

## Distribusi Glikoprotein pada Lambung Monyet Ekor Panjang (*Macaca fascicularis*) pada Periode Pre–Pasca Natal

[DISTRIBUTION GLYCOPROTEIN OF THE STOMACH ON LONG TAIL MACAQUE  
(*Macaca fascicularis*) AT PRE-POST NATAL PERIOD]

Erdiansyah Rahmi<sup>1)</sup>, Dondin Sajuthi<sup>2)</sup>, Srihadi Agungpriyono<sup>3)</sup> dan Erni Sulistiawati<sup>2)</sup>

<sup>1</sup>Bagian Histologi dan Embriologi, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

<sup>2</sup>Program Studi Primatologi, Sekolah Pascasarjana IPB, Pusat Studi Satwa Primata, LPPM – IPB.

<sup>3</sup>Bagian Anatomi, Fakultas Kedokteran Hewan – IPB.

<sup>4</sup>Pusat Studi Satwa Primata, LPPM-IPB

Carbohydrate is a diverse compound in the body and can be as glycoconjugate which bound to protein in proteoglycan and glycoprotein shape, and bound to lipid in glycolipid shape as well. The study was conducted to get information image of pattern distribution of the glycoprotein at stomach gland from various age levels at *Macaca fascicularis* (Mf) after and before bearing. Gastric specimen was collected processed through microtechnique procedure, followed by histochemistry Lectin staining to detect glycoprotein from stomach. Observation result of given score subjectively into four categories: (-) none/negatif, (+) low, (++) medium, and (+++) height. The results obtained were tabulated and analyzed diskriptively. We found that glycoproteins complex exist in the glandular stomach of long tailed macaques are mannose, glucose, galactose, N-acetil-D-glucosamine and N-acetil-D-galactose all of these glycoproteins complex was observed at age foetus 70 days. Glycoprotein can act as energy resource used for grouht and protections toward stomach.

**Keywords:** glycoprotein, lectin, stomach gland, *Macaca fascicularis*

### Pendahuluan

Lambung merupakan lanjutan esofagus dan perluasan pada bagian depan saluran pencernaan yang berada dalam rongga abdomen dan letaknya di bawah diafragma. Lambung secara umum berfungsi sebagai tempat penyimpanan dan penghancuran makanan. Di dalam lambung makanan akan mengalami proses pencernaan dan pencampuran dengan getah-getah lambung untuk memudahkan proses pencernaan dan penyerapan oleh sel-sel dinding usus. Lambung dan organ pencernaan lain pada manusia mulai berkembang pada bulan ke dua kehamilan berasal dari lempeng epitel endodermal, dan berkembang menjadi usus bagian depan yang mengalami dilatasi secara fusiformis di bagian proksimal pada akhir minggu keempat kehamilan dan pada saat pertumbuhan selanjutnya akan turun ke dalam rongga abdomen pada minggu ke tujuh (Jenny *et al.* 2002; Yamada 1995; Berk 1985).

Studi tentang variasi spesies dan distribusi sel epitel lambung pada beberapa primata non human telah dilakukan oleh Suzuki *et al.* (1995), dan studi tentang perkembangan kelenjar lambung monyet ekor panjang (MEP) (*Macaca fascicularis*)

pada periode pre natal dan post natal juga telah dilakukan oleh Rahmi (2005). Namun sejauh ini sebaran glikoprotein yang terdapat pada lambung yang sedang berkembang belum pernah dilaporkan, maka penelitian eksploratif yang bertujuan untuk mendapatkan informasi sebaran glikoprotein pada lambung MEP yang sedang berkembang perlu dilakukan.

Senyawa karbohidrat tersebar di dalam jaringan tubuh, terutama ditemukan dipermukaan sel, di dalam sitoplasma dan di matriks ekstra sel. Sebagian karbohidrat sel berbentuk glikokonjugat, berikatan dengan protein (dalam bentuk proteoglikan dan glikoprotein) dan berikatan dengan lemak (glikolipid). Lektin merupakan suatu protein yang memiliki afinitas spesifik terhadap residu gula dari karbohidrat. Lektin secara luas digunakan untuk melihat distribusi mukopolisakarida (glikokonjugat) pada berbagai jaringan, karena spesifitasnya dalam mengikat residu gula dan glikokonjugat (Spicer 1993). Metode histokimia lektin digunakan untuk mendeteksi ikatan glikokonjugat yang sebelumnya tidak terdeteksi oleh prosedur standar. Histokimia lektin memperlihatkan perubahan ekspresi

oligosakarida selama proses perkembangan, diferensiasi, maturasi, displasia maupun neoplasia. Distribusi glikokonjugat pada area tertentu dari sel dapat memberi dugaan yang berkaitan dengan kemungkinan fungsinya di lokasi tersebut, misalnya proteoglikan di sitoplasma pada sel utama (chief cell) lambung manusia dan tikus. Ini menandakan kemungkinan penggabungan glikoprotein bersama pepsin, atau mempengaruhi kerja pepsin baik sebelum maupun sesudah disekresikan ke lumen lambung (Jordinson *et al.* 1999; Agungpriyono 2002).

Hasil penelitian diharapkan akan memberikan suatu informasi anatomi perkembangan serta sebaran glikoprotein pada lambung yang dapat melengkapi informasi perkembangan anatomi dan fisiologi serta patologi MEP, dan informasi ini juga dapat digunakan untuk menunjang penelitian lanjutan tentang saluran pencernaan terutama yang berkaitan dengan kondisi perkembangan lambung.

## Materi dan Metode

### Tempat dan Waktu

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Patologi dan Lipida Pusat Studi Satwa Primata (PSSP), Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM) – Institut Pertanian Bogor (IPB). Proses pewarnaan jaringan dilaksanakan di Laboratorium Riset Anatomi, Fakultas Kedokteran Hewan – IPB.

### Bahan dan Alat

Hewan model penelitian berupa delapan ekor monyet ekor panjang (MEP) yang telah difiksasi dengan paraformaldehid 4% yang berasal dari karantina PSSP LPPM – IPB. dan telah memperoleh persetujuan dari Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) dengan nomor sertifikat: IACUC Project ID # 02-003-IR tanggal 27 Agustus 2002. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu spesimen organ lambung fetus MEP umur kebuntingan 55, 70, 85, 100, 120, 150 hari dan anak umur 10 hari dan tiga setengah bulan masing-masing satu ekor.

Alat-alat penelitian yang digunakan meliputi satu set perangkat pemroses jaringan, satu set *rotary microtome* standar, penangas air, pengering preparat, gelas sediaan, gelas penutup, inkubator, satu set botol proses pewarnaan, mikroskop

cahaya, mikroskop yang dilengkapi peralatan mikrofotografi.

Bahan kimia yang digunakan meliputi larutan alkohol dengan konsentrasi bertingkat (70, 80, 90, 95, dan absolute), larutan xilol, larutan pewarna : satu set larutan pewarna histokimia lektin, parafin dengan titik lebur 55-58 °C (Shandon) dan balsam Kanada/Entelan (Sigma) untuk *mounting*.

Tabel 1 Jenis dan spesifisitas lektin yang digunakan

Jenis Lektin	Spesifisitas	Dosis	
<b>Con A</b>	Concanavalin A	Man $\alpha$ , Glc $\alpha$	15 $\mu$ g/ml
<b>PNA</b>	Peanut agglutinin	Gal $\beta$ 1-3, GalNAc	10 $\mu$ g/ml
<b>PHA</b>	Phaseolus vulgaris erythroagglutinin	GalNAc	15 $\mu$ g/ml
<b>WGA</b>	Wheat germ agglutinin	(GlcNAc) <sub>n</sub> , Sialic acid	15 $\mu$ g/ml
<b>LCA</b>	Lens culinaris (Lentis) agglutinin	Man $\alpha$	15 $\mu$ g/ml
<b>RCA</b>	Ricinus communis agglutinin I	Gal, GalNAc $\alpha$	15 $\mu$ g/ml

Keterangan: Man  $\alpha$  = D - Manosa, Glc  $\alpha$  = D -Glukosa, GalNAc  $\alpha$  = D - N - Asetilgalaktosamin, GlcNAc  $\alpha$  = D - N - Asetilglukosamin, Gal = D - Galaktosa (Sumber: Kiernan 1990; Falk *et al.* 1994).

### Metode

Organ lambung diproses secara mikro teknik menjadi balok balok/kubus, selanjutnya dilakukan penyayatan dengan cara longitudinal setebal 5  $\mu$ m dengan menggunakan *rotary microtome*. Sayatan diambil untuk tiap-tiap bagian dari masing-masing sampel, selanjutnya dilakukan melalui teknik pewarnaan khusus histokimia lektin dan dievaluasi dengan melalui mikroskop cahaya terhadap *Concanavalin A* (Con A), *Peanut agglutinin* (PNA), *Phaseolus vulgaris erythroagglutinin* (PHA), *Wheat germ agglutinin* (WGA), *Lens culinaris (lentis)agglutinin* (LCA), dan *Ricinus communis agglutinin I* (RCA). Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya warna coklat kromagen DAB. Hasil distribusi dan intensitas reaksi sel-sel kelenjar lambung terhadap beberapa jenis lektin pada tiap-tiap tingkat umur akan diberi skor secara subjektif ke dalam empat kategori: (-) tidak ada/negatif, (+) rendah, (++) sedang, (+++) tinggi, berdasarkan kuat-lemahnya intensitas

reaksi dari pewarnaan tersebut pada jaringan dalam satu lapang pandang dengan 40x pembesaran. Semua hasil yang diperoleh pada pengamatan mikroskopis didokumen-tasikan dengan menggunakan mikroskop cahaya yang dilengkapi peralatan mikrofotografi.

### Analisis Hasil

Hasil pengamatan mikroskopis sampel lambung MEP dari berbagai tingkatan umur berupa data semi kuantitatif yang di dapat berdasarkan peubah yang diamati disajikan berdasarkan skor subjektif dengan kategori: (-) tidak ada/negatif, (+) rendah, (++) sedang, (+++) tinggi, berdasarkan kuat-lemahnya intensitas reaksi dari pewarnaan tersebut pada satu lapang pandang dengan 40X pembesaran dan ditabulasi untuk selanjutnya dianalisis secara diskriptif.

### Hasil dan Pembahasan

Distribusi mukopolisakarida (gliko-konjugat) pada berbagai jaringan dapat menggunakan pewarnaan lektin karena spesifitasnya dalam

mengikat residu gula dan glikokonjugat (Spicer 1993). Lektin merupakan suatu protein yang memiliki afinitas spesifik terhadap residu gula dari karbohidrat. Lektin memiliki sisi pengikat multivalent (Falk *et al.* 1994; Agungpriyono 2002). Hasil distribusi dan konsentrasi ikatan lembaga pada spesimen lambung disajikan pada Tabel 2.

Ikatan positif lektin Con A, PNA, PHA, WGA, LCA dan RCA dengan intensitas dan konsentrasi bervariasi pada daerah kelenjar lambung MEP. Lektin WGA dan RCA memberikan hasil positif yang kuat pada ke tiga daerah kelenjar, sedangkan lektin Con A, PNA, PHA, LCA memberikan hasil yang sangat bervariasi pada tiap daerah kelenjar. Hal ini menunjukkan bahwa kompleks karbohidrat (glikokonjugat) yang terdapat di dalam kelenjar lambung MEP terutama glikokonjugat yang mengandung residu gula manosa, glukosa, galaktosa, N-asetil-D-glukosamin dan N-asetil-D-galaktosamin.

Gambar 1 memperlihatkan salah satu ikatan lektin jenis WGA yang berlabel enzim peroksidase pada negatif, (+) rendah, (++) sedang, (++++)

Tabel 2 Hasil distribusi dan konsentrasi ikatan berbagai jenis lektin pada spesimen lambung.

Lektin	Bagian Lambung								
	Kardia			Fundus			Pilorus		
	EP	G	LG	EP	G	LG	EP	G	LG
Fetus umur 70 hari									
Con A	++	+	+	++	++	+	++	++	+
PNA	+++	++	-	++	+++	-	++	++	+
PHA	++	+	-	+++	+	-	++	+	+
WGA	+++	+++	+	+++	+++	++	+++	+++	++
LCA	++	+	-	++	++	+	++	++	-
RCA	+++	++	+	+++	++	++	++	++	+
Fetus umur 120 hari									
Con A	++	+	+	++	++	+	++	++	+
PNA	+++	++	-	++	+++	-	++	++	+
PHA	++	+	-	+++	+	-	++	+	+
WGA	+++	+++	+	+++	+++	++	+++	+++	++
LCA	++	+	-	++	++	+	++	++	-
RCA	+++	++	+	+++	++	++	++	++	+
Anak umur 105 hari									
Con A	+++	++	+	++	++	++	++	+	-
PNA	++	+	+	++	++	+	+++	+	-
PHA	+	-	-	+++	++	+	++	+	-
WGA	++	+++	+	+++	+++	++	++	+++	++
LCA	++	+	+	++	++	+	++	+	-
RCA	++	++	+	+++	++	+	++	++	-

Keterangan : EP: Epitel permukaan, G : Kelenjar, LG : Lumen kelenjar, (-) negatif, (+) rendah, (++) sedang, (++++) tinggi.

tinggi, kelenjar lambung. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya warna coklat dari kromogen DAB.

Dari Gambar 1 dapat dilihat distribusi dan konsentrasi ikatan lektin jenis WGA yang menginterpretasikan kandungan glikokonjugat dengan residu gula D-N-Asetilglukosamin yang tersebar pada epitel permukaan, kelenjar, dan lumen kelenjar dengan konsentrasi ikatan yang bervariasi pada ketiga daerah kelenjar. Sebagian karbohidrat sel berbentuk glikokonjugat, berikatan dengan protein (dalam bentuk proteoglikan dan glikoprotein) dan berikatan dengan lemak (glikolipid). Dengan demikian diketahui bahwa sebaran karbohidrat dan aktivitas sel-sel kelenjar lambung pada lambung MEP, terdeteksi mulai fetus umur 55 hari.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa glikokonjugat berperan penting dalam struktur sel dan jaringan serta proses biologis yang terjadi didalamnya. Menurut Spicer dan Schulte (1992), serta Blackmore dan Eisoldt (1999), glikokonjugat yang mengandung residu gula glukosa dan manosa berperan dalam transport ion. Glikokonjugat dengan residu gula N-asetil-D-glukosamin berperan dalam pengaturan interaksi dan permeabilitas membran (Blackmore dan Eisoldt 1999; Töpfer-Peterson 1999), sedangkan yang mengandung residu gula N-asetil-D-galaktosamin berperan dalam transport cairan dan ion (Spicer dan Schulte 1992). Adapun glikokonjugat dengan

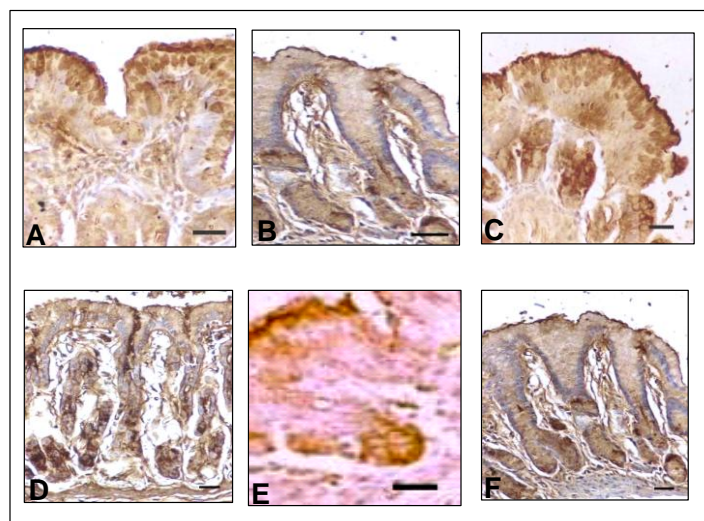
residu gula galaktosa terlibat dalam perlekatan antar sel (Spicer dan Schulte 1992; Töpfer-Peterson 1999) dan penanda dalam diferensiasi sel (Spicer dan Schulte 1992).

Evaluasi studi histokimia memperlihatkan adanya sekresi sel-sel epitel pada bagian mukosa saluran intestinal dalam jumlah kecil selama periode kehamilan, tetapi pengeluaran dalam saluran intestinal terjadi kemudian dan hanya dalam jumlah kecil sampai fetus tersebut lahir. Hal ini menunjukkan adanya aktivitas sel-sel epitel pada saluran intestinal (Carlson 1981). Dari hasil penelitian ini, pada daerah fundus perkembangan sel utama dan sel parietal mulai teramati pada fetus berumur 70 hari. Hal ini menguatkan pernyataan Tsukada *et al.* (1994) yang menyatakan bahwa sel kelenjar yang berkembang paling awal adalah mukous sel *neck* yang diikuti oleh sel *chief* dan sel parietal.

Hasil penelitian ini memberikan indikasi bahwa distribusi dan konsentrasi karbohidrat pada kelenjar lambung berkaitan dengan pertumbuhan kelenjar lambung.

### Simpulan dan Saran

Secara umum distribusi karbohidrat kompleks (glikoprotein) terdapat di dalam kelenjar, jaringan ikat dan membrana basalis lambung MEP terutama yang mengandung residu gula manosa, glukosa, galaktosa, N-asetil-D-glukosamin dan N-asetil-D-galaktosamin. Aktivitas kelenjar lambung telah



Gambar 1 Distribusi dan konsentrasi kandungan glikokonjugat dengan residu gula D-N-Asetilglukosamin (WGA) pada ketiga daerah kelenjar lambung *Mf.* Kardia fetus umur 120 hari (A) dan anak umur 105 hari (B). Fundus fetus 120 hari (C) dan anak umur 105 hari (D). Pilorus fetus umur 120 hari (E) dan anak umur 105 hari (F) (ukuran garis 20  $\mu$ m).

dimulai minimal pada usia fetus 55 hari. Distribusi dan konsentrasi glikoprotein pada kelenjar lambung berkaitan dengan pertumbuhan kelenjar lambung. Karbohidrat asam dan netral merupakan komponen utama mikopolisakarida kelenjar lambung Monyet Ekor Panjang dan kompleks karbohidrat (glikokonjugat) yang terdapat di dalam kelenjar lambung Monyet Ekor Panjang, terutama glikokonjugat yang mengandung residu gula manosa, glukosa, galaktosa, N-asetil-D-glukosamin, dan N-asetil-D-galaktosamin.

### Ucapan Terima Kasih

Terimakasih dan penghargaan setinggi-tingginya penulis sampaikan kepada Pusat Studi Satwa Primata LPPM-IPB, Dirjen Dikti Depdiknas, Direktur Lembaga Penelitian US-Namru 2 dan *Director of the American Society Primatologist* dan Bagian Anatomi FKH-IPB.

### Daftar Pustaka

- Agungpriyono S.** 2002. *Glikobiologi dan Lektin*. dalam: Modul pemanfaatan teknik kultur jaringan dalam penelitian dan terapan bidang biologi dan biomedis. Bogor. DIKTI dan Bagian Anatomi FKH IPB.
- Blackmore PF, Eisoldt S.** 1999. The neoglycoprotein mannose-bovine serum albumin, but not progesterone, activates T-type calcium channels in human spermatozoa. *Mol Hum Repro* 5: 498-506.
- Berk JE.** 1985. Embriology and Anomalies of the Intestine In: Bockus Gastroenterology. Vol. 3. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia. W. B. Saunders Company. Pp: 1439-1443.
- Carlson BM.** 1981. Patten's Foundations of Embriology. 4<sup>th</sup> ed. McGraw-Hill Book Company. Pp: 401-413
- Falk P, Roth KA, Gordon JI.** 1994. Lectin are sensitive tools for defining the differentiation programs of mouse gut epithelial cell lineages. *Am J Physiol* 266 (*Gastrointest Liver physiol* 29):G987-1003
- Jenny M, Roche, Uhl C, Duluc I, Guillermin V, Guillemot F, Jensen J, Kedinger M, Gradwohl G.** 2002. Neurogenin 3 is differentially required for endocrine cell fate specification in the intestinal and gastric epithelium. *The Embo J* 21:6338-6347
- Jordinson M et al.,** 1999. Gastrointestinal responses to a panel of lectins in rat maintained on total parenteral nutrition. *Am J Physiol* 266 (*Gastrointest Liver physiol* 39):G1235-1242
- Kiernan JA.** 1990. Histological & histochemical methods: Theory and practice, 2<sup>nd</sup> ed. Oxford. Pergamon Press.
- Rahmi E.** 2005. Perkembangan kelenjar lambung monyet ekor panjang (*Macaca fascicularis*) periode pre natal dan post natal. Thesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Spicer SS, Schulte BA.** 1992. Diversity of cell glycoconjugates shown histochemically: a perspective. *J Histochem Cytochem* 40:1-38
- Spicer SS.** 1993. Advantages of histochemistry for the study of cell biology. *J Histochem* 25:531-547
- Suzuki.** 1995. Distribution of Gastric Epithelium in Primates In: Comparative Physiology of the Vertebrate Digestive System. 2<sup>nd</sup> ed. Sidney. Cambridge University Press. Pp: 74 -77
- Tsukada S, Ichinose M, Tatematsu N.** 1994. Glucocorticoids inhibit the proliferation of mucosal cells and enhance the expression of a gene for pepsinogen and other markers of differentiation in the stomach mucosa. *Biochem Biophys Res Commun* 1: 9-15
- Topfer-Peterson E.** 1999. Carbohydrate-based interactions on the route of a spermatozoon to fertilization. *Human Reprod Update* 5:314-329
- Yamada T.** 1995. Growth and Development of the Gastrointestinal Tract In: Gastroenterology. Vol. 1. 2<sup>nd</sup> ed. J.B. Lippincott Company, Philadelphia. Pp: 546-569