewasa, spongiosa primer juga akan diserap secara sempurna sehingga tidak ada kerangka yang tersisa untuk memproduksi spongiosa sekunder (Jubb *et al.*, 1991).

Menurut Kimmel (1996) dan Chan dan Swaminathan (1998) bahwa faktor penting yang menentukan angka hilang tulang (osteoporosis) pada wanita dan hewan penelitian adalah defisiensi estrogen. Pada tikus ovariectomi menyebabkan penurunan kandungan kalsium kira-kira 20% dan terjadinya osteoporosis dibandingkan tikus kontrol operasi sham (Chan dan Swaminathan, 1998).

Pada tikus yang mengalami ovariectomi akan terjadi penurunan fungsi ovarium. Pembentukan estrogen oleh ovarium akan menurun (Mizuno *et al.*, 1995; Dawson-Hughes, 1996; Kimmel, 1996). Kadar estrogen yang menurun akan mengakibatkan gangguan keseimbangan antara sel penghancur tulang (osteoklas) dan sel pembentuk tulang (osteoblas) (Cotran *et al.*, 1989; Mizuno *et al.*, 1995). Keadaan ini akan menyebabkan terjadinya kehilangan massa tulang dan meningkatkan penyerapan tulang yang pada akhirnya dapat mengakibatkan osteoporosis.

KESIMPULAN

Pada kondisi kekurangan hormon estrogen akibat ovariectomi menyebabkan terjadinya kerapuhan tulang (osteoporesis) pada tulang ekor tikus.

DAFTAR PUSTAKA

- Banks, W.J. 1993. **Applied Veterinary Histology**. 3rd Ed. Mosby Year Book. Toronto.
- Chan, E.L.P. and R. Swaminathan. 1998. Calcium metabolism and bone calcium content in normal and oophorectomized rats consuming various levels of saline for 12 months. **J. Nutr.** 128:633-639.
- Cotran, R.S., V. Kumar, and S.L. Robbins. 1989. **Robbins Pathologic Basis of Disease**. 3rd ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- Dawson-Hughes, B. 1996. Calcium and vitamin D nutritional needs of elderly women. **J. Nutr.** 126:165S-1167S.
- Eklou-Kalonji, E., E. Zerath, C. Colin, C. Lacroix, X. Holy, I. Denis, and Pointillart. 1999. Calcium-regulating hormones, bone mineral content, breaking load, and trabecular remodeling are altered in growing pigs fed calcium-deficient diets. **J. Nutr.** 129:188-193.
- Felson, D.T., Y. Zhang, M.T. Hannan, W.B. Kannel, and W.P. Kiel. 1995. Alcohol intake and bone mineral density in elderly men and women. **Am. J. Epidemiol.** 142(5):485-492.
- Jubb, K.V.F., P.C. Kennedy, and N. Palmer. 1991. **Pathology of Domestic Animal**. Vol. 1. 3rd ed. Academic Press, Inc., San Diego.
- Kimmel, D. B. 1996. Animal Models for in Vivo Experimentation in Osteoporosis Research. In **Osteoporosis**. Marcus, R., D. Feldman, and J. Kelsey (Eds.). Academic Press, London.
- Krane, S.M. 1974. Metabolic Bone Disease: Principle of Internal Medicine. 7th ed. In **Principle of Internal Medicine**. Winstrobe, M.M., G.W. Thorn, R.D. Adams, E. Braunwald, K. J. Isselbacher, R.G. Petersdorf. (Eds.). JMC Press Inc. Quezon City, Filipina.
- Marcus, R. 1996. The Nature of Osteoporosis. In **Osteoporosis**. Marcus, R., D. Feldman and J. Kelsey (Eds.). Academic Press, London.
- Mizuno, K., A. Suzuki, Y. Ino, Y. Asada, F. Kikkawa, and Y. Tomoda. 1995. Postmenopausal bone loss in Japanese women. **Int. J. Gynecol. Obstet.** 50:33-39.
- Sumiyati, S. 1998. Penanggulangan Osteoporosis Imbas Panhisterovariectomi dan diet Rasio Kalsium/Fosfat Tinggi dengan Rebon pada Tikus. **Laporan Penelitian**. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.