

Sebaran Karbohidrat pada Kelenjar Ludah Biawak Air (*Varanus salvator*)

(DISTRIBUTION OF CARBOHYDRATES IN THE SALIVARY GLANDS OF WATER MONITOR (*VARANUS SALVATOR*))

Idawati Nasution¹, Alfajri Saputra², Hamny¹,
Muhammad Jalaluddin¹, Sri Wahyuni¹

¹Laboratorium Anatomi, ²Program Studi Pendidikan Dokter Hewan,
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala
Jln. Tengku Hasan Krueng Kalee No. 4, Darussalam, Banda Aceh, Aceh 23111
E-mail : idawatinasution@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui kandungan karbohidrat kelenjar ludah (saliva) lingualis, sublingualis, dan mandibularis biawak air (*Varanus salvator*). Penelitian ini menggunakan kelenjar lingualis, sublingualis, dan mandibularis dari satu ekor biawak air jantan dewasa yang difiksasi dalam larutan paraformaldehid 4% selama empat hari. Kemudian, jaringan diproses menjadi preparat histologi dan disayat setebal 5 µm. Pewarnaan *alcian blue* (AB) pH 2,5 digunakan untuk mendeteksi karbohidrat asam dalam jaringan sedangkan pewarnaan *periodic acid Schiff* (PAS) untuk mendeteksi karbohidrat netral. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelenjar lingualis dan sublingualis bereaksi positif terhadap pewarnaan AB pH 2,5 dan PAS dengan intensitas lemah (+) sampai kuat (+++) yang tersebar pada bagian sitoplasma sel. Pada bagian sitoplasma sel kelenjar mandibularis memperlihatkan reaksi negatif (-) terhadap pewarnaan AB pH 2,5 namun bereaksi positif terhadap PAS dengan intensitas lemah (+) sampai kuat (+++). Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kelenjar lingualis dan sublingualis biawak air mengandung karbohidrat asam dan netral sedangkan kelenjar mandibularis biawak air hanya mengandung karbohidrat netral.

Kata-kata kunci: biawak air, karbohidrat asam, karbohidrat netral, kelenjar ludah

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the carbohydrate content of salivary glands lingual, sublingual, and mandibular glands of water monitor (*Varanus salvator*). This study was used the lingual glands, sublingual, and mandibular of an adult male water monitor. Salivary glands were fixed by soaking in a solution of 4% paraformaldehyde for four days. Then, the tissue was processed into routine histological preparations. Salivary gland tissue was stained with alcian blue staining (AB) pH 2.5 for detecting acidic carbohydrates and was stained with periodic acid Schiff (PAS) for detecting neutral carbohydrates. The results showed that the lingual and sublingual glands showed a positive reaction to AB pH 2.5 staining and PAS with the intensity varied from weak (+) to strong intensity (+++) scattered in the cytoplasm of the cell. In the cytoplasm of cells of the mandibular glands showed negative reaction (-) to the AB pH 2.5 staining but reacted positively to PAS with the intensity varied from weak (+) to strong (+++). Based on the result of the study it can be concluded that lingual and sublingual glands of Water monitor contain acidic and neutral carbohydrates while mandibular glands only contain neutral carbohydrates.

Key words : water monitor, acidic carbohydrates, neutral carbohydrates, salivary glands

PENDAHULUAN

Biawak air (*Varanus salvator*) merupakan salah satu spesies biawak yang terdapat di Indonesia dan tersebar di daerah ekosistem hutan dan ekosistem urban. Biawak air memilih tempat hidup yang berdekatan dengan sumber air seperti di sepanjang sungai, rawa, hutan payau, dan sekitar danau. Habitat biawak air hangat atau lembab dan kondisi lingkungan tersebut banyak terdapat di Indonesia yang beriklim tropis (Gumilang, 2001). Di Indonesia, diperkirakan ada empat spesies biawak, yaitu biawak air (*V. salvator*) tersebar di Pulau Sumatera, Pulau Jawa, Pulau Sulawesi, dan Pulau Maluku, biawak mangrove (*V. indicus*) tersebar di Papua dan benua Australia, komodo (*V. komodoensis*) ditemukan di Pulau Komodo, dan biawak merak (*V. auffmanbergi*) ditemukan di Pulau Rote (Koch dan Acciaioli, 2007).

Status biawak air di Indonesia termasuk satwa yang tidak dilindungi (Kemenhut, 1999). Di dalam *Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora* (CITES), biawak air termasuk ke dalam daftar *appendix II* yang berarti tidak terancam punah (CITES, 2013). Meskipun populasi biawak air belum terancam punah, namun jika tidak dilakukan usaha konservasi maka populasi satwa ini akan mengalami kepunahan. Hal tersebut dapat terjadi karena bagian tubuh biawak air banyak dimanfaatkan oleh manusia seperti kulit, daging, dan organ tubuh lainnya.

Organ pencernaan merupakan organ yang digunakan untuk mencerna, menyerap, serta mengeluarkan makanan yang tidak dibutuhkan lagi oleh tubuh. Selain organ pencernaan, terdapat organ asesoris yang membantu dalam proses pencernaan makanan baik secara mekanis maupun enzimatik. Kelenjar ludah merupakan salah satu organ asesoris dalam sistem pencernaan. Kelenjar tersebut menghasilkan sekreta berupa saliva yang berfungsi membantu membasahi dan melunakkan makanan yang kering, media untuk memecah dan mengencerkan bahan makanan, mempertahankan pH dalam rongga mulut, memecah karbohidrat, dan sebagai zat antibakteri (Aughey dan Frye, 2001). Salah satu unsur penting yang terkandung dalam saliva adalah senyawa glikoprotein. Adanya senyawa glikoprotein antibakteri seperti lisozim dan laktoferin menjadikan saliva sebagai pencegah masuknya bakteri ke dalam saluran pencernaan (Inoue *et al.*, 1995).

Karbohidrat kompleks yang disebut juga dengan glikokonjugat memiliki peran penting dalam berbagai proses di dalam tubuh seperti perlekatan dan komunikasi antar sel, regenerasi dan diferensiasi sel serta sebagai bahan penyusun matriks sel dan sekreta kelenjar (Goldstein *et al.*, 1977). Oleh karena itu, keterlibatan glikan sebagai molekul informasi dalam berbagai fungsi penting dalam proses biologi untuk pengembangan, diferensiasi, dan fungsi normal dari hewan sangat penting untuk dikaji.

Sebaran kandungan karbohidrat pada kelenjar saliva telah dilaporkan pada beberapa spesies hewan antara lain: burung walet linchi (Novelina *et al.*, 2010), kambing, kucing, dan babi (Adnyane, 2009), ayam pedaging (Adnyane *et al.*, 2007), kancil (Adnyane *et al.*, 2006), serta tokek (Jarrar *et al.*, 2004), tupai (Zainuddin *et al.*, 2000), ayam (Arthitvong *et al.*, 1999; Suprasert *et al.*, 2000). (Yuzawa *et al.*, 2011) telah mengkaji histokimia kelenjar saliva (kelenjar lingualis posterior) pada manusia. Sebaran karbohidrat pada kelenjar saliva biawak air sampai saat ini belum dilaporkan. Penelitian pada biawak relatif masih sedikit di antaranya Ahmed *et al.*, (2009) yang telah mengkaji histologi dan histokimia organ esophagus, lambung dan usus *V. niloticus*. Oleh karena itu, penelitian ini mengkaji sebaran karbohidrat pada kelenjar saliva biawak air (*V. salvator*).

METODE PENELITIAN

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kelenjar saliva biawak air yang meliputi kelenjar lingualis, kelenjar sublingualis, dan kelenjar mandibularis yang berasal dari satu ekor biawak air jantan dewasa. Penggunaan biawak pada penelitian ini berdasarkan izin dari Balai Konservasi Sumber Daya Alam Provinsi Aceh dengan nomor surat izin : SI. 74/BKSDA.9/2014.

Preparasi Kelenjar Saliva

Biawak air yang telah diperoleh, terlebih dahulu dikorbankan nyawanya/dieuthanasia dengan khloroform secara inhalasi. Pembedahan (laparotomi medianus) dilakukan di bagian thoraks hingga abdomen untuk mendapatkan organ jantung dan dilanjutkan dengan proses perfusi. Metode perfusi yang dilakukan adalah metode perfusi gravitasi. Proses perfusi diawali

dengan mengalirkan NaCl fisiologis 0,9% sebanyak 250 mL dari ventrikel jantung yang bertujuan untuk mengeluarkan darah dari tubuh biawak dengan cara melakukan penyayatan atrium kanan jantung. Setelah darah keluar dengan sempurna, selanjutnya dialirkan larutan fiksatif paraformaldehid 4%. Setelah proses perfusi selesai, dilakukan pembedahan untuk mengambil ketiga kelenjar saliva yaitu: kelenjar lingualis, kelenjar sublingualis, dan kelenjar mandibularis.

Pembuatan Preparat Histologi

Pembuatan preparat histologi mengacu pada Kiernan (1990) yang telah dimodifikasi. Jaringan kelenjar saliva yang telah difiksasi. Selanjutnya didehidrasi menggunakan larutan alkohol dengan konsentrasi bertingkat (70%, 80%, 90%, 95%, dan absolut). Penjernihan dengan larutan silol dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan, infiltrasi jaringan dalam parafin cair dengan tiga kali ulangan, dan dilanjutkan dengan penanaman (*embedding*) dalam parafin cair lalu dicetak menjadi blok parafin (*blocking*). Blok jaringan dipotong (*sectioning*) menggunakan mikrotom dengan tebal irisan 5 μ m dan diletakkan pada gelas objek.

Prosedur Pewarnaan Alcian Blue (AB) pH 2,5

Pewarnaan AB pH 2,5 digunakan untuk mendeteksi jenis karbohidrat asam yang terdapat pada ketiga kelenjar saliva. Prosedur pewarnaan AB pH 2,5 mengacu pada Kiernan (1990). *Slide* jaringan yang telah dideparafinisasi dengan silol dan direhidrasi dengan larutan alkohol, lalu direndam dalam larutan pewarna *alcian blue* (AB) pH 2,5 selama 2,5-30 menit dan diamati di bawah mikroskop cahaya. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya warna biru pada jaringan. Setelah itu, jaringan dicuci dengan asam asetat 3% selama lima menit untuk menghilangkan sisa-sisa AB yang tidak berikatan dengan karbohidrat asam pada jaringan. Proses selanjutnya adalah pencucian dengan akuades selama lima menit dan *counterstain* dengan larutan *hematoksilin* untuk mewarnai inti sel lalu diamati di bawah mikroskop. Tahap selanjutnya adalah dehidrasi, *clearing*, dan *mounting* menggunakan bahan perekat Entellan®.

Prosedur Pewarnaan Periodic Acid Schiff (PAS)

Pewarnaan PAS digunakan untuk mendeteksi jenis karbohidrat netral yang terdapat pada ketiga kelenjar saliva. Prosedur pewarnaan PAS mengacu pada Kiernan, (1990). Prosedur pewarnaan PAS dimulai dengan proses deparafinisasi jaringan menggunakan silol sebanyak tiga kali ulangan dan proses rehidrasi menggunakan larutan alkohol dengan konsentrasi menurun. Selanjutnya dilakukan oksidasi jaringan dalam larutan *periodic acid* 0,5% selama lima menit, diikuti pembilasan dengan akuades. Jaringan kemudian dimasukkan ke dalam larutan Schiff *reagent* selama 15 menit dan dilanjutkan dengan pembilasan dengan air sulfit selama lima menit. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya warna *magenta* (merah keungu-unguan) pada jaringan yang diperiksa. Kemudian dilakukan pembilasan dengan akuades selama lima menit dan di *counterstain* dengan hematoksilin untuk mewarnai inti sel. Prosedur terakhir adalah dehidrasi, *clearing* dan *mounting* menggunakan bahan perekat Entellan®.

Intensitas hasil pengamatan terhadap sebaran karbohidrat asam dan karbohidrat netral dilakukan berdasarkan intensitas reaksi warna yang dihasilkan pada setiap pewarnaan, yaitu : negatif (-), lemah (+), sedang (++) , dan kuat (+++). Data hasil pewarnaan AB dan PAS dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pewarnaan AB pH 2,5 menunjukkan bahwa kelenjar lingualis dan sublingualis bereaksi positif dengan intensitas reaksi lemah (+) hingga kuat (+++) yang tersebar pada bagian sitoplasma sel, sedangkan pada bagian sekreta bereaksi negatif (-) hingga bereaksi positif dengan intensitas reaksi lemah (+). Kelenjar mandibularis menunjukkan reaksi negatif terhadap pewarnaan AB pH 2,5 baik pada bagian sitoplasma sel maupun pada sekreta sel. Hasil ini menunjukkan bahwa kelenjar lingualis dan sublingualis biawak air mengandung karbohidrat asam, sedangkan kelenjar mandibularis tidak mengandung karbohidrat asam. Perbedaan jenis karbohidrat pada sekreta

yang dihasilkan oleh kelenjar lingualis dan sublingualis dengan kelenjar mandibularis diduga berkaitan dengan perbedaan peranan dari sekreta yang dihasilkan ketiga kelenjar saliva biawak air. Sebaran karbohidrat asam pada ketiga kelenjar saliva biawak air disajikan pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Kelenjar mandibularis pada beberapa spesies hewan lainnya seperti unggas (Adnyane, 2007), kambing, kucing dan babi (Adnyane, 2009) mengandung karbohidrat asam. Hal ini berbeda dengan yang ditemukan pada biawak air. Perbedaan ini diduga berkaitan dengan perbedaan pola makan dari masing-masing spesies tersebut. Karbohidrat asam memiliki peranan dalam mencegah invasi patogen, untuk melumasi (lubrikasi) makanan dan sebagai proteksi (Inoue *et al.*, 1995). Zainuddin *et al.*, (2000) menyatakan umumnya semua kelenjar mengandung karbohidrat asam, seperti heparin sulfat dan hiolluronat sulfat yang berhubungan fungsinya dalam menghasilkan sekreta, mukus, dan beberapa enzim.

Hasil pewarnaan PAS, diketahui bahwa ketiga kelenjar saliva biawak air bereaksi positif terhadap pewarnaan tersebut (Tabel 1 dan Gambar 2). Hal ini mengindikasikan kelenjar lingualis, sublingualis, dan mandibularis mengandung karbohidrat netral. Pada bagian sitoplasma sel dari ketiga kelenjar saliva bereaksi positif dengan intensitas reaksi lemah (+) hingga kuat (+++). Pada bagian sekreta sel, hanya kelenjar lingualis dan sublingualis yang memberikan reaksi negatif (-) hingga reaksi

positif dengan intensitas reaksi lemah (+), sedangkan pada bagian sekreta sel dari kelenjar mandibularis menunjukkan reaksi positif dengan intensitas reaksi lemah (+) hingga kuat (+++).

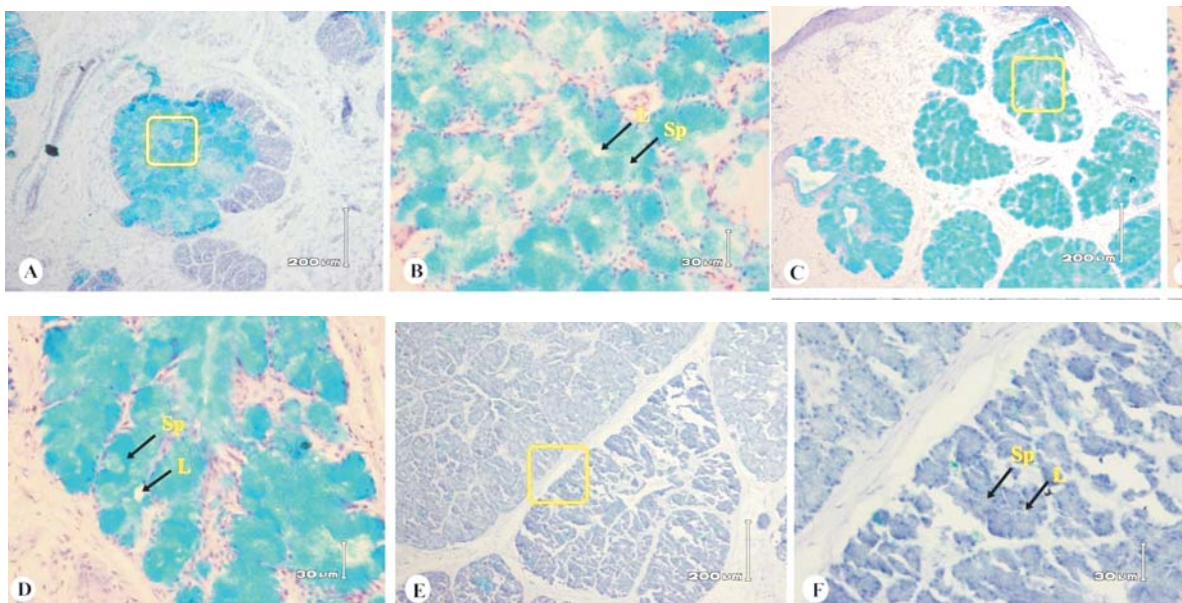
Intensitas warna yang berbeda yang diperlihatkan dari hasil pewarnaan AB dan PAS antara bagian sitoplasma sel dan sekreta menunjukkan adanya perbedaan aktivitas kedua bagian tersebut pada saat kelenjar saliva diambil. Hal ini diduga karena sekreta yang dihasilkan oleh sel-sel kelenjar masih berada di dalam sitoplasma sel dan belum dikeluarkan ke bagian lumen kelenjar untuk disekresikan. Pinkstaff (1981) menyatakan bahwa perbedaan intensitas yang diperlihatkan pada kelenjar saliva menunjukkan adanya dinamisasi dari aktivitas sel-sel kelenjar.

Kelenjar saliva menghasilkan sekreta yang mengandung sebagian besar air, elektrolit, kompleks protein dan karbohidrat. Musin yang dihasilkan oleh kelenjar saliva berfungsi untuk melumasi, melindungi mukosa mulut dari kerusakan mekanik, melindungi infeksi bakteri dan virus, dan membersihkan polutan yang berasal dari lingkungan luar yang ikut masuk bersama makanan (Wu *et al.*, 1994). Kandungan karbohidrat pada kelenjar saliva dapat berbeda, tergantung pada perbedaan jenis dan pola makan masing-masing hewan. Kelenjar saliva pada hewan dengan pola makan langsung menelan makanannya tanpa dikunyah terlebih dahulu mengandung lebih banyak mukus untuk melumasi makanannya sehingga mudah ditelan (Pinkstaff, 1981; Tandler dan Phillips, 1998).

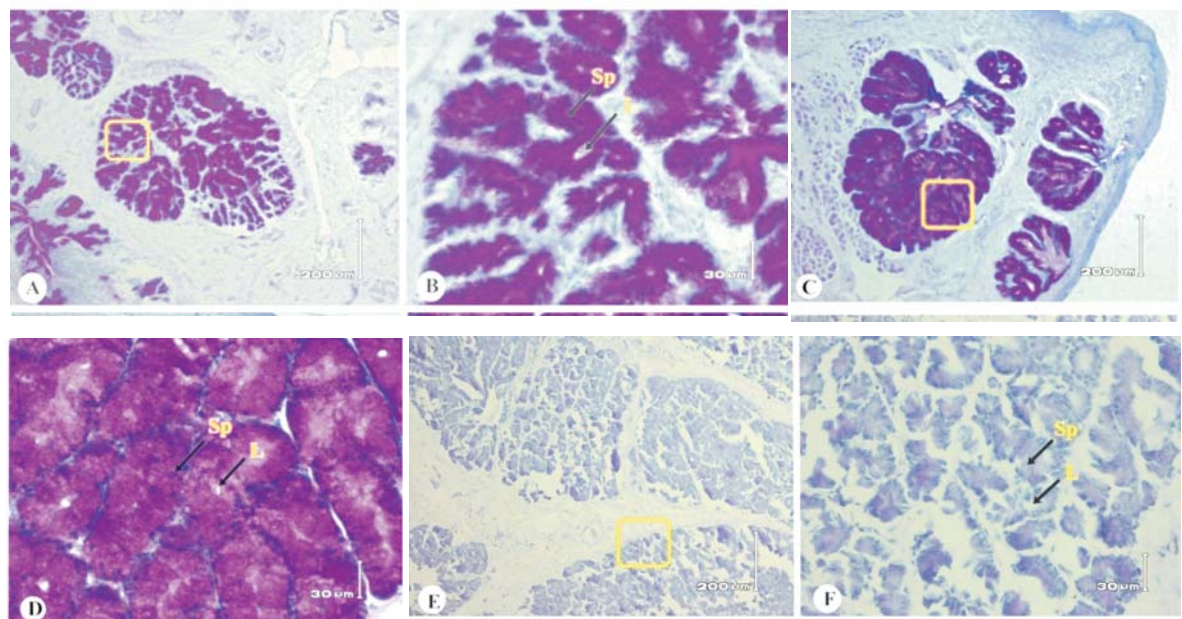
Tabel 1. Sebaran karbohidrat asam dan netral pada kelenjar lingualis, sublingualis, dan mandibularis biawak air (*Varanus salvator*)

Kelenjar	Struktur	AB pH 2,5	PAS
Lingualis	Sitoplasma sel	+ ~ +++	+ ~ +++
	Sekreta	- ~ +	- ~ +
Sublingualis	Sitoplasma sel	+ ~ +++	+ ~ +++
	Sekreta	- ~ +	- ~ +
Mandibularis	Sitoplasma sel	-	+ ~ +++
	Sekreta	-	+ ~ +++

Keterangan: reaksi negatif (-), reaksi positif dengan intensitas lemah (+), reaksi positif dengan intensitas kuat (++), dan reaksi positif dengan intensitas kuat (+++). AB : *alcian blue*, PAS : *periodic acid Schiff*



Gambar 1. Sebaran karbohidrat asam pada ketiga kelenjar saliva biawak air. Kelenjar lingualis (A dan B), Kelenjar sublingualis (C dan D), dan kelenjar mandibularis (E dan F). Reaksi positif AB pH 2,5 diplihatkan dengan warna biru pada kelenjar. Sp : sitoplasma sel, L : lumen ujung kelenjar atau duktus kelenjar. Pewarnaan AB pH 2,5 Bar A, C, dan E : 200 μ m. Bar B, D, dan F : 30 μ m.



Gambar 2. Sebaran karbohidrat netral pada ketiga kelenjar saliva biawak air. Kelenjar lingualis (A dan B), Kelenjar sublingualis (C dan D), dan kelenjar mandibularis (E dan F). Reaksi positif PAS diplihatkan dengan warna biru pada kelenjar. Sp : sitoplasma sel, L : lumen ujung kelenjar atau duktus kelenjar. Pewarnaan PAS. Bar A, C, dan E : 200 μ m. Bar B, D, dan F : 30 μ m.

SIMPULAN

Kelenjar lingualis dan sublingualis biawak air mengandung karbohidrat asam dan netral, sedangkan kelenjar mandibularis hanya mengandung karbohidrat netral. Karbohidrat asam dan netral berfungsi untuk melindungi mukosa mulut, menetralkan kuman patogen yang masuk melalui makanan dan melumasi makanan sehingga mudah ditelan oleh biawak air.

SARAN

Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai residu gula yang lebih spesifik yang terkandung dalam saliva biawak air dengan pewarnaan histokimia lektin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Balai Konservasi Sumber Daya Alam (BKSDA) Provinsi Aceh yang telah memberikan izin bagi tim peneliti untuk mempergunakan satwa biawak sebagai hewan coba dalam penelitian ini. Serta anggota tim peneliti yang turut membantu pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adnyane IKM, Wresdiyati T, Wibawan IWT, Winarto A, Agungpriyono S. 2006. The morphological study of salivary glands (parotid and mandibular glands) of the lesser mouse deer (*Tragulus javanicus*) with special reference to the distribution of glycoconjugates and lysozyme. In : *Proceedings of AZWMP*. Bangkok, Thailand : 26-29 October 2006. P 34.
- Adnyane IKM, Agungpriyono S, Ermansyah L. 2007. Morfologi kelenjar mandibula dan lingualis ayam (*Gallus Sp*) dan burung puyuh (*Cortunix Cortunix*): dengan tinjauan khusus pada distribusi dan kandungan karbohidrat. *Media Kedokteran Hewan* 23 (3): 184-191.
- Adnyane IKM. 2009. Morfologi kelenjar ludah kambing, kucing dan babi: dengan tinjauan khusus pada distribusi dan kandungan karbohidrat. *Jurnal Kedokteran Hewan* 3(2): 183-228.
- Ahmed YA, El-Hafez AAE, Zayed AE. 2009. Histological and histochemical studies on the oesophagus, stomach, and small intestines of *Varanus niloticus*. *Journal of Veterinary Anatomy* 2(1) : 35-48.
- Arthitvong S, Makmee N, Suprasert A. 1999. Histochemical detection of glycoconjugates in the anterior lingual salivary glands of domestic fowl. *J Kasetsart* 33 : 243-250.
- Aughey E, Frye FL. 2001. *Comparative Veterinary Histology*. UK: Iowa State University Press.
- [CITES] Convention of International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora. 2013. Appendices I, II, III. <http://www.cites.org/eng/app/appendices.php>. 19 November 2013.
- Goldstein IJ, Murphy LA, Ebisu S. 1977. Lectin as carbohydrate-binding protein. *Pure & Appl Chem*. 49 : 1095-1103.
- Gumilang R. 2001. Populasi dan Penyebaran Biawak Air Asia (*Varanus salvator*) di Suaka Margasatwa Pulau Rambut, Jakarta. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Inoue M, Yamada J, Kitamura N, Shimazaki K, Andren A, Yamashita T. 1995. Immunohistochemical localization of lactoferrin in bovine exocrine glands. *Tissue and Cell*. 25: 791-797.
- Jarrar BM, Taib NT. 2004. Histochemical characterization of the lingual salivary glands of the house gekko, *Ptyodactylus hasselquistii* (Squamata: Gekkonidae). *Asiatic Herpetological Research* 10 : 176-181.
- [Kemenhut] Kementerian Kehutanan. 1999. Pengawetan Jenis Tumbuhan dan Satwa. Peraturan Menteri Kehutanan Republik Indonesia. Jakarta.
- Kiernan JA. 1990. *Histological & Histochemical Methods: Theory and Practice*. 2nd Ed. Oxford: Pergamon Press. Pp 177-186.
- Koch A, Acciaioli G. 2007. The monitor twins: a bugis and makassarese tradition from Sulawesi, Indonesia. *Biawak : Quarterly Journal of Varanid Biology and Husbandry* 1(2):77-82.

- Novelina S, Satyaningtjas AS, Agungpriyono S, Setijanto H, Sigit K. 2010. Morfologi dan histokimia kelenjar mandibularis walet linchi (*Collocalia linchi*) selama satu musim berbiak dan bersarang. *Jurnal Kedokteran Hewan* 4 (1) :194-202.
- Pinkstaff CA. 1981. Histochemical characterization of salivary glands secretion in: saliva and salivation. *Adv. Physiol* 28: 141-261.
- Suprasert A, Arthivtong S, Koonjaenak S. 2000. Lectin histochemistry of glycoconjugates in mandibular gland of chicken. *J Kasetsart* 34 : 85-90.
- Tandler B, Phillips CJ. 1998. Microstructure of mammalian salivary glands and its relationship to diet. In Garrett JR, Ekstrom J, Anderson LC (eds) : Glandular mechanism of salivary secretion. *Front Oral Biol.* 10 : 21-35.
- Wu AM, Csako G, Herp A. 1994. Structure, biosynthesis, and function of salivary mucins. *Molecular and Cellular Biochemistry* 1 (137) : 39-55.
- Yuzawa H, Morikawa M, Okada H. 2011. A histological and lectin histochemical study of human posterior lingual glands. *Int J Oral-Med Sci* 10(3) : 194-199.
- Zainuddin, Nuryani, Adnyane IKM, Sari DK, Wresdiyati T, Agungpriyono S. 2000. Studi histologi dan histokimia kelenjar submandibularis dan kelenjar parotis tupai (*Tupaia glis*) dengan tinjauan khusus pada jenis dan distribusi karbohidrat. *Jurnal Primatologi Indonesia* 3(1) : 9-16.