

The Histological Structure of Tegal Duck (*Anas javanicus*) Spleen at Different Age

Nabila Latifa Hafizsha¹, Hamdani Budiman², Hamny³, Dian Masyitha⁴, Cut Dahlia Iskandar⁴, Ummu Balqis², Muhammad Jalaluddin³

¹Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

³Laboratorium Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

⁴Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

E-mail: nabilahafizsha@gmail.com

ABSTRACT

*The aim of the study was to determine the histological structure of tegal duck (*Anas javanicus*) spleen according to ages variation. One month, 2 month and 3 months of tegal duck were used as the sample of this study. The spleen of each duck was analyzed by Hematoxylin-Eosin (HE) method, then observed under light microscope. The result of this study performed there were the differences of histological structure of the ducks spleen. The capsule thickness had increased along with increasing age, which was $16.0 \pm 1.0 \mu\text{m}$; $25.3 \pm 2.5 \mu\text{m}$; and $29.0 \pm 1.0 \mu\text{m}$. The boundary between the two pulp in the tegal duck 3 months old more obvious than 1 month or 2 months old. The diameter of white pulp had increased in the oldest duck. It can be concluded that the development of spleen histological structure was more perfect with the increasing age of tegal duck.*

Keywords : spleen, duck, tegal, histological

PENDAHULUAN

Itik tegal merupakan salah satu jenis itik lokal yang dikenal memiliki keunggulan produktivitasnya yang tinggi. Menurut Suharno (2003), itik merupakan salah satu komoditi unggas yang mempunyai peran cukup penting sebagai penghasil telur dan daging untuk mendukung ketersediaan hewani yang murah dan mudah didapat.

Selain itu, itik termasuk salah satu jenis ternak yang banyak dibudidayakan oleh peternak. Hal ini sesuai dengan pernyataan Dewantari (2002), yang mengatakan bahwa potensi itik di Indonesia cukup besar, terbukti dari terdapatnya jenis itik lokal yang sangat bervariasi karena pengaruh faktor genetik dan faktor lingkungan.

Itik termasuk salah satu unggas yang lebih tahan terhadap serangan penyakit. Namun demikian, itik bisa saja terserang penyakit dikarenakan menurunnya sistem pertahanan

sehingga agen penyakit mudah masuk ke dalam tubuh. Sebagai usaha untuk mencegah penyakit, tubuh itik dilengkapi oleh suatu sistem pertahanan yang diperankan oleh organ limfoid. Liman dan Bayram (2011) melaporkan bahwa organ limfoid primer terdiri dari timus dan bursa fabricius, sedangkan organ limfoid sekunder terdiri dari limpa, tonsil, *Meckel's diverticulum*, kelenjar Harderian, dan *mucosal associated lymphoid tissue* (MALT) pada saluran pencernaan dan pernafasan.

Peranan limpa dalam sistem pertahanan berkaitan dengan respon imunologi terhadap antigen yang berhasil mencapai sirkulasi darah guna menahan invasi organisme atau toksin sebelum menyebar luas. Selain itu, limpa berfungsi sebagai tempat pematangan sel penghasil antibody (Tizzard, 1982; Guyton, 1998).

Limpa itik dikelilingi oleh kapsula yang tebal dan sedikit trabekula. Pulpa merah kurang jelas dan menyebar pada pulpa putih. Pulpa

merah sendiri dibentuk oleh sinus venosus dan proses anastomose korda dari sel retikuler, makrofag, limfosit, dan sel-sel darah, sedangkan pulpa putih terdiri dari jaringan sel retikuler dan serat retikuler dimana limfosit berukuran kecil, sedang, dan besar serta sel plasma didistribusikan secara difus (Hodges, 1974; Bach, 1978; Sultana, 2011).

Beberapa spesies hewan menunjukkan adanya variasi pada struktur histologis limpa. Aughey dan Frye (2001), menyatakan bahwa limpa pada unggas memiliki suatu keunikan yang dapat membedakannya dengan mamalia. Fibromuskular pada unggas secara histologis lebih tipis dibandingkan pada mamalia. Limpa unggas hampir tidak memiliki trabekula, bahkan pada sebagian unggas trabekula tidak dapat ditemukan.

Selain faktor perbedaan spesies, Cesta (2006), melaporkan struktur histologis limpa memiliki perbedaan yang didasari oleh faktor umur. Perbedaan tersebut terutama terlihat pada sel-sel yang berperan pada sistem imun. Berdasarkan penelitian lain yang dilakukan oleh Khan dkk. (2014) dan Wolfe (1962), menjelaskan bahwa tingkatan umur mempengaruhi berat dan diameter limpa dimana semakin dewasa umur unggas, berat dan diameter limpa mengalami peningkatan.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, belum ditemukan laporan ilmiah yang membahas gambaran histologis limpa pada unggas khususnya itik berdasarkan tingkat umur yang berbeda. Oleh karena itu, penelitian ini akan mengkaji struktur histologis limpa itik tegal (*Anas javanicus*) pada tingkatan umur yang berbeda.

MATERI DAN METODE

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikrotom (Leica RM2235), *tissue basket*, *staining jar*, *slide warmer*, mikroskop cahaya (Olympus BX41) yang dilengkapi dengan alat mikrofotografi (DP12), gelas objek, kaca penutup, wadah penyimpanan organ, dan peralatan untuk bedah. Bahan yang digunakan

yaitu itik tegal, kloroform, *buffered neutral formalin* (BNF) 10%, NaCl fisiologis 0,9%, parafin, bahan untuk perwarnaan seperti alkohol bertingkat (70, 80%, 90%, dan 95%), silol, pewarna hematoksilin-eosin, akuades, dan bahan perekat Entellan®.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif yang terdiri dari struktur histologis limpa itik tegal (*Anas javanicus*) pada umur berbeda. Penelitian ini menggunakan organ limpa yang diperoleh dari 9 ekor itik tegal (*Anas javanicus*) jantan yang sehat dan dibagi ke dalam tiga kelompok umur yaitu itik berumur 1 bulan, 2 bulan, dan 3 bulan. Masing-masing kelompok umur terdiri dari 3 ekor itik.

Prosedur Penelitian

Pengambilan limpa

Itik yang digunakan sebagai sampel dipelihara terlebih dahulu dan berjumlah 9 ekor. Dari 9 ekor, itik dipelihara masing-masing 3 ekor selama 1 bulan, 2 bulan, dan 3 bulan. Semua itik sampel dianestesi menggunakan kloroform dengan cara kloroform diteteskan terlebih dahulu pada kapas kemudian dimasukkan ke dalam wadah anestesi bersamaan dengan itik yang akan dianestesi. Setelah itik teranestesi, kemudian dinekropsi dan diambil organ limpanya untuk dianalisis secara histologis.

Preparasi limpa

Setelah organ limpa dipisahkan lalu dibersihkan dari lemak dan dicuci dengan menggunakan NaCl fisiologis 0,9%, dipotong secara vertikal, dan difiksasi ke dalam BNF 10% selama 2 kali dalam 24 jam untuk selanjutnya diproses menjadi preparat histologis.

Pembuatan preparat histologis

Organ limpa yang telah difiksasi dalam larutan BNF 10% dimasukkan ke dalam *tissue basket* serta diberi label. Sampel jaringan didehidrasi dengan alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, dan 95%) dan alkohol absolut (I, II, dan III) masing-masing selama 2 jam

Selanjutnya adalah *clearing* dengan memasukkan limpa ke dalam silol I, II dan III masing-masing selama 30 menit. Setelah itu dilanjutkan dengan infiltrasi di dalam parafin I, II, III pada suhu 60°C masing-masing selama 1 jam. Kemudian limpa ditanam (*embedding*) dalam parafin dan *blocking* jaringan. Blok jaringan disayat menggunakan mikrotom dengan ketebalan 5µm dan diletakkan di gelas objek yang telah dilapisi bahan perekat.

Pewarnaan Hematoksilin-Eosin

Prosedur pewarnaan mengacu pada metode Kiernan (1990). Pewarnaan jaringan diawali dengan proses penghilangan parafin (deparafinisasi) menggunakan silol sebanyak tiga kali pengulangan, masing-masing selama 2 menit, dilanjutkan dengan pemasukan air kembali ke dalam jaringan (rehidrasi) menggunakan larutan alkohol dengan konsentrasi menurun (absolut, 95%, 90%, 80%, dan 70%), masing-masing selama 5 menit, kemudian bilas dengan akuades selama 10 menit. Selanjutnya jaringan diwarnai dengan pewarnaan hematoksilin selama 5 menit dan dibilas kembali dengan akuades selama 10

menit. Lalu jaringan diwarnai dengan pewarnaan eosin selama 2 menit dan diikuti dengan menggunakan larutan alkohol bertingkat, *clearing* dengan silol, dan diakhiri dengan penutupan *slide* jaringan dengan kaca penutup (proses *mounting*) dan menggunakan bahan perekat Entellan®.

Analisis Data

Data kuantitatif dianalisis dengan statistik sederhana (rata-rata dan standar deviasi), sedangkan data kualitatif yang diperoleh dari gambaran histologis limpa itik tegal dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa struktur histologis limpa pada itik tegal (*Anas javanicus*) terdiri dari kapsula, trabekula dan parenkima limpa yang banyak ditemukan pulpa. Selain itu, tidak ditemukan adanya korteks dan medula pada limpa itik. Hal ini sesuai dengan yang dilaporkan oleh Aughey dan Frye (2001). Hasil pengamatan terhadap struktur histologis limpa itik tegal disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Struktur histologis limpa itik tegal

Struktur histologis Limpa	Umur itik		
	1 bulan	2 bulan	3 bulan
a. Kapsula	Jaringan ikat, lapisan tipis	Jaringan ikat, lapisan lebih tebal	Jaringan ikat, lapisan tebal
b. Trabekula	Ditemukan arteri dan vena trabekularis, jumlahnya sedikit	Ditemukan arteri dan vena trabekularis, jumlahnya sedikit	Ditemukan arteri dan vena trabekularis, jumlahnya sedikit
Parenkima			
a. Pulpa putih	Pusat germinal sedikit, batas pulpa tidak jelas	Pusat germinal banyak, batas pulpa sedikit lebih jelas	Pusat germinal sedikit, batas pulpa lebih jelas
b. Pulpa merah	*	*	*

Ket : * struktur sulit diamati

Berdasarkan Tabel 1 terlihat bahwa struktur histologis limpa pada 3 kelompok umur relatif sama, kecuali pada bagian parenkimnya. Limpa dibungkus oleh kapsula yang terdiri atas jaringan ikat yang jika diamati lebih lanjut kapsula akan meluas ke dalam organ sebagai trabekula, dimana pada trabekula ditemukan arteri dan vena trabekularis yang terlihat berdampingan. Bingol dkk. (2014) melaporkan bahwa pada unggas trabekula merupakan perpanjangan dari kapsula yang masuk ke limpa dan terdiri dari jaringan ikat fibrous. Pada penelitian ini, jaringan ikat yang membentuk kapsula pada limpa itik tegal tidak dapat diketahui jenisnya karena jaringan hanya diwarnai dengan pewarnaan HE.

Pada bagian parenkima limpa terdapat pulpa putih yang mengandung pusat-pusat germinal yang jumlahnya semakin berkurang seiring pertambahan umur. Tabel 1 diketahui bahwa itik berumur 2 bulan memiliki pusat germinal dalam jumlah yang banyak dan mengalami penurunan pada itik berumur 3 bulan. Hal ini dikarenakan pembentukan pusat germinal secara intensif terjadi antara umur 5-7 minggu (Hewajuli dan Darmayanti, 2015).

Hasil penelitian ini juga menunjukkan batas antara pulpa putih dan pulpa merah yang tidak begitu jelas, tetapi seiring pertambahan umur batas antara kedua pulpa terlihat lebih jelas (Gambar 2). Hasil ini sesuai dengan Causey (2000) dan Baishya dan Bhattacharyya (2012) yang melaporkan bahwa batas antara pulpa putih dan pulpa merah tidak dapat dibedakan pada unggas seperti yang terjadi pada mamalia.

Pulpa merah memiliki warna yang lebih terang jika dibandingkan dengan pulpa putih (Gambar 2), hal ini karena pada pulpa merah banyak terdapat jaringan vaskular. Bagian ini terdapat sinus venosus, arteri, serta korda limpa yang berisi makrofag, sel plasma, limfosit, dan sel darah putih lainnya (Bingol dkk., 2014). Tabel 1 menunjukkan struktur dari pulpa merah sulit untuk diamati, hal ini diduga limpa mengalami kolaps setelah hewan mati dan banyak struktur yang tertutup akibat kompresi.

Penelitian ini juga diperoleh data morfometri dari limpa itik tegal (*Anas javanicus*) yang disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Data morfometri limpa itik tegal

Umur Itik	Parameter Penelitian				
	Ketebalan Kapsula (µm)	Jumlah Trabekula	Pulpa putih		Pulpa Merah
			Jumlah	Diameter (µm)	
1 bulan	16.0 ± 1.0	6	25	159.0 ± 4.2	*
2 bulan	25.3 ± 2.5	6	46	203.0 ± 22.8	*
3 bulan	29.0 ± 1.0	6	59	270.0 ± 33.7	*

* : tidak dapat dihitung karena struktur yang tidak begitu jelas

Data yang disajikan pada Tabel 2 di atas menunjukkan terjadinya peningkatan ketebalan kapsula, jumlah serta diameter pulpa putih. Ketebalan kapsula mengalami peningkatan seiring pertambahan umur, dimana Tischendorf (1985) melaporkan ketebalan kapsula pada limpa bebek (*Anas platyrhynchos domestica*) berkisar antara 23-40 μm . Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa limpa itik tegal memiliki kapsula yang lebih tipis.

Pada penelitian ini, trabekula yang diamati sangat jelas (Gambar 2) dan berjumlah sedikit (Tabel 2). Sultana dkk. (2011) melaporkan bahwa trabekula pada unggas kurang berkembang, bahkan pada beberapa unggas tidak ditemukan trabekula. Akan tetapi, banyak ditemukan *sheathed artery* (Gambar 3) pada limpa dimana *sheathed artery* membentuk kapiler penicillar yang disusun oleh sel-sel endotelial dan dikelilingi oleh ellipsoid atau selubung Schweigger-Seidal. Hasil ini menegaskan bahwa karakteristik khas dari limpa unggas adalah ellipsoid yang berkembang dengan baik dan dikenal sebagai selubung Schweigger-Seidal (Liman dan Bayram, 2011).

Selain ditemukan pada pulpa putih, *sheathed artery* juga ditemukan pada pulpa merah dimana diyakini bahwa selubung ellipsoid dan makrofag yang berada disekitarnya memiliki fungsi yang sama dengan zona marginal pada mamalia (Venkatesan dkk., 2005). Menurut Mebius dan Kraal (2005), zona marginal merupakan area transit yang penting bagi sel-sel yang meninggalkan aliran darah dan memasuki pulpa putih.

Perkembangan pulpa putih mengalami peningkatan, hal ini dapat dilihat melalui peningkatan jumlah dan diameternya (Tabel 2). Pulpa putih pada kelompok umur 1 bulan sudah mengalami pertumbuhan yang aktif, selanjutnya terjadi peningkatan jumlah yang cukup besar pada umur 2 bulan dan 3 bulan. Peningkatan jumlah ini diikuti dengan peningkatan diameter, dimana semakin bertambahnya umur unggas semakin besar diameter pada pulpa putih.

Hasil penelitian ini mirip dengan penelitian yang dilakukan oleh Hashimoto dan Sugimura (1977), yang melaporkan bahwa pulpa putih

pada unggas menunjukkan pertumbuhan yang aktif selama beberapa minggu setelah menetas dan mencapai pertumbuhan maksimum pada minggu ke-7. Walaupun demikian, pertumbuhan pulpa putih dapat berlangsung sepanjang kehidupan. Akan tetapi, Hewajuli dan Darmayanti (2015) melaporkan bahwa jaringan limfoid pada unggas mencapai puncaknya pada umur 10 minggu dan masih dapat terdeteksi sampai umur 21 minggu.

Hasil ini menunjukkan bahwa perkembangan unsur yang terdapat pada pulpa putih berhubungan erat dengan sistem kekebalan tubuh di limpa itik tegal (*Anas javanicus*). Baishya dan Bhattacharyya (2012) menjelaskan bahwa pada pulpa putih banyak ditemukan sel limfosit, terutama limfosit T yang berasal dari sistem limfoid primer, makrofag, sel retikuler, granulosit, eritrosit, dan *sheathed artery*.

Menurut Davison dkk. (2008), pulpa putih terdiri dari 2 daerah yang berbeda secara morfologis yaitu : (1) PALS (*Peri-arteriolar Lymphatic Sheath*) yang mengelilingi arteri sentralis dan menjadi daerah T-dependent, dan (2) PELS (*Peri-ellipsoidal Lymphatic Sheath*) yang mengelilingi kapiler penicillar, dimana Selubung Schweigger-Seidal atau ellipsoid ditemukan pada daerah ini serta menjadi daerah BF-dependent. PELS sering dianalogikan sebagai zona marginal pada mamalia.

Davison dkk. (2008) juga menambahkan bahwa pada limpa dapat terjadi 2 jenis respon imun secara efisien, baik respon imun bawaan maupun adaptif, sehingga organ ini menjadi penting untuk regulasi sistem imun. Berdasarkan lokalisasi berbagai limfosit dan sel non-limfoid, maka daerah PALS terlibat dalam kekebalan adaptif dan PELS terlibat dalam kedua respon imun.

Struktur pulpa merah sulit untuk diukur, sehingga penelitian ini hanya melakukan pengamatan penyebaran pulpa merah pada limpa itik tegal. Hasil penelitian menunjukkan penyebaran pulpa merah mengalami penurunan seiring bertambahnya umur (Gambar 2). Hashimoto dan Sugimura (1977) melaporkan bahwa pulpa merah juga mengalami pertumbuhan pesat selama beberapa minggu

setelah menetas dan pertumbuhan ini dipertahankan hingga minggu ke-11, selanjutnya terjadi penurunan penyebaran pulpa merah hingga minggu seterusnya.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa perbedaan umur pada itik tegal (*Anas javanicus*) dapat mempengaruhi struktur histologis limpa. Semakin dewasa umur unggas, semakin bertambah jumlah dan diameter pulpa putih, sedangkan pulpa merah mengalami penurunan penyebaran.

DAFTAR PUSTAKA

- Aughey, E. and F.L. Frye. 2001. **Comparative Veterinary Histology with Clinical Correlates**. Manson Publisin, London..
- Bach, J.F. 1978. **Immunology**. 5th ed. John Wiley and Sons, New York, USA.
- Baishya, G. and R. Bhattacharyya. 2012. Gross and micro-anatomy of the spleen of adult indigenous fowl of assam. **Indian Journal of Veteriner Anatomy**. 24(2): 84-86.
- Bell, D.J., and B.M. Freeman. 1971. **Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl**. Academic Press Inc, New York.
- Bingol, S.A., N.Y. Gulmez, T. Deprem, S.K. Tasci, and S. Aslan. Histologic and histometric examination of spleen in geese (*Anser anser*). **Research Article**. 9(3): 157-162.
- Causey, W.G. 2000. **Strukie's Avian Physiology**. 5th ed. Academic Press, London.
- Cesta, M.F. 2006. Normal structure, function, and histology of the spleen. **Toxicologic Pathology**. 34: 445-465. North Carolin, USA.
- Davison, F., B. Kaspers, and K.A. Schat. 2008. **Avian Immunology**. 1st Edition. Academic Press Elsevier, USA.
- Dewantari. 2002. Kelenturan Fenotipik Sifat-Sifat Reproduksi Itik Mojosari, Tegal, Dan Persilangan Tegal-Mojosari Sebagai Respon Terhadap Aflatoksin Dalam Ransum. **Disertasi**. Fakultas Peternakan, Universitas Udayana, Bali.
- Guyton, A.C. dan J.E. Hall. 1997. **Fisiologi Kedokteran**. Terjemahan dari Textbook of Medical Physiology. UI Press, Jakarta.
- Hashimoto, Y. and M. Sugimura. 1977. Histological and quantitative studies on the postnatal growth of the duck spleen. **Jap. J. vet. Res.** 25: 71-82.
- Hewajuli, D.A. dan N.L.P.I. Dharmayanti. 2015. Peran sistem kekebalan non-spesifik dan spesifik pada unggas terhadap Newcastle Disease. **Wartozoa**. 3(5): 135-146.
- Hodges, R.D. 1974. **The Histology of the Fowl**. Academic Press, New York.
- Khan, M.Z.I., M. Masum, A.R.B. Aziz, M. Nasrin, M.N.H. Siddique, and M.M.B. Arshad. 2014. Histomorphology of the lymphoid tissues of broiler chicken in Kelantan, Malaysia. **Sains Malaysiana**. 43(8): 1175-1179.
- Kiernan, J.A. 1990. **Histological and Histochemical Methods : Theory and Practice**. 2nd ed. Pergamon Press, Oxford.
- Liman, N. and G.K. Bayram. 2011. Structure of the quail (*Coturnix coturnix japonica*) spleen during pre- and post-hatching periods. **Revue Med. Vet.** 162(1): 25-33.
- Mebius, R.E. and G. Kraal. 2005. Structure and Function of the Spleen. **Reviews**. Universiteit Medical Center, Netherlands.
- Suharno, B. 2003. **Beternak Itik Secara Intensif**. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Sultana, N., M.Z.I. Khan, M.A. Wares, and M.A. Masum. 2011. Histomorphological study of the major lymphoid tissue in indigenous ducklings of Bangladesh. **Bangl. J. Vet. Med.** 9(1) : 53-58.
- Tischendorf, F. 1985. On the evolution of the spleen. **Experientia**. 41: 145-152.
- Tizard, I. 1982. **Veterinary Immunology and Introduction**. 3rd Edition. W. B. Saunders co Masduki Partodiredjo, Penerjemah. 1988. Airlangga University Press, Surabaya.
- Venkatesan, S., G. Ramesh, and C. Vijayaragavan. 2005. Age related changes in histomorphology of the spleen of the Japanese quail. **Indian Journal of Veterinary Anatomy**. 17: 19-23.
- Wolfe, H.R., S.A. Sheridan, M.N. Wilstal and M.A. Johnson. 1962. The growth of lymphoid organs and testes of chicken. **Anat. Rec.** 142:485-493