

**KARAKTERISTIK HISTOPATOLOGI HEPAR TIKUS GOT
Rattus norvegicus INFEKTIF *Leptospira sp.***

Arief Mulyono¹⁾, Ristiyanto¹⁾, Noor Soesanti H²⁾

¹Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit Salatiga

²Fakultas MIPA Jurusan Biologi Universitas Sebelas Maret Surakarta

**HISTOPATHOLOGY CHARACTERIZATION OF NORWAY RAT'S LIVER
Rattus norvegicus INFECTED BY *Leptospira sp.***

ABSTRAK.

The research on the histological structure of *Rattus tanezumi* hepar infected by *Leptospira sp.* was conducted. The purpose of this research was to determine the change of hepar tissue structure of *R. tanezumi* due to the pathogenicity of *Leptospira sp.* bacteria. The research was done in Miroto, Central Semarang District, Semarang Municipality. *R. tanezumi* were caught and their hepar were taken, then histological preparat were made using paraffin and HE coloring method. The data was collected qualitatively and then analyzed descriptively by describing histological hepar appearance of *R. tanezumi* which were infected by *Leptospira sp.* The results of *Rattus norvegicus* histological hepar examination which were infected by *Leptospira sp.* were as many as 8 individuals (72,7%). The examination results of histological hepar of *Rattus norvegicus* infected by *Leptospira sp.* show that the fat degeneration in part of hepar cell occurred in 50%. The fat degeneration in almost all hepar cell occurred in 12.5%, 12.5% infiltration of inflammation cell and fat degeneration occurred in part of hepar cell and 25% of the hepar structure were normal.

Key word : *Hepar, Leptospira sp., Rattus norvegicus, Histology*

ABSTRACT

Telah dilakukan penelitian tentang struktur histologi organ hepar tikus got, *Rattus norvegicus* infeksi *Leptospira sp.* Tujuan penelitian untuk mengetahui perubahan struktur jaringan hepar *R. norvegicus* akibat patogenitas bakteri *Leptospira sp.* Penelitian dilakukan di Kelurahan Miroto, Kecamatan Semarang Tengah, Kotamadya Semarang. *R. norvegicus* diambil heparnya dan selanjutnya dibuat sediaan histologis dengan metode parafin dan pewarnaan HE (Hematoxylin Eosin). Data yang dikumpulkan bersifat kualitatif dan dianalisis secara deskriptif yaitu mencandra gambaran histologis hepar *R. norvegicus* yang infeksi *Leptospira sp.* Hasil penangkapan menunjukkan bahwa *R. norvegicus* yang tertangkap sebanyak 11 ekor, dan 8 ekor infeksi *Leptospira sp.* (72,7%). Hasil pemeriksaan histologis hepar *R. norvegicus* yang infeksi *Leptospira sp.* menunjukkan 50% terjadi degenerasi melemak pada sebagian sel hepar, 12,25% degenerasi melemak hampir pada keseluruhan sel hati, 12,25% degenerasi melemak yang disertai dengan infiltrasi sel radang, dan 25% struktur histologi heparnya normal.

Kata kunci : *Hepar, Leptospira sp., Rattus norvegicus, Histology*

PENDAHULUAN

Leptospirosis merupakan anthroozoonosis, yaitu penyakit yang menyerang manusia dan hewan. Penyakit ini disebabkan oleh bakteri *Leptospira interrogans*. Sumber penular leptospirosis adalah urine hewan yang terinfeksi *Leptospira* dan lingkungan perairan yang sudah tercemar oleh bakteri tersebut. *R. norvegicus* dikenal sebagai reservoir penular utama yang menularkan *Leptospira* ke manusia. Beberapa serovar yang berbahaya bagi manusia dibawa oleh *R. norvegicus*, serovar tersebut diantaranya adalah: *icterohamorrhagie*, *ballum*, dan *autumnalis*. (Thierman, 1981)

Mamalia yang terinfeksi oleh *Leptospira* menunjukkan gejala klinis yang berbeda-beda. Manifestasi gejala leptospirosis dimulai dari yang sifatnya akut, sedang, ringan dan kronis. Tanda-tanda klinis sering berhubungan dengan kegagalan fungsi ginjal, hati, dan reproduksi. Secara histopatologi organ hepar dan ginjal merupakan organ yang mengalami kerusakan paling parah akibat patogenitas *Leptospira*. (Institute for International Cooperation in Animal Biologies Leptospirosis. 2005.)

Infeksi *Leptospira* yang sifatnya kronis seperti pada tikus got *Rattus norvegicus* tidak menimbulkan gejala klinis, oleh karena itu *R. norvegicus* merupakan host sejati *Leptospira*. Studi tentang infeksi *Leptospira* yang sifatnya kronis masih jarang dilakukan (Trripothy, 1976) Pada makalah ini akan dibahas histopatologi hepar tikus got, *R. norvegicus* infeksi *Leptospira sp.*

BAHAN DAN METODE

1. Lokasi/Pengambilan Sampel Tikus

Sampling tikus dilakukan di Kelurahan Miroto, Kecamatan Semarang Tengah, Kodya Semarang. Lokasi ini merupakan daerah endemis leptospirosis di Kota Semarang. Penangkapan tikus menggunakan 100 perangkap tikus (*live trap*) yang dilakukan selama 3 hari berturut-turut selama penelitian. Penangkapan tikus dilakukan dengan memasang perangkap pada sore hari mulai pukul 16.00 WIB kemudian perangkapnya diambil keesokan harinya antara pukul 06.00 – 09.00 WIB. Penangkapan di dalam rumah, digunakan 2 buah perangkap. Peletakan perangkap di dapur atau di kamar. Perangkap diletakkan di tempat yang diperkirakan sering dikunjungi tikus. Penangkapan tikus di luar rumah/kebun menggunakan 50 perangkap. Tiap area luasnya lebih kurang 10 m² dipasang 1 perangkap. Umpan yang digunakan adalah kelapa bakar yang diganti 2 hari sekali. Tikus yang tertangkap segera dimasukkan ke dalam kantong kain.

2. Pengambilan Serum Darah

Sebelum diambil darahnya tikus dianestesi terlebih dahulu menggunakan kethamine HCl dengan dosis 50-100 mg/kg berat badan. Obat anastesi tersebut diberikan secara intramuskular dengan *syringe needle* 21 G. Anestesi terjadi selama 20 – 40 menit setelah penyuntikan, dan

recovery sempurna tercapai setelah 1,5 jam. Untuk mengurangi saliva, lebih dahulu diberikan atropin (0,02-0,04 mlg/kg) secara intramuskular. Setelah tikus pingsan, kemudian kapas beralkohol 70 % dioleskan di bagian dada selanjutnya jarum suntik ditusukkan di bawah tulang rusuk sampai masuk lebih kurang 50 – 75 % panjang jarum. Posisi jarum membentuk sudut 45⁰ terhadap badan tikus yang dipegang tegak lurus, setelah posisi jarum tepat mengenai jantung, secara hati-hati darah dihisap sampai diusahkan alat suntik terisi penuh. Darah dalam alat suntik dimasukkan dalam tabung disentrifuge selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm.

3. Pemeriksaan Serologi

Pemeriksaan serologi dengan leptotek Dri-Dot dilakukan dengan mengambil serum sebanyak 10 µl menggunakan mikropipet kemudian diteteskan pada kertas Leptotek Dri Dot tepat pada lingkaran biru. Selanjutnya diratakan sampai menutupi lingkaran biru dengan menggunakan spatula dan didiamkan selama 30 detik. Interpretasi hasil test; Serum darah dinyatakan positif mengandung bakteri *Leptospira sp.* jika terjadi agglutinasi partikel pada antigen *Leptospira sp.*

4. Pembuatan Preparat Histologi Hepar

Hepar diambil segera setelah tikus mati untuk dibuat preparat

histologi. Hepar selanjutnya dicuci dengan larutan PBS dan difiksasi dengan Bouin selama 24 jam. Sampel hepar dipotong kecil dan didehidrasi di dalam seri larutan alkohol dengan konsentrasi bertingkat makin pekat (70% sampai 100%) selama 24 jam. Sampel selanjutnya dijernihkan dengan xylol selama 6 jam. Setelah proses penjernihan dilakukan embedding dengan parafin yang telah dicairkan pada 58 – 60 °C selama 6 jam. Selanjutnya blok parafin dipotong serial pada ketebalan 5 µm dengan menggunakan mikrotom. Potongan tersebut dimasukkan dalam air hangat dan dipindahkan ke atas slide kaca. Sediaan selanjutnya diwarnai dengan teknik pewarnaan Hematoxylin-Eosin. Dalam pewarnanaan sediaan setelah dihilangkan parafinnya dan xylol yang tersisa dihilangkan dengan menggunakan kertas filter dan berturut-turut dicelupkan beberapa kali ke dalam alkohol 96%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 30%, akuades, dan dimasukkan dalam Ehrlich's hematoxylin selama 3-7 detik. Proses selanjutnya sediaan dicuci dengan air mengalir selama 10 menit. Selanjutnya dicelupkan ke akuades, alkohol 30%, 50%, 60%, 70% beberapa kali celupan lalu dimasukkan dalam eosin Y 1-2% dalam alkohol 70% selama 1-2 menit. Setelah itu dicelupkan ke alkohol 70%, 80%, 90%, 96% beberapa celupan, lalu dikeringkan di antara kertas filter dan dimasukkan ke dalam xylol selama 10

menit. Selanjutnya sediaan ditetesi dengan entelan dan ditutup dengan cover glass dan diberi label. Sebagai kontrol hepar tikus yang dibuat preparat berasal dari tikus sehat.

Data hasil pemeriksaan histologis organ hepar dianalisis

secara deskriptif dengan membandingkan gambaran perubahan struktur histologi hepar antara hepar tikus got *R. norvegicus* yang positif dan yang negatif berdasarkan uji serologis.

HASIL

A. Tikus got, *R. norvegicus* yang tertangkap dan pemeriksaan serologi

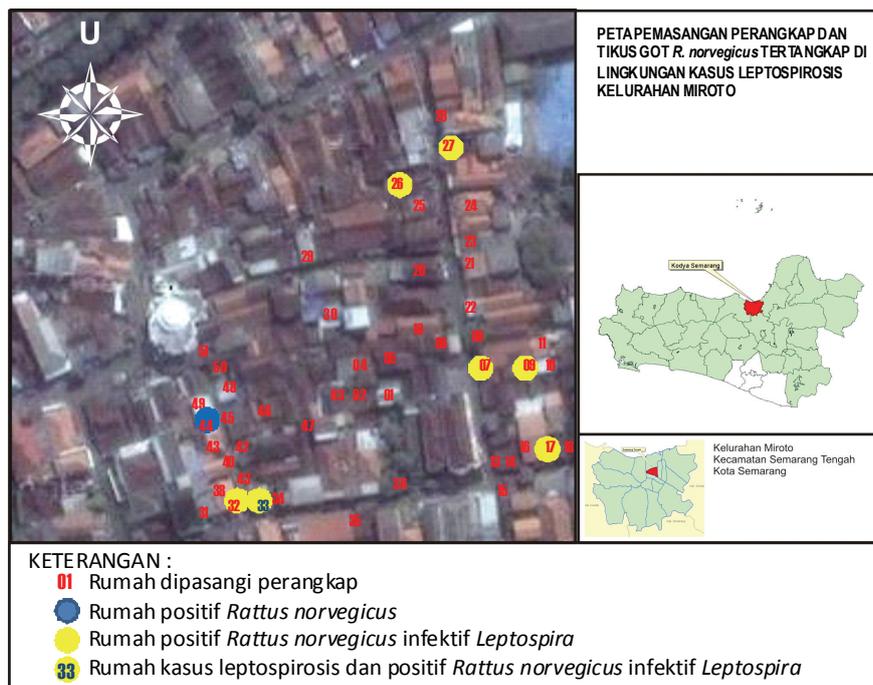
Tikus got, *R. norvegicus* yang tertangkap dan hasil pemeriksaan serologi dengan menggunakan leptotek Dri-Dot disajikan dalam tabel 1.

Tabel 1. *R. norvegicus* yang tertangkap dan hasil pemeriksaan serologi (Leptotek Dri-Dot)

Spesies	Sex	Jml tertangkap	Serologi Positif
<i>R. norvegicus</i>	Jantan	5	4
	Betina	6	4
Total		11	8

Gambar 1. Memperlihatkan peta distribusi *R. norvegicus* yang tertangkap dan lingkungan kasus leptospirosis. Pada

tahun 2006 terdapat 1 kasus leptospirosis meninggal dunia.



Gambar 1. Peta distribusi *R. norvegicus* dan kasus leptospirosis.

B. Pemeriksaan histologi hepar *R. norvegicus* infeksi *Leptospira* sp.

Tabel 2. Anatomi mikroskopis hepar *R. norvegicus* infeksi *Leptospira* sp.

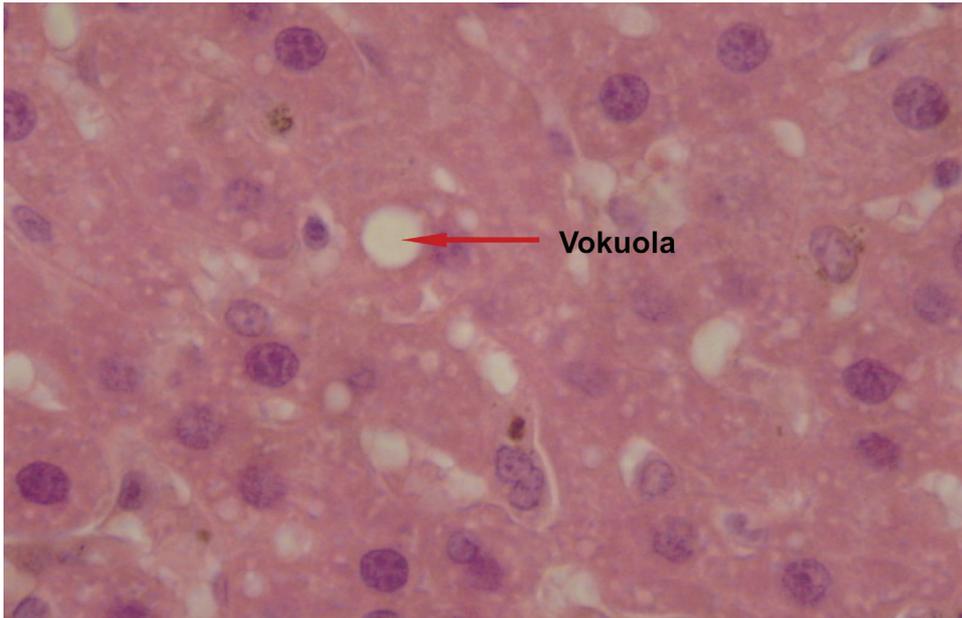
Perubahan struktur hepar	<i>R. norvegicus</i>		Prosentase
	Jantan	Betina	
Normal (tidak terjadi perubahan)	2	-	25%
Degenerasi melemak pada sebagian sel hepar	1	4	62,5%
Degenerasi melemak pada hampir keseluruhan sel hepar dan infiltrasi sel radang	-	1	12,5%

Struktur histologis hepar *R. norvegicus* yang normal ditunjukkan pada gambar 2. Pada hepatosit bisa dijumpai adanya satu inti atau beberapa inti di tengah sel. Nukleus terlihat jelas struktur dan batasnya. Permukaan tiap hepatosit berhubungan dengan sinusoid atau hepatosit lain.



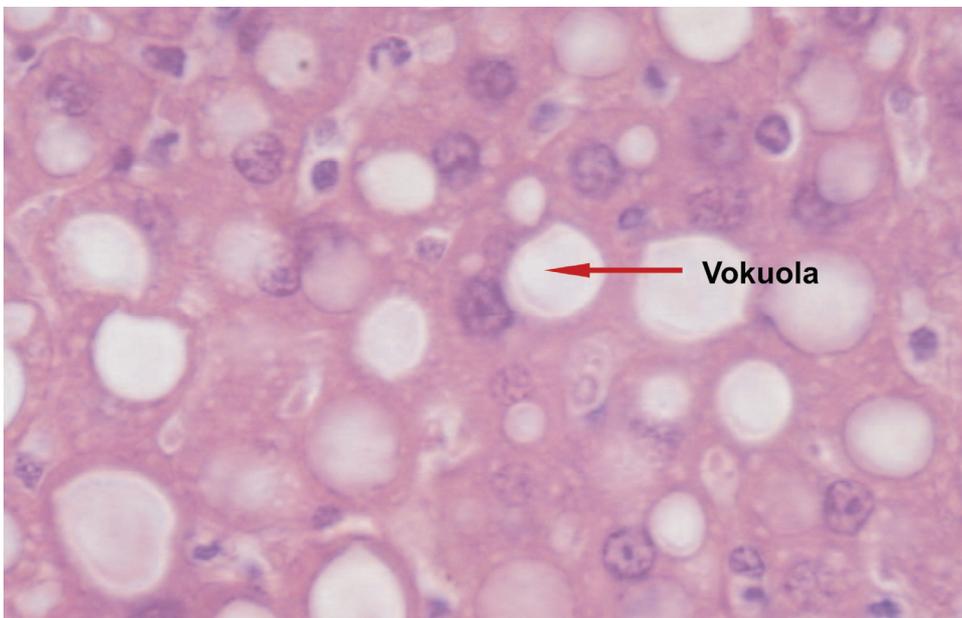
Gambar 2. Struktur histologis hepar *R. norvegicus* normal pada perbesaran 1000x.

Gambar 3 memperlihatkan struktur hepar terbentuk vakuola jernih yang histologis hepar *R. norvegicus* yang berbentuk bulat. Vakuola tersebut berisi mengalami degenerasi melemak pada lemak dan mendesak inti sel hepar ke tepi. Batasan antar sel hepar tidak jelas.

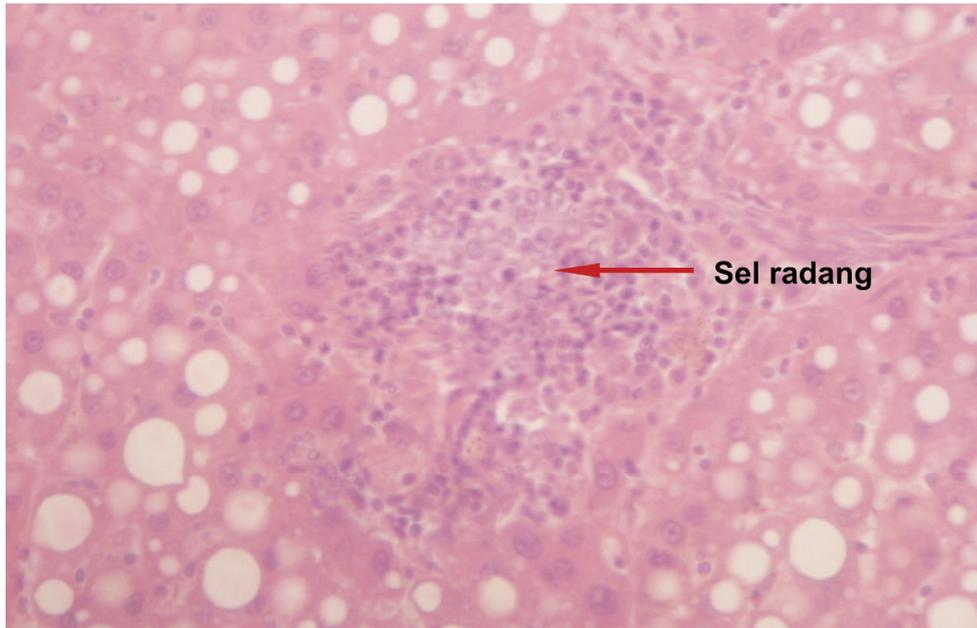


Gambar 3. Penampang melintang hepar *R. norvegicus* infeksi *Leptospira sp.* pada perbesaran 1000 x. Terjadi degenerasi melemak pada sebagian sel hepar.

Struktur histologis hepar *R. norvegicus* yang mengalami degenerasi melemak pada hampir keseluruhan sel hepar ditunjukkan gambar 4. Batas antar hepatosit tidak jelas dan jumlah vakuola lebih banyak. Adanya infiltrasi sel radang pada vena sentralis ditunjukkan gambar 5.



Gambar 4. Penampang melintang hepar *R. norvegicus* infeksi *Leptospira sp.* perbesaran 1000 x. Terjadi degenerasi melemak yang hampir mengenai seluruh sel hepar.



Gambar 5. Penampang melintang hati *R. norvegicus* infeksi *Leptospira sp.* Infiltrasi sel radang pada vena sentralis dan degenerasi melemak pada hampir keseluruhan sel hepar. Perbesaran 400 x.

PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan serologi menunjukkan bahwa *R. norvegicus* yang infeksi *Leptospira sp.* sebanyak 8 ekor dari 11 ekor 72,72%. Dari 8 ekor *R. norvegicus* yang infeksi *Leptospira sp.* menunjukkan gambaran histologis yang berbeda. Perbedaan kondisi struktur histologis hepar tersebut dimungkinkan karena tidak diketahuinya kapan tikus-tikus tersebut mulai terinfeksi oleh *Leptospira sp.*

Kerusakan yang berupa degenerasi melemak dan infiltrasi sel radang di vena sentralis diduga disebabkan oleh endotoksin yang dihasilkan oleh *Leptospira sp.* Endotoksin yang dihasilkan *Leptospira*

sp. telah menghancurkan struktur dan fungsi hepatosit, sehingga hepatosit secara fungsional kehilangan kemampuan melakukan metabolisme dan mobilisasi lemak, akibatnya terjadi penimbunan abnormal dari trigliserida dalam sel parenkim hepatosit. Sedangkan infiltrasi sel radang pada vena sentralis disebabkan oleh endotoksin yang merusak endotel. Menurut Ressang (1984) peradangan sel hepar dimulai pada vena sentralis sebagai tempat penampungan darah dari arteri hepatis dan vena porta. Akibat pembendungan ini sirkulasi darah terganggu dan menyebabkan sel hepar mengalami degenerasi hingga nekrosis karena kekurangan oksigen dan natrium. (Ressang, A.A., 1984)

Menurut Gibbon dan Skett (1991), degenerasi melemak atau steatosis adalah penimbunan abnormal dari trigliserida dalam sel parenkim. Penyebab steatosis adalah toksin, malnutrisi protein, diabetes mellitus, obesitas dan anoksia. (Gibson, G.G. and Skett, 1991)

Proses terjadinya perlemakan pada sel hepar berawal dari timbulnya inklusi kecil terikat selaput (lisosom) bertaut erat pada retikulum endoplasma dan mungkin berasal dari lisosom. Mula-mula tampak di bawah mikroskop cahaya sebagai vakuola lemak kecil dalam sitoplasma di sekitar inti. Pada proses selanjutnya, vakuola melebar membentuk ruang jernih yang mendesak inti ke tepi sel. (Robbin dan Kumar., 1995))

Kerusakan hepar yang berupa degenerasi melemak merupakan kerusakan yang bersifat reversibel atau kerusakan yang dapat kembali pulih. Pada beberapa hewan percobaan, pengambilan 80 – 90% parenkim hepar menunjukkan fungsi hepar masih normal.⁶⁾ Oleh karena itu, perubahan histologi hepar *R. norvegicus* yang berupa degenerasi melemak memungkinkan *R. norvegicus* masih dapat beraktivitas normal.

KESIMPULAN DAN SARAN

Struktur histologis hepar tikus got *R. norvegicus* infeksi *Leptospira sp.* mengalami kerusakan yang berupa degenerasi melemak dan infiltrasi sel radang. Disarankan perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang studi histopatologi pada beberapa organ tikus

got, *R. norvegicus* pasca infeksi bakteri *Leptospira interrogans*. di laboratorium.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis ucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada Kepala B2P2VRP, DR. Damar Tri Boewono, MS. Ketua PPI B2P2VRP, Dinas Kesehatan Kodya Semarang, Kepala Laboratorium Terpadu Fakultas MIPA UNS Surakarta dan semua pihak yang telah membantu penelitian ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Thiermann A.B., The Norway Rat as A Selective Chronic Carrier Of *Leptospira icterohaemorrhagiae*. Journal of Wildlife Diseases Vol. 17, No. 1, January, 1981
- Institute for International Cooperation in Animal Biologics. Leptospirosis. 2005. <http://www.cfsph.iastate.edu>.
- Tripathy, D.N. dan Hanson, L.E. Some Observations on Chronic Leptospiral Carrier State In Gerbils Experimentally Infected With *Leptospira grippotyphosa*. Journal of Wildlife Diseases Vol 12. 1976.
- Ressang, A.A. Patologi Khusus Veteriner. Fakultas Kedokteran dan Hewan dan Peternakan, UI. Jakarta. 1984.
- Gibson, G.G. and Skett. Pengantar Metabolisme Obat (diterjemahkan oleh Iia Aisyah) UI Press. Jakarta. 1991.

Robbin dan Kumar. Buku Ajar Patologi
(diterjemahkan oleh Staf
Pengajar Laboratorium Patologi
Anatomik Fakultas Kedokteran
Universitas Air Langga).
Penerbit Buku Kedokteran EGC.
Jakarta. 1995.