

## STRUKTUR HISTOLOGI DAN JUMLAH SEL GOBLET PADA SEDIAAN HISTOPATOLOGIS RADANG USUS BESAR DENGAN PEWARNAAN HEMATOXYLIN-EOSIN (HE) DAN PERIODIC ACID-SCHIFF (PAS)

CHAIRANI<sup>1\*</sup>, FITRA WAHYUNI<sup>2</sup>, TOFRIZAL<sup>3</sup>, DAN SALSABILA<sup>4</sup>

<sup>1)\*4)</sup>Universitas Perintis Indonesia, <sup>2)</sup>STIKes Pekanbaru Medical Center, <sup>3)</sup>Universitas Andalas,

<sup>1)\*</sup>rani\_arizal@yahoo.com, <sup>2)</sup>fitra.wahyuni88@gmail.com, <sup>3)</sup>tofrizal@fk.unand.ac.id,

<sup>4)</sup>salsa6441@gmail.com

**Abstract:** Goblet cells and the mucus they produce serve as an important barrier to prevent pathogens invading the mucosal tissue that can cause inflammation. In the inflamed tissue, will have changed in the structure and number of goblet cells. Hematoxylin-Eosin (HE) staining is a standard stain used to examine the histological structure of tissues while Periodic Acid-Schiff (PAS) is a histological stain other than HE that can stain carbohydrates and carbohydrate-rich macromolecules. The purpose of this study was to observe differences in the structure and number of goblet cells in the inflammatory colon using HE and PAS staining. This study used 27 samples of paraffin block of rat colon tissue which were divided into three groups, namely the normal group, acute intestinal inflammation, and chronic intestinal inflammation. The tissue samples were then stained with HE and PAS staining techniques. In this study, statistical analysis of an independent t-test and Mann-Whitney test was used to observe differences in the number of goblet cells in inflammatory colon tissue using HE and PAS staining in each group. This study concludes that the number of goblet cells that can be observed in inflammatory colon tissue using HE and PAS staining is significantly different with a p-value <0.05 where the average number of goblet cells using PAS staining is higher than using HE.

**Keywords:** goblet cells, inflammatory colon, Hematoxylin-Eosin, Periodic Acid-Schiff.

**Abstrak:** Sel goblet dan mukus yang diproduksinya berperan sebagai barrier penting untuk mencegah masuknya patogen ke jaringan mukosa yang dapat menyebabkan peradangan. Pada jaringan yang mengalami peradangan akan terjadi perubahan pada struktur dan jumlah sel gobletnya. Pewarnaan Hematoxylin-Eosin (HE) merupakan pewarnaan standar yang digunakan untuk pemeriksaan struktur histologi jaringan sedangkan Periodic Acid-Schiff (PAS) merupakan pewarnaan selain HE yang dapat mewarnai karbohidrat dan makromolekul yang mengandung karbohidrat. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengamati perbedaan struktur dan jumlah sel goblet pada radang usus besar dengan menggunakan pewarnaan HE dan PAS. Penelitian ini menggunakan 27 sampel blok paraffin jaringan usus besar tikus yang dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu kelompok normal, peradangan usus kronis dan peradangan usus akut. Sampel jaringan tersebut kemudian diwarnai dengan teknik pewarnaan HE dan PAS. Pada penelitian ini menggunakan analisis statistik uji t independen dan mann-whitney untuk mengamati perbedaan jumlah sel goblet pada jaringan radang usus menggunakan pewarnaan HE dan PAS pada masing-masing kelompok. Kesimpulan pada penelitian ini adalah jumlah sel goblet yang dapat diamati pada jaringan radang usus menggunakan pewarnaan HE dan PAS berbeda signifikan dengan nilai p<0,05 dimana rata-rata jumlah sel goblet menggunakan pewarnaan PAS lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan HE.

**Kata Kunci:** sel goblet, radang usus besar, Hematoxylin-Eosin, Periodic Acid-Schiff

### A. Pendahuluan

Saluran usus diperlukan untuk mengontrol pencernaan nutrient dan penyerapan dan juga berfungsi sebagai barrier untuk mencegah antigen asing dan patogen memasuki jaringan mukosa sehingga homeostasis usus dapat dipertahankan. Sistem barrier pada usus tergantung pada interaksi antara beberapa komponen barrier, termasuk lapisan mukus, lapisan epitel dan ikatan antarsel dan lapisan lamina propia [1,2]. Diantara komponen barrier ini, integritas mukus barrier dibentuk oleh sel-sel goblet dan sekretnya yang mempunyai peran penting

dalam mempertahankan homeostasis usus. Sel-sel goblet mensekresi musin, yang merupakan glikoprotein dengan berat molekul tinggi, musin merupakan elemen struktural utama pada lapisan mukus [3,4]. Musin adalah molekul hidropilik yang dapat berikatan dengan air untuk membentuk struktur seperti gel, struktur ini dapat menghambat kontak langsung antara enterosit dan konten intraluminal, khususnya mikroorganisme patogenik [4]. Pada kondisi terjadinya kehilangan atau merusakkan pada lapisan mukus akan mengakibatkan sejumlah besar bakteri kontak dengan sel-sel epitel, yang akan memicu respon imun host yang berlebihan [5] sehingga menyebabkan peradangan usus besar atau colitis pada mencit [6]. Peradangan usus yang diakibatkan oleh infeksi parasit [7,8], virus [9], dan bakteri [10] dapat memodifikasi produksi musin dan merubah struktur sel-sel goblet. Perubahan pada struktur jaringan atau sel dapat diamati dengan menggunakan pemeriksaan histopatologi.

Pemeriksaan histopatologi berfungsi untuk menegakkan diagnosa terhadap adanya suatu keganasan pada jaringan yang mengalami perubahan morfologi [11]. Secara histopatologi salah satu penilaian radang usus adalah dengan menilai sel goblet. Pada peradangan usus sel goblet pada dinding sel epitel menjadi berkurang sehingga mukosa usus akan terkelupas dan membentuk tukak [12]. Pada pemeriksaan histopatologi agar dapat diamati perubahan yang terjadi maka jaringan atau sel perlu diwarnai, teknik pewarnaan histopatologi yang rutin digunakan adalah *hematoxylin-eosin* (HE). Pada pewarnaan HE inti sel yang bersifat asam akan diwarnai dengan *hematoxylin* sedangkan sitoplasma yang bersifat basa akan diwarnai oleh *eosin*, sehingga visualisasi kontras antara bagian inti dan sitoplasma dari suatu sel dapat diamati dengan jelas [13]. Henwood (2017) melaporkan bahwa musin terlihat berwarna biru ketika diwarnai dengan larutan hematoxylin dengan pH tinggi [14]. Pewarnaan selain HE yang dapat digunakan untuk pemeriksaan histopatologi diantaranya Periodic Acid-Schiff (PAS), fungsi pewarnaan ini adalah mewarnai kaborhidrat ataupun makromolekul yang mengandung karbohidrat, sehingga pada pewarnaan ini, musin yang merupakan glikoprotein pada sel goblet dapat diwarnai dengan jelas [15]. Oleh karena itu peneliti tertarik untuk mengamati perbandingan struktur dan jumlah sel goblet pada peradangan usus menggunakan pewarnaan HE dan PAS.

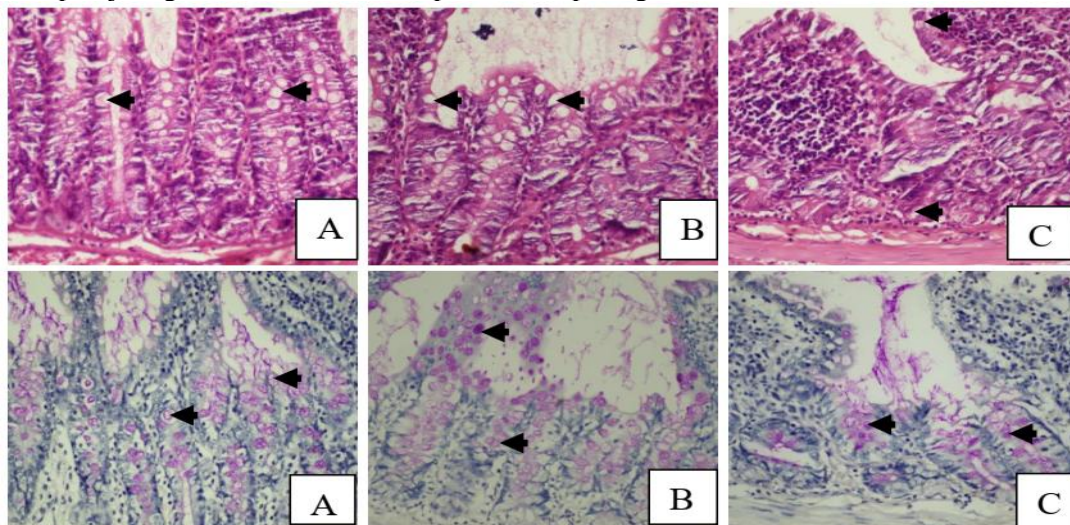
## **B. Metodologi Penelitian**

Penelitian ini menggunakan 27 sampel blok paraffin jaringan usus besar tikus. Blok paraffin dibagi menjadi tiga kelompok yaitu kelompok jaringan usus besar normal, jaringan usus besar peradangan akut dan jaringan usus besar peradangan kronis. Tiga kelompok jaringan tersebut akan diwarnai oleh dua tipe teknik pewarnaan yaitu HE dan PAS dengan anggota untuk masing-masing pewarnaan 9 preparat histologi untuk setiap kelompok sampel. Sediaan histologi usus besar yang telah ada, direhidrasi dengan alkohol 100%, 96% dan 70%, kemudian dicuci dengan air destilat. Selanjutnya diwarnai dengan hematoxylin 5-10 menit, kemudian dicuci dengan air destilat selama 3-5 menit. Kemudian diwarnai dengan Eosin 1% selama 10 menit kemudian dicuci dengan air destilat selama 1-5 menit dan setelah itu dehidrasi dengan alkohol 70%, 90% dan 100%. Kemudian ditetaskan entelan dan ditutup dengan cover glass [13]. Sediaan histologi usus besar yang telah ada, diwarnai dengan periodic acid 5 menit, lalu dicuci dengan air destilat. Setelah itu diwarnai dengan Schiff reagen selama 15 menit, lalu dicuci dengan destilated water selama 5-10 menit. Kemudian dikonterstaining dengan Hematoxylin 1 menit, lalu dicuci dengan air suling selama 5 menit. Selanjutnya dijernihkan dengan alcohol 70%, 96%, 100% secara berurutan kemudian dimasukkan kedalam xylol, ditetaskan entelan dan ditutup dengan cover glass [15]. Pada penelitian ini penilaian sel goblet yang dilakukan adalah dengan mengamati struktur dari sel goblet tersebut yang diperiksa di bawah mikroskop dengan menggunakan perbesaran 10x dan 40x. Selanjutnya dilakukan penghitungan jumlah sel goblet pada masing-masing pewarnaan untuk setiap kelompok per lampang pandang. Analisis statistik yang digunakan pada penelitian bertujuan untuk mengamati perbandingan rata-rata jumlah sel goblet pada masing-masing kelompok jaringan usus besar. Uji tersebut adalah uji t-independen jika data terdistribusi normal dan uji mann-whitney jika data tidak terdistribusi normal.

### C. Hasil dan Pembahasan

#### 1. Struktur Morfologi Sel Goblet

Struktur sel goblet setelah diwarnai dengan dua teknik pewarnaan HE dan PAS pada tiga kelompok jaringan usus besar tikus dapat diamati pada gambar berikut,



**Gambar 1.** Struktur Morfologi Sel Goblet Pewarnaan HE (Atas, A: Normal, B: Akut dan C: Kronis) dan PAS (Bawah, A: Normal, B: Akut dan C: Kronis) Perbesaran 40x.

Berdasarkan gambar 1 di atas dapat diamati mukosa dan sel goblet (tanda panah) pada masing-masing kelompok jaringan. Gambar 1 menunjukkan untuk kelompok jaringan usus besar normal sel goblet atau lapisan mukus terlihat lebih tinggi dibandingkan pada kelompok jaringan radang usus besar akut dan kronis. Sel goblet dan mukus yang disekresinya berperan dalam mencegah patogen untuk masuk ke jaringan mukosa yang akan menyebabkan peradangan, maka ketika terjadi peradangan menandakan bahwa patogen telah berhasil masuk ke jaringan mukosa dengan merusak lapisan mukus atau sel goblet. Oleh karena itu lapisan mukus pada jaringan yang mengalami peradangan akut dan kronis lebih rendah daripada jaringan normal [5,6].

Gambar 1 menunjukkan pada jaringan usus besar menggunakan teknik pewarnaan HE struktur sel goblet terlihat mempunyai sitoplasma yang jernih, sedangkan pada jaringan dengan pewarnaan PAS sitoplasma sel goblet diamati berwarna merah magenta. Adanya perbedaan warna ini dikarenakan kemampuan kedua pewarnaan ini mewarnai musin atau glikoprotein yang terdapat pada sitoplasma sel goblet. Pada pewarnaan HE jaringan usus besar akan bewarna merah muda dan inti sel bewarna ungu, sedangkan sitoplasma sel goblet yang mengandung musin atau glikoprotein tidak terwarnai sehingga sitoplasma terlihat jernih. Pewarnaan PAS sitoplasma sel goblet berwarna merah magenta karena pewarnaan ini mampu mewarnai musin atau glikoprotein pada sitoplasma tersebut [15].

#### 2. Perbandingan Jumlah Sel Goblet

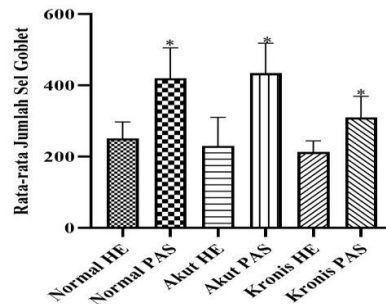
Perbandingan rata-rata jumlah sel goblet pada kelompok jaringan usus besar normal, jaringan usus besar peradangan akut dan jaringan usus besar peradangan kronis dapat diamati pada tabel 1 berikut,

**Tabel 1.** Rata-rata Jumlah Sel Goblet Pada Pewarnaan HE dan PAS

Kelompok	N	Teknik Pewarnaan		Nilai p
		HE ( $\bar{X} \pm SD$ )	PAS ( $\bar{X} \pm SD$ )	
Normal	18	251,3 ± 46,58	420,1 ± 85,40	<0,0001
Peradangan Akut	18	230,9 ± 80,08	434,8 ± 83,90	0,0008
Peradangan Kronis	18	213,1 ± 31,58	310,2 ± 59,67	<0,0001

Ket: N: Jumlah sampel, HE: *Hematoxylin-Eosin*, PAS: *Periodic Acid-Schiff*

Tabel 1 menunjukkan bahwa rata-rata jumlah sel goblet lebih tinggi pada kelompok jaringan normal dan paling rendah pada kelompok jaringan yang mengalami peradangan kronis. Perbandingan rata-rata jumlah sel goblet yang dapat dihitung pada teknik pewarnaan PAS lebih tinggi dibandingkan HE. Analisis statistik perbandingan rata-rata jumlah sel goblet pada pewarnaan HE dan PAS dapat diamati dari nilai p tabel 1 dan gambar 2 di bawah ini.



**Gambar 2.** Rata-rata Jumlah Sel Goblet Pada Pewarnaan HE dan PAS

Berdasarkan tabel 1 dan gambar 2 diamati perbandingan rata-rata jumlah sel goblet pada kelompok jaringan usus besar normal pewarnaan HE dan PAS hasil uji t independen didapatkan nilai p sebesar  $<0,0001$ . Pada kelompok jaringan usus besar peradangan akut dan kronis hasil uji mann-whitney dikarenakan distribusi data tidak normal nilai p 0,0008 dan  $<0,0001$ . Perolehan nilai p ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan untuk rata-rata jumlah sel goblet pada teknik pewarnaan HE dan PAS.

Teknik pewarnaan HE merupakan teknik pewarnaan rutin yang berfungsi untuk mengamati struktur umum dari sel atau jaringan. Pewarnaan ini menggunakan reagen hematoxylin yang bersifat basa untuk mewarnai komponen jaringan yang bersifat asam, sedangkan eosin yang mempunyai sifat asam akan mewarnai bagian sel atau jaringan yang bersifat basa [13]. Pada pewarnaan HE jaringan usus besar berwarna merah muda dan inti sel berwarna ungu, sedangkan pada sel goblet sitoplasma menjadi tidak berwarna. Hal tersebut disebabkan sitoplasma sel goblet yang mengandung musin atau glikoprotein tidak dapat diwarnai oleh HE. Pada pewarnaan PAS sitoplasma sel goblet dapat diwarnai menjadi merah magenta sehingga memudahkan menghitung jumlah sel goblet yang terdapat pada jaringan dibandingkan pada pewarnaan HE.

Teknik pewarnaan PAS merupakan pewarnaan selain HE yang dapat mewarnai karbohidrat atau makromolekul yang mengandung karbohidrat seperti musin, sehingga musin pada sitoplasma sel goblet dapat diamati berwarna merah magenta, oleh karena memudahkan menghitung jumlah sel goblet dari sel yang berukuran besar sampai sel yang berukuran kecil atau *imature*. Mekanisme pewarnaan PAS adalah reagen periodic acid akan merubah karbohidrat menjadi aldehid dan kemudian reagen Schiff mewarnai molekul aldehid yang telah teroksidasi sehingga menimbulkan warna merah magenta yang jelas pada molekul yang mengandung karbohidrat [15]. Selain menggunakan pewarnaan PAS sitoplasma sel goblet dapat juga diwarnai dengan menggunakan Lectin, Rhuthenium red dan Alcian blue, dikarenakan pewarnaan lain tersebut juga mampu mewarnai karbohidrat namun tipe karbohidrat yang diwarnai adalah acid karbohidrat. Pada lapisan mukus atau sel goblet yang mengandung musin atau glikoprotein tipe karbohidratnya adalah karbohidrat netral, oleh karena teknik pewarnaan PAS lebih cocok digunakan untuk mengamati lapisan mukus dan menghitung jumlah sel goblet.

#### D. Penutup

Kesimpulan pada penelitian ini adalah jumlah sel goblet yang dapat diamati pada jaringan radang usus menggunakan pewarnaan HE dan PAS berbeda signifikan dengan nilai  $p < 0,05$  dimana rata-rata jumlah sel goblet menggunakan pewarnaan PAS lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan HE

### Daftar Pustaka

- Cardoso-Silva D, Delbue D, Itzlinger A, et al. Intestinal barrier function in gluten-related disorders. *Nutrients*. 2019;11(10):2325. doi:10.3390/nu11102325
- Suzuki T. Regulation of the intestinal barrier by nutrients: the role of tight junctions. *Anim Sci J*. 2020;91(1):e13357. doi:10.1111/asj.13357
- Nowarski R, Jackson R, Gagliani N, et al. Epithelial IL-18 equilibrium controls barrier function in colitis. *Cell*. 2015;163(6):1444–1456. doi:10.1016/j.cell.2015.10.072
- Birchough GM, Johansson ME, Gustafsson JK, Bergstrom JH, Hansson GC. New developments in goblet cell mucus secretion and function. *Mucosal Immunol*. 2015;8(4):712–719. doi:10.1038/mi.2015.32
- Johansson ME, Hansson GC. Is the intestinal goblet cell a major immune cell? *Cell Host Microbe*. 2014;15(3):251–252. doi:10.1016/j.chom.2014.02.014
- Van der Sluis M, De Koning BA, De Bruijn AC, et al. Muc2-deficient mice spontaneously develop colitis, indicating that MUC2 is critical for colonic protection. *Gastroenterology*. 2006;131(1):117–129. doi:10.1053/j.gastro.2006.04.020
- Khan WI. Physiological changes in the gastrointestinal tract and host protective immunity: learning from the mouse-*Trichinella spiralis* model. *Parasitology*. 2008;135(6):671–682. doi:10.1017/S0031182008004381
- Hansson GC. Role of mucus layers in gut infection and inflammation. *Curr Opin Microbiol*. 2012;15(1):57–62. doi:10.1016/j.mib.2011.11.002
- Cortez V, Boyd DF, Crawford JC, et al. Astrovirus infects actively secreting goblet cells and alters the gut mucus barrier. *Nat Commun*. 2020;11(1):2097. doi:10.1038/s41467-020-15999-y
- Pian Y, Chai Q, Ren B, et al. Type 3 innate lymphoid cells direct goblet cell differentiation via the LT-LTbetaR pathway during listeria infection. *J Immunol*. 2020;205(3):853–863. doi:10.4049/jimmunol.2000197
- Angrawati, H., & Astuti, S. A. (2017). *Histologi dan Anatomi Fisiologi Manusia*. Jakarta: Indo Kemkes BPPSDM
- Grondin Jensine A., Kwon Yun Han, Far Parsa Mehraban, Haq Sabah, Khan Waliul I. Mucins in Intestinal Mucosal Defense and Inflammation: Learning From Clinical and Experimental Studies. *Frontiers in Immunology Journal Vol.11* 2020. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2020.02054>. doi: 10.3389/fimmu.2020.02054
- Mescher, A.L. 2018. *Junqueira's Basic Histology Text and Atlas*. New York: McGraw-Hill Education
- Anthony F. Henwood (2017) Hematoxylin and eosin staining of mucins of the gastrointestinal tract, *Journal of Histotechnology*, 40:1, 21-24, DOI: 10.1080/01478885.2017.1264556
- Peckham, M. (2014). *At a Glance Histologi*. Jakarta: Penerbit Erlangga