

Studi Anatomi Lambung Kelelawar Buah (*Pteropus vampyrus*) Dengan Pewarnaan Histokimia *Periodic Acid Schiff* (PAS)

(The Anatomy Study Gastric Of Fruit Bats' (Pteropus vampyrus) By Histochemical Staining Of Periodic Acid Schiff)

George Marthienz do Hage¹, Yulfia Nelly Selan², Filphin Amalo²

¹Mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana

²Laboratorium Anatomi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana,
Jalan. Adi Sucipto, Penfui, Kupang, Nusa Tenggara Timur, Tlp/email. (0380) 8135539;
gheo_wannabe@yahoo.com

ABSTRACT

Timor Island, East Nusa Tenggara (NTT) has a large enough population of bats. A fruit bat (*Pteropus vampyrus*) is one of such species. Gastric in mammals consist of three region that is fundus, cardia and pylorus. This study aims to determine whether there are differences in the distribution pattern of constituent cells of gastric in *Pteropus vampyrus* to other mammals. *Pteropus vampyrus* is anaesthetized with ketamine 20 mg/kg and xylazine 2 mg/kg intramuscularly. In the anesthetized state, the perfusion of the heart is done by opening the chest cavity. Further observation is to the gastric in macroanatomy and then gastric organs were fixed by 10% formalin and then stain with histochemical staining (PAS). Region of Fundus of the stomach area occupies most of the region compared to the cardia and pylorus. Cardia and pyloric region are dominated by the parietal cells and mucous neck cells on the surface, but the pyloric region has begun to form *gastric pits*. Fundus region is dominated by the constituent cells such as gastric chief cells and parietal cells. Based on the results of the study, it is concluded that the distribution pattern in *Pteropus vampyrus* chief cells, parietal and mucous neck cells are different from other mammals.

Keywords: fruit bats (*Pteropus vampyrus*), stomach/gastric, AB (*Alcian blue*), PAS (*Periodic acid Schiff*)

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang kaya akan keragaman hayati, di antaranya terdapat 205 jenis kelelawar atau sekitar 21% dari semua jenis kelelawar yang ada di dunia. Pulau Timor, Nusa Tenggara Timur (NTT), memiliki populasi kelelawar cukup besar. Menurut Goodwin, (1979) pulau Timor terdapat sekitar ± 2.000 spesies kelelawar, salah satu spesies diantaranya adalah kelelawar buah (*Pteropus vampyrus*). Spesies ini

merupakan kelelawar buah terbesar diantara spesies lain yang termasuk dalam subordo Megachiroptera (Suyanto, 2001).

Lambung pada *vertebrata* khususnya mamalia adalah organ yang berkantung. Menurut Greger (1996), lambung terdiri dari daerah kardial, fundus, dan pilorus. Secara makroskopik lambung memiliki *curvature mayor* dan *curvature minor*. Lambung *P. vampyrus* yang diwarnai

Hematoxylin Eosin tersusun atas tunika mukosa, tunika submukosa, tunika muskularis, dan tunika serosa. Daerah kardia memiliki sel permukaan, sel parietal dan sel prinsipal. Daerah fundus merupakan bagian tengah dari lambung yang memiliki sel parietal dan sel prinsipal (Selan, 2013).

Salah satu cara mengetahui distribusi sel - sel kelenjar penyusun suatu organ, dapat dilakukan dengan pewarnaan histokimia. Pewarnaan histokimia *Periodic acid shiff* (PAS), merupakan

pewarnaan yang bertujuan mendeteksi keberadaan senyawa karbohidrat netral dan sel - sel penghasil senyawa karbohidra, senyawa ini merupakan senyawa yang tersebar di dalam jaringan tubuh, terutama ditemukan dipermukaan sel, sitoplasma, dan matriks ekstra sel. Sebagian substansi mukus merupakan komponen makromolekul karbohidrat yang ditemukan dalam bentuk polisakarida, glikoprotein, proteoglikan, dan glikolipid (Novelina *et al.*, 2010; Rahmi, 2008).

METODE PENELITIAN

Lima ekor kelelawar buah (*Pteropus vampyrus*) digunakan dalam penelitian ini. Berdasarkan Amalo (2013), kelelawar buah dianestesi dengan ketamine 20 mg/kgBB dan xylazine 2 mg/kgBB secara intramuskular. Pada keadaan terbius dalam, dilakukan perfusi jaringan dengan membuka rongga dada, saat larutan perfusi yang keluar tidak lagi mengandung darah, maka larutan perfusi diganti dengan formalin 10% yang sudah dilarutkan dalam PBS sebagai larutan fiksatif. Setelah semua jaringan terfiksasi, selanjutnya dilakukan pengamatan dan koleksi sampel organ. sampel organ difiksasi kembali dengan formalin 10%.

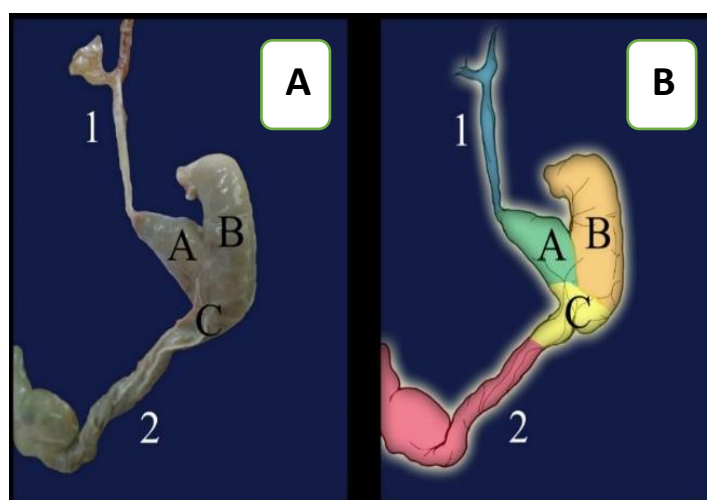
Proses pembuatan blok paraffin pada organ (lambung) dengan irisan 1cm lalu dimasukan kedalam tissue casset, biarkan pada air mengalir selama 30 menit, dehidrasi (Nzalak, 2010), melalui serangkaian tingkatan alkohol (70%, 80%, 90% dan 100%), masing - masing selama 60 menit, kemudian dibersihkan (clearing) dengan larutan xylene. Selanjutnya proses infiltrasi dalam larutan paraffin sebanyak 3 kali, pemindahan masing - masing 60 menit pada suhu 60°C. Jaringan di tanam dalam paraffin cair, kemudian dinginkan dalam suhu kamar sehingga menjadi blok paraffin.

Blok paraffin yang sudah jadi lalu disayat dengan *rotary microtome* dengan ketebalan 5µm, ditempel pada coated slide. Proses pewarnaan PAS (*Periodic acid shiff*). Deparafinisasi dengan xilol, kemudian rehidrasi dengan alkohol (100%, 90%, 80% dan 70%), selama 5 menit, biarkan dalam air mengalir selama 10 menit, kemudian bilas dengan air destilasi selama 5 menit, tetesi *periodic acid* selama 5 menit, lalu diletakan pada air yang mengalir selama 3 menit, bilas dengan PBS, tetesi *Schiff reagen* selama 15 menit, kemudian bilas dengan air yang mengalir selama 3 menit, selanjutnya bilas dengan PBS, berikan larutan *Hematoxylin* selama 2 menit, bilas dengan air yang mengalir selama 3 menit, dehidrasi dengan alkohol (70%, 80%, 90% dan 100%), dan bersihkan dengan larutan xylene, tutup dengan cover glass (Siswanti, 2001).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan lambung kelelawar buah (*Pteropus vampyrus*) setelah proses perfusi, merupakan lambung tunggal dan seluruh bagiannya adalah lambung kelenjar, terbagi atas 3 regio yaitu kardia,

fundus, dan pilorus. Secara umum lambung mamalia terdiri dari 3 daerah, yaitu regio kardia, fundus dan pilorus (Snell, 1995).



Gambar 1: Organ lambung (A) dan skematik lambung kelenjar (B), 1. Esofagus, 2. Duodenum, lambung kelenjar kelelawar buah (*Pteropus vampyrus*) terbagi atas 3 daerah: A. Kardia, B. Fundus, C. Pilorus.

Lambung *Pteropus vampyrus* memiliki regio fundus yang menempati sebagian besar daerah lambung dibandingkan regio lain. Regio kardia dan pilorus kelelawar buah hanya mengambil sebagian kecil lambung (Gambar 1). Menurut Okon (1976), lambung *Eidolon helvum* (kelelawar buah) setelah dikuakan terlihat regio fundus lebih luas dibanding regio lain. Regio fundus pada babi hanya seperempat bagian, sedangkan pada anjing dan karnivora lainnya menempati lebih dari separuh lambung, pada kuda, regio fundus merupakan bagian yang mencapai sepertiga dari keseluruhan lambung (Banks, 1986).

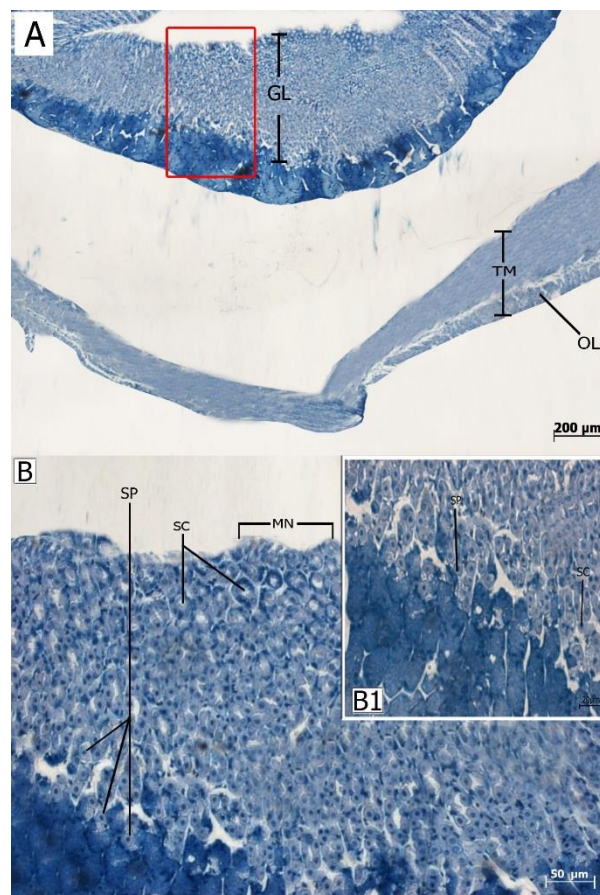
Perbedaan morfologi lambung *P. vampyrus* dengan hewan mamalia lain pada umumnya bisa terjadi karena pengaruh perilaku makan dan jenis pakan yang berkaitan dengan proses pencernaan, selain itu juga dipengaruhi oleh faktor habitat (Sahjuthi *et al.*, 1997).

Pada umumnya *Pteropus vampyrus* mempunyai kebiasaan memakan buah dan sari – sari tumbuhan, dan bergelantungan terbalik pada siang hari, setelah aktif mencari makan pada malam hari (Suyanto, 2001).

Tabel 1. Distribusi dan intensitas reaksi sel sel penyusun lambung kelenjar kelelawar buah (*Pteropus vampyrus*) terhadap pewarnaan *Periodic acid shiff* (PAS).

Sampel	Daerah kelenjar lambung		
	kardia	fundus	Pylorus
1	++	+++	++
2	++	-	-
3	+++	++	++
4	++	++	+++
5	++	+++	++

Keterangan: Tidak ada/negatif (-), rendah (+), sedang (++), tinggi (+++).

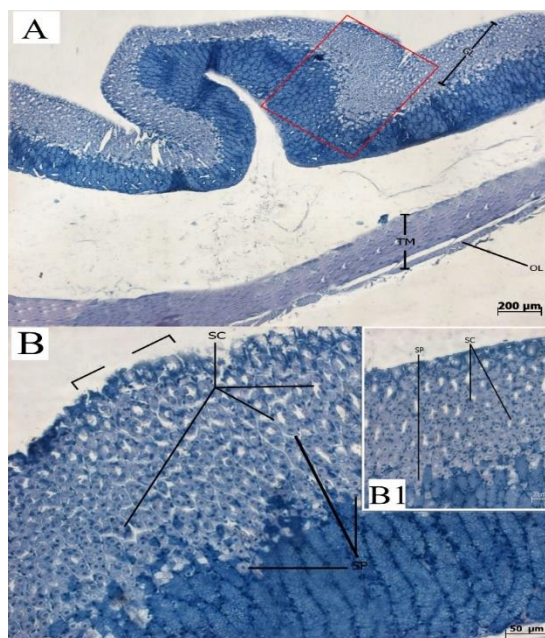


Gambar 2: Gambaran Regio kardia dengan pewarnaan histokimia PAS. A. Perbesaran 5x (Scale bar 200μm). B & B1. Perbesaran 20 dan 40x. **GL** (Gastric glands), **TM** (Tunika Muskularis), **OL** (Otot longitudinal), **SP** (Sel parietal), **SC** (Sel chief), dan **MN**(*Mucous neck cell*)Scale bar 200μm & 50μm.

Karbohidrat adalah salah satu substansi penting yang terdapat dalam setiap organ tubuh makhluk hidup. Pewarnaan histokimia PAS merupakan salah satu pewarnaan yang ditujukan untuk mendeteksi karbohidrat netral. Pada tabel 1 menunjukkan reaksi positif dari intensitas lemah hingga kuat, hal ini disebabkan adanya reaksi antara kandungan karbohidrat netral yang terdistribusi ke dalam sel – sel penyusun lambung. Menurut Danguy *et al.*, 1994 Jenis karbohidrat yang termasuk karbohidrat netral adalah glikoprotein, glikogen dan glikolipid. Menurut Prasetyo (2011), perilaku makan kelelawar buah adalah memakan buah - buahan yang matang dan kaya glukosa, substansi ini akan dikonversi menjadi ATP yang berfungsi demi menunjang aktifitas

pepsin dan HCL dari kelenjar lambung, dan berperan penting dalam struktur sel, jaringan serta proses biologis yang terjadi didalamnya, seperti transpor ion, berperan dalam pengaturan interaksi dan permeabilitas membran (Evarts *et al.*, 2004). Hal ini memberikan indikasi bahwa terdapat korelasi antara distribusi dan intensitas sel – sel penyusun lambung dengan fungsi fisiologis yang berkaitan dengan pola makan dari kelelawar buah (*Pteropus vampyrus*).

Padaregio kardial *Pteropus vampyrus* menunjukkan reaksi positif, ditandai dengan adanya perubahan warna pada inti sel – sel penyusun lambung. Regio ini tidak cukup luas dibandingkan regio fundus, dan sudah menunjukkan adanya sel - sel utama penyusun lambung (Gambar 2A). Sel *mucous neck* terletak



spesies ini baik saat terbang ataupun beristirahat pada siang hari. Glikogen yang terkandung dalam kelenjar diduga berperan penting dalam memfasilitasi

pada bagian proximal dekat lumen lambung, dan sel parietal yang mendominasi pada daerah ini. Sel chief atau biasa disebut *zymogenic*,-

Gambar 3: Gambaran Regio Fundus dengan pewarnaan histokimia PAS. A. Perbesaran 5x (Scale bar 200µm). B & B1. Perbesaran 20 dan 40x. GL (Gastric glands), TM (Tunika Muskularis), OL (Otot longitudinal), SP (Sel parietal), (Mucous neck cell). SC (Sel chief), dan Scale bar 200µm & 50µm.

Cell tidak terlihat mendominasi, namun hanya terdapat 1 atau 2 sel (Gambar 2B). Beberapa sel parietal menyisip diantara sel chief dan menyisip hingga basal dari area *gastric glands* (Gambar 2B1). Berdasarkan letak dan susunan sel penyusun region kardia, berfungsi menghasilkan HCL untuk mengaktifkan enzim pepsin menjadi pepsinogen, serta sebagai pertahanan terhadap mikroorganisme patogen yang masuk kedalam lambung bersama pakan yang dikonsumsi dengan pH yang asam.

Regio fundus menempati sebagian besar lambung, regio ini ditandai sel – sel utama yang sangat banyak (Gambar 3B). Regio fundus terdapat 3 sel utama yaitu sel chief, sel parietal dan sel *mucous neck*, namun daerah ini didominasi oleh sel chief dan sel parietal. Menurut Dellman dan Brown (1992), Sel chief merupakan sel mayoritas kelenjar lambung, berbentuk kubus atau pyramid dengan inti sel bulat dekat daerah basal (Gambar 3B & 3B1).

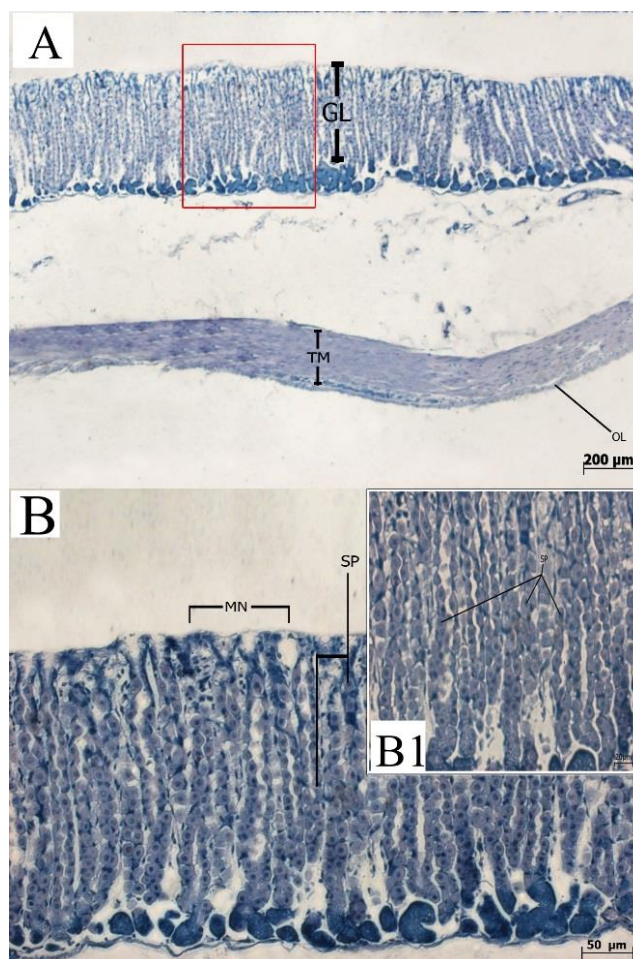
Sel *mucous neck* (Gambar 3B), terletak bagian permukaan dekat lumen. Menurut Dellman dan Brown (1992), sel *mucous neck* tampak seperti epitel permukaan. Sel ini bersifat basofil sehingga bereaksi positif jika menggunakan pewarnaan khusus, seperti pewarnaan PAS. Sel parietal (Gambar 3B) cenderung tidak berkelompok, berbentuk pyramid dengan inti bulat terletak ditengah. Sel parietal terlihat menyisip dibagian basal dari daerah *gastric glands* (Gambar 3B1), hal ini sama dengan keadaan pada regio kardia.

Regio fundus diduga berfungsi mencerna makanan yang dikonsumsi oleh spesies ini serta terjadi proses enzimatik, karena regio ini didominasi oleh sel chief sebagai penghasil enzim pencernaan. Pada

regio pilorus (Gambar 4A) menunjukkan reaksi yang sama pada dua regio lambung sebelumnya. Regio ini didominasi oleh sel parietal (Gambar 4B1). Menurut Dellman dan Brown (1992), daerah kelenjar pilorus sel – selnya bersifat *mucous* dan didominasi oleh sel parietal dibagian basal *gastric glands* (Gambar 4B).

Pada daerah pilorus terlihat sedikit sel *mucous neck* dan banyak terlihat alur *gastric pit*, hal ini disebabkan oleh peralihan antara pilorus dan duodenum (Gambar 4B & B1). Regio ini diduga memiliki peran dan fungsi yang sama dengan regio kardia sebagai penghasil HCL.

Secara histologi pada 3 regio lambung *Pteropus vampyrus* diatas memiliki perbedaan dengan mamalia lain. Pada regio kardia *Pteropus vampyrus* (Gambar 2B) dan daerah pilorus (Gambar 4B), sel parietal menyisip dibagian basal dari area *gastric glands*, dan mempunyai ±1-2 sel chief pada regio kardia. Regio pilorus tidak mempunyai sel chief, namun mulai terbentuk *gastric pit*. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Kusumatuti (2014), pada *Paradoxurus hermaphroditus* (musang luak), regio kardia didominasi oleh sel parietal dan terdapat sel chief pada bagian medial hingga proximal lumen dekat sel *mucous neck*. Berbeda dengan *Rhinolopus ferrumequinum* (kelelawar pemakan serangga) didominasi sel parietal dan daerah transisi antara kardia fundus sudah mulai terdapat sel chief (Scillitaniet *al.*, 2007). Pada gajah (*African elephant*) regio fundus sel parietal dan sel chief membentuk kelompok. Regio kardia dan pilorus memiliki perbedaan yaitu tidak mempunyai sel utama dibanding regio fundus (Aswegen *et al.*, 1994).



Gambar 4: Gambaran Regio Pylorus dengan pewarnaan histokimia PAS : A. Perbesaran 5x (Scale bar 200μm). B & B1. Perbesaran 20 dan 40x. **GL** (Gastric glands), **TM** (Tunika Muskularis), **OL** (Otot longitudinal), **SP** (Sel parietal), **SC** (Sel chief), **MN**(Mucous neck cell), dan (Gastric pit) Scale bar 200μm & 50μm

Perbedaan susunan sel penyusun lambung kelelawar buah (*pteropus vampyrus*) dengan mamalia lain, berkaitan dengan fungsi fisiologis dari sel penyusun organ tersebut. Sel parietal sebagai penghasil HCL (asam hidroklorida), menyisipnya sel tersebut hingga ke bagian basal area *gastric glands* diduga untuk menjangkau setiap sel chief yang mendominasi beberapa area kelenjar lambung seperti daerah fundus (Gambar 3B & B1). Menurut Akers dan Denbow (2008), sel parietal selalu berada dibagian medial dan sedikit dibagian basal dari setiap daerah kelenjar lambung terutama daerah fundus, yang berfungsi mensekresikan HCL dan sebagai faktor intrinsik berupa glikoprotein yang diperlukan untuk penyerapan vitamin B12 dalam usus halus. Sel parietal juga berfungsi menghancurkan dinding sel tumbuhan serta jaringan ikat dalam daging.

SIMPULAN

Lambung *Pteropus vampyrus* bereaksi positif pada pewarnaan PAS, karena mempunyai korelasi antara fungsi

dan pakan yang dimakan yaitu buah – buahan yang kaya akan kandungan karbohidrat (Glukosa).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan setinggi – tingginya kepada Fakultas Kedokteran Hewan Undana dalam memberikan kesempatan

menulis jurnal ini, serta semua staf ahli laboratorium anatomi FKH Undana yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adnyane, M. I. K., Agungpriyono, S., dan Ermansyah, L. 2007, Morfologi Kelenjar Mandibularis dan Lingualis Ayam (*Gallus sp*) dan Burung Puyuh (*Coturnix coturnix*): dengan Tinjauan Khusus pada Distribusi dan Kandungan Karbohidrat, Departemen Anatomi, Fisiologi dan Farmakologi, Fakultas kedokteran hewan, Institut Pertanian Bogor. Jl. Agatis wing 5, Lt 3 kampus IPB Darmaga Bogor 16680. Jurnal veteriner.
- Akers, R, M., dan Denbow, M, D. 2008. Anatomy and physiology of domestic animals First Edition. Blackwell publishing prof. 2121 state avenue, Ames, Iowa 50014, USA.
- Amalo, F. A. 2013, Studi Anatomi Catecholamine Mesolimbic Pathway Pada Kalong Kapauk (*Pteropus vampyrus*) Asal Pulau Timor. Program Studi Magister Sain Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta (Tesis).
- Aswegen. G. V., Schoeman. J. H., Vos. V.D., dan Noorden. S. V. 1994. The oesophagus and stomach of the African elephant: a histological, immunocytochemical and immunofluorescence study. Onderstepoort Journal of Veterinary Research, 61:223- 229.
- Banks, J. W. 1993. Applied veterinary histology 3rd edition. Mosby INC 11830 westline industrial drive, st Louis. Philadelphia London.
- Danguy, A., F. Afik., B. Pajak., dan H. J. Gabius. 1994. Contribution of carbohydrate histochemistry to glycobiology. Histol. And histopathol. 9:155-171.
- Dellman, H. D., dan Brown, E. M. 1992, Buku Teks Histologi Veteriner II. UI-Press, Salemba 4, Jakarta.

- Evarts, J. L., Rasweiler. J. J., Behninger. R. R., Hennighausen. L., dan Robinson. W. G. 2004, A Morphological and Immunohistochemical Comparison of Mammary Tissues from the Short-Tailed Fruit Bat (*Carollia perspicillata*) and the Mouse. *Biology of Reproduction*, 70(6):1573-1579.
- Goodwin, R. E. 1979. The bats of Timor. *Bulletin of the American Museum of Natural History*. Pp 75-122.

- Greger, R. 1996, Gastric Function. *Comprehensive Human Physiology*. Springer - Verlag Berlin Heidelberg. Pp 1239.
- Kusumastuti, A. 2013. Morfologi Esofagus dan Lambung Musang Luak (*Paradoxurus hermaphroditus*). Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor (skripsi).
- Novelina, S., Satyaningtjas, S. A., Agungpriyono, S., Setijanto, H., dan Sigit, K. 2010, Morfologi dan Histokimia Kelenjar Mandibularis Walet Linchi (*Collocalia linchi*) Selama Satu Musim Berbiak dan Bersarang. Bagian Anatomi, Histologi dan Embriologi, Bagian Fisiologi dan Farmakologi. Dapertemen Anatomi, Fisiologi dan Farmako, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor. Jl. Agatis, Fakultas Kedokteran Hewan IPB Wing 8 lantai 1, Kampus IPB Dramaga Bogor 16680. *Jurnal veteriner*.
- Nzalak, J. O. 2010, Gross Anatomical, Histological and Histochemical Studies of the Esophagus of the African Giant Rat (AGR) (*Cricetomys gambianus-Waterhouse*). Dept of Veterinary Anatomy, Ahmadu Bello University, Zaria, Nigeria.
- Okon, E. E. 1976. Functional Anatomy of the Alimentary Canal in the Fruit Bat, *Eidolon helvum* and the Insect Bat, *Tadarida nigeriae*. Department of Biology, University of Ife, Ile-Ife, Nigeria.
- Prasetyo, P. N., Noerfahmy, S dan Tata, H. L. 2011, Jenis-jenis Kelelawar Agroforest Sumatera. Bogor. Indonesia. World Agroforestry Centre - ICRAF, SEA Regional Office. Pp 75.
- Rahmi, E. 2008, Distribusi Glikogen Pada Lambung Monyet Ekor Panjang (*Macaca fascicularis*) Selama Periode Sebelum dan Setelah Lahir. Laboratorium Histologi fakultas kedokteran hewan universitas syiah kuala, Darussalam, Banda Aceh. *Jurnal veteriner*.
- Sahjuti, D., T.L. Yusuf, I. Mansjoer, A.R.P. Lelana, dan I.H. Suparto. 1997. Kursus singkat penanganan satwa primate sebagai hewan laboratorium. Makalah. PSSP Lembaga Penelitian IPB. Bogor.
- Scillitani, G., Zizza, S., Liquori, E. G., Ferri, D. 2007. Lectin histochemistry of gastrointestinal glycoconjugates in the greater horseshoe bat (*Rhinolophus ferrumequinum*). Dipartimento di Zoologia, Laboratorio di Istologia e Anatomia comparata, Università degli Studi di Bari, via Orabona 4/a, I-70125 Bari, Italy.
- Selan, Y. N. 2013, Morfologi dan Morfometri Saluran Pencernaan Kalong Kapauk (*Pteropus vampyrus*) Berserta Distribusi sarafnya. Program Studi Magister Sain Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta (Tesis).
- Siswanti, O. 2001, Studi Histokimia Lektin Pada distribusi Glikokonjugat Kelenjar Parotis dan Kelenjar Submandibularis Tupai (*Tupaia Glis*). Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor (skripsi).
- Snell, S. R. 1995. *Clinical Anatomy for medical students*. Perpustakaan Nasional. Jakarta EGC
- Suyanto, A. 2001, Kelelawar di Indonesia. Seri Panduan Lapangan. Bogor. Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi LIPI. PT Ghalia Indonesia.