

SEBARAN *GLYCOCONJUGATE* PADA SEL EPITEL OVIDUK KANCIL (*Tragulus javanicus*)

Distribution of Glycoconjugates on the Oviductal Epithelial Cells of the Lesser Mouse Deer (Tragulus javanicus)

Hamny¹, Srihadi Agungpriyono², Ita Djuwita², Sri Wahyuni¹, Wahono Esthi Prasetyaningtyas², Idawati Nasution¹, dan Savitri Novelina²

¹Laboratorium Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Departemen Anatomi, Fisiologi, dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Bogor

E-mail: hamnys@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui distribusi *glycoconjugate* yang terekspresi pada sel epitelium oviduk kancil (*Tragulus javanicus*). Dalam penelitian ini digunakan satu oviduk kancil yang berasal dari satu ekor kancil betina dewasa berumur lebih dari satu tahun. Sampel difiksasi dengan larutan Bouin dan diproses menurut standar histologi sampai menjadi blok parafin dan dipotong dengan ketebalan 5 µm. Jenis lektin yang digunakan adalah *biotinylated* (Con A, PNA, RCA, UEA I, dan WGA) dengan dosis masing-masing sebanyak 15 µg/ml. Hasil penelitian diketahui bahwa *glycoconjugate* dengan residu gula galaktosa, glukosa, manosa, N-asetilgalaktosamin, N-asetilglukosamin, fukosa, dan asam sialat ditemukan pada bagian apikal sel epitel dan di dalam sitoplasma. *Glycoconjugate* dengan residu gula N-asetilgalaktosamin merupakan *glycoconjugate* yang paling banyak ditemukan di bagian apikal sel epitel dan di dalam sitoplasma dibandingkan dengan *glycoconjugate* dengan residu gula lainnya.

Kata kunci: *glycoconjugate*, lektin, oviduk, kancil

ABSTRACT

This study aims to determine the distribution of glycoconjugates expressed on the oviductal epithelial cells of the lesser mouse deer (Tragulus javanicus). This study used one oviduct derived from one adult female of the lesser mouse deer (over one year old). Samples were fixed in Bouin solution and processed according to standard histology to be a paraffin block and cut with a thickness of 5 µm. Type of lectins used were biotinylated (Con A, PNA, RCA, UEA I, and WGA) with each dose of 15 µg/ml. The results showed that the glycoconjugates with galactose, glucose, manose, N-acetylgalactosamine, N-acetylglucosamine, fucose, and sialic acid sugar residue were found on apical epithelial cells and in the cytoplasm. The glycoconjugate with N-acetylgalactosamine sugar residue is most commonly found on the epithelial cells and in the cytoplasm compared with the others glycoconjugates.

Key words: *glycoconjugates*, lectin, oviduct, the lesser mouse deer

PENDAHULUAN

Keberhasilan proses fertilisasi dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya kualitas kedua sel gamet, ikatan spermatozoa dengan zona pelusida, proses kapasitas spermatozoa, dan sebagainya. Faktor lain yang dapat memengaruhi kesuksesan proses fertilisasi yaitu interaksi antara spermatozoa dengan sel-sel epitel oviduk (tuba Fallopii). Interaksi ini diperantarai oleh ikatan karbohidrat (*glycoconjugate*) yang terdapat pada bagian akrosom spermatozoa dengan *glycoconjugate* yang terdapat pada permukaan sel epitel oviduk. Ikatan tersebut merangsang terjadinya proses kapasitas spermatozoa pada saluran oviduk (Fazeli *et al.*, 1999; Petersen, 1999). Sel-sel sekretori pada bagian epitel oviduk mensekresikan *glycoconjugate* dan setiap spesies hewan memperlihatkan adanya perbedaan dari jenis *glycoconjugate* yang dihasilkan. Schmidt *et al.* (1997) menyatakan bahwa *glycoconjugate* yang disekresikan oleh sel epitel oviduk bersifat *species specific* yang dapat memperantarai ikatan antara spermatozoa dengan zona pelusida. Diduga fungsi biologi dari *glycoconjugate* sebagai kontrol dalam proses fertilisasi terutama dalam meningkatkan upaya fertilisasi *in vitro*. Dengan kata lain, *glycoconjugate*

pada sel epitel oviduk berperan dalam peristiwa prefertilisasi seperti kapasitas spermatozoa, ikatan spermatozoa dengan zona pelusida, dan proses penetrasi spermatozoa ke dalam sel telur, sehingga *glycoconjugate* dapat digunakan sebagai target imunokontrasepsi yang potensial (Verhage *et al.*, 1997a; Verhage *et al.*, 1997b).

Kancil (*Tragulus* sp.) sebagai salah satu satwa yang diduga populasinya semakin menurun, sehingga diperlukan usaha-usaha untuk meningkatkan populasi hewan ini. Salah satu usaha tersebut melalui pengumpulan data-data anatomis dan fisiologis reproduksi kancil. Data-data tersebut dapat digunakan sebagai referensi dalam proses konservasi kancil. Penelitian ini bertujuan mengetahui distribusi *glycoconjugate* yang terdapat pada lapisan epitel oviduk kancil. Dari hasil penelitian diharapkan mampu memberikan kontribusi mengenai faktor-faktor yang memengaruhi keberhasilan proses fertilisasi.

MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Histologi dan Embriologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala dan Laboratorium Anatomi

Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Dalam penelitian ini digunakan oviduk kancil yang berasal dari satu ekor kancil dewasa berumur lebih dari satu tahun. Sampel difiksasi dengan larutan Bouin dan diproses menurut standar histologis sampai menjadi blok parafin. Blok parafin dipotong dengan ketebalan 5 µm menggunakan mikrotom, dilekatkan pada gelas obyek dan diinkubasi semalam dalam inkubator 37° C. Untuk mengetahui residu gula dilakukan dengan metode histokimia lektin (Kiernan, 1990) menggunakan *biotinylated* (Honen Corp., Tokyo, Japan). Jenis, spesifisitas, dan dosis lektin yang digunakan disajikan pada Tabel 1.

Hasil karakteristik histokimia oviduk diolah secara semikuantitatif yang didasarkan pada afinitas dan intensitas warna yang ditimbulkan pada metode tersebut ke dalam empat kategori yaitu negatif (-), sangat lemah (\pm), lemah (+), sedang (++) dan kuat (+++). Semua hasil yang diperoleh pada pengamatan mikroskopis didokumentasikan dengan menggunakan mikroskop cahaya yang dilengkapi peralatan mikrofotografi.

Tabel 1. Jenis, spesifisitas, dan dosis lektin yang digunakan

Jenis Lektin	Spesifisitas	Dosis (µg/ml)
Con A (<i>Concanavalin A</i>)	Man, Glc	15
PNA (<i>Peanut agglutinin</i>)	GalNAc	15
RCA (<i>Ricinus communis Agglutinin</i>)	Gal, GalNAc	15
UEA I (<i>Ulex europaeus Agglutinin I</i>)	Fucose	15
WGA (<i>Wheat germ agglutinin</i>)	GlcNAc, Asam sialat	15

GalNAc= N-asetilgalaktosamin, GlcNAc= N-asetilglukosamin, Man= manosa, Glc= β-glukosa, Gal= β-galaktosa

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pewarnaan histokimia lektin dapat diketahui bahwa terdapat berbagai ekspresi *glycoconjugate* pada sel epitel oviduk kancil seperti yang disajikan pada Tabel 2 dan Gambar 1.

Tabel 2. Distribusi *glycoconjugate* pada sel epitel oviduk kancil

Jenis Lektin	Spesifisitas <i>Glycoconjugate</i>	Sel Epitel	
		Bagian Apikal	Sitoplasma
Con A	Man, Glc	+ s/d +++	\pm s/d +
PNA	GalNAc	+++	+ s/d ++
RCA	Gal, GalNAc	\pm s/d ++	\pm s/d +
UEA I	Fukosa	+ s/d +++	\pm s/d +
WGA	GlcNAc, Asam sialat	\pm s/d ++	\pm s/d +

GalNAc= N-asetilgalaktosamin, GlcNAc= N-asetilglukosamin, Man= manosa, Glc= β-glukosa, Gal= β-galaktosa asetilglukosamin; (\pm) sangat lemah, (+) lemah, (++) sedang, dan (+++) kuat

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa lektin Con A mengindikasikan terdapatnya residu gula manosa dan glukosa, yang bereaksi positif dengan intensitas lemah hingga kuat (+ s/d ++++) pada bagian

apikal sel epitel dan intensitas sangat lemah hingga lemah (\pm s/d +) pada sitoplasma. Lektin PNA mengindikasikan adanya residu gula N-asetilgalaktosamin (GalNAc) yang bereaksi positif dengan intensitas kuat (+++) pada bagian apikal sel epitel dan lemah hingga sedang (+ s/d ++) pada sitoplasma sel. Lektin RCA mengindikasikan terdapatnya residu gula galaktosa dan N-asetilgalaktosamin, yang bereaksi positif dengan intensitas sangat lemah hingga sedang (\pm s/d ++) pada bagian apikal sel epitel dan intensitas sangat lemah hingga lemah (\pm s/d +) pada sitoplasma. Lektin UEA I mengindikasikan adanya residu gula fukosa, yang bereaksi positif dengan intensitas lemah hingga kuat (+ s/d +++) pada bagian apikal sel epitel dan intensitas sangat lemah hingga lemah (\pm s/d +) pada sitoplasma. Lektin WGA mengindikasikan terdapatnya residu gula N-asetilglukosamin dan asam sialat, yang bereaksi positif dengan intensitas sangat lemah hingga sedang (\pm s/d ++) pada bagian apikal sel epitel dan intensitas sangat lemah hingga lemah (\pm s/d +) pada sitoplasma.

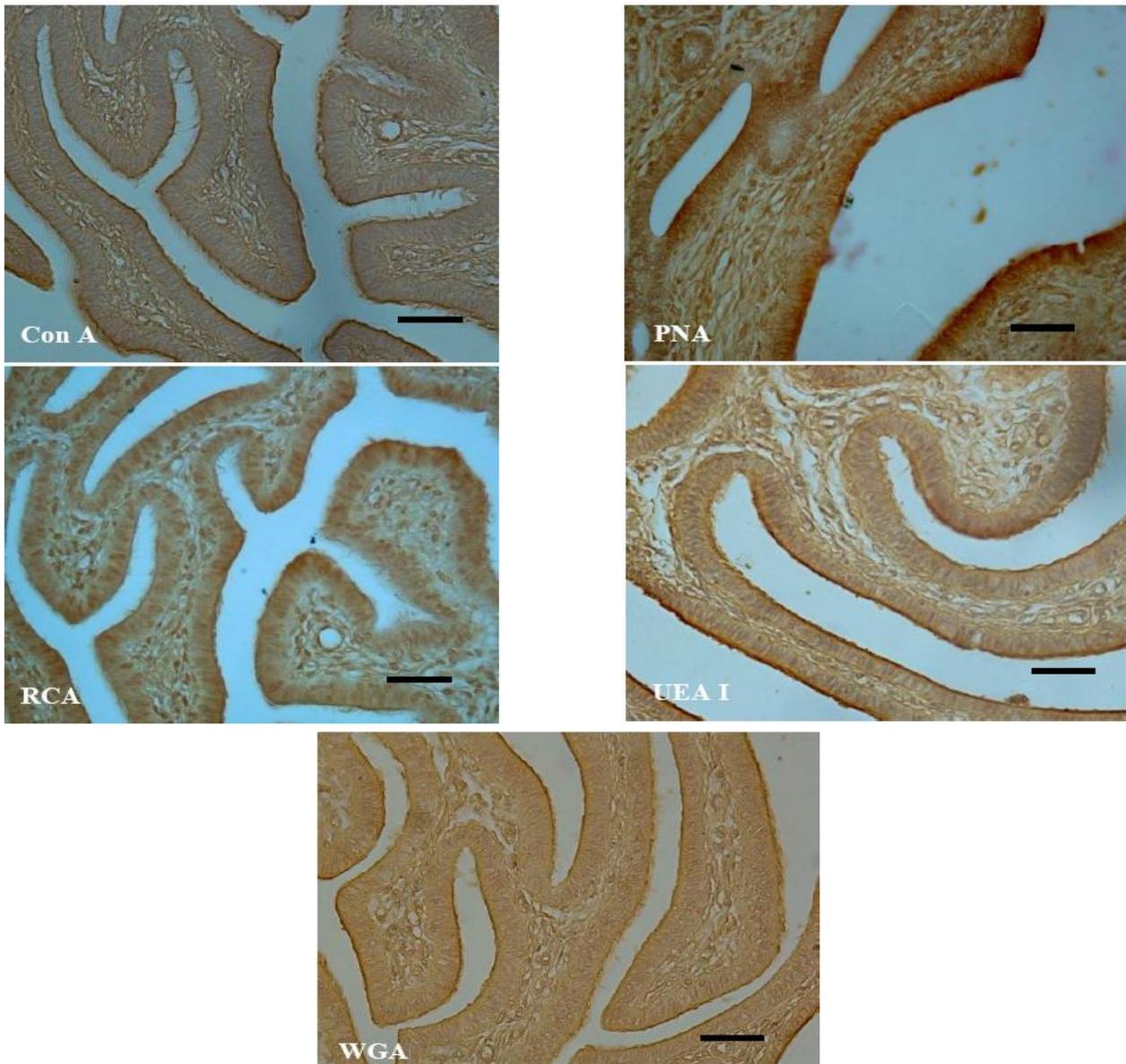
Keberadaan *glycoconjugate* pada oviduk khususnya pada lapisan epitelium oviduk suatu spesies hewan betina memiliki beberapa peranan penting demi keberlangsungan suatu proses fisiologi reproduksi. Walter dan Bavdek (1997) menyatakan bahwa *glycoconjugate* berperan penting pada proses reproduksi yang terjadi di dalam ampula antara lain turut menstimulasi proses lanjutan dari maturasi oosit dan memperantarai interaksi antara spermatozoa (*glycoconjugate* terdapat pada membran spermatozoa) dengan oosit (*glycoconjugate* terdapat pada zona pelusida).

Pada lapisan epitelium isthmus, adanya *glycoconjugate* berupa residu gula yang terdeteksi pada bagian apikal sel epitel diduga berperan penting untuk memperantarai perlekatan spermatozoa dengan lapisan epitelium isthmus. *Glycoconjugate* yang berperan dalam proses ikatan tersebut sangat beragam antar spesies hewan. Jenis *glycoconjugate* tersebut disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Jenis *glycoconjugate* yang berperan pada proses perlekatan spermatozoa dengan lapisan epitelium oviduk pada berbagai jenis hewan

Jenis <i>Glycoconjugate</i>	Hewan
Asam sialat	Tikus (Cortes <i>et al.</i> , 2004), Hamster (DeMott <i>et al.</i> , 1995)
Galaktosa	Kuda (Dobrinski <i>et al.</i> , 1997)
Fukosa	Sapi (Lefebvre <i>et al.</i> , 1997)
Maltosa, Laktosa, Manosa	Babi (Green <i>et al.</i> , 2001)

Dari hasil penelitian ini belum bisa memastikan jenis *glycoconjugate* yang berperan pada proses ikatan antara spermatozoa dengan lapisan epitelium oviduk kancil karena harus didukung oleh data kondisi reproduksi kancil betina yang bisa terlihat dari kondisi ovarium (fase folikuler atau luteal). Namun setidaknya, hasil penelitian ini bisa memberikan gambaran umum mengenai jenis *glycoconjugate* yang terdapat pada sel epitel oviduk kancil.



Gambar 1. Distribusi lektin Con A, PNA, RCA, UEA I, dan WGA pada sel epitel oviduk kancil. Bagian apikal sel epitel memberikan reaksi positif terhadap residu gula manosa, glukosa, N-asetilgalaktosamin, galaktosa, fukosa, N-asetilglukosamin, dan asam sialat dengan intensitas yang berbeda-beda. Pada sitoplasma sel epitel juga memberikan reaksi positif terhadap residu gula tersebut diatas dengan intensitas yang lebih rendah dibandingkan dengan intensitas pada bagian apikal dari sel epitel oviduk kancil. Bar: 30 μ m.

KESIMPULAN

Glycoconjugate yang mengandung residu gula galaktosa, glukosa, manosa, N-asetilgalaktosamin, N-asetilglukosamin, fukosa, dan asam sialat dapat ditemukan pada bagian apikal dan sitoplasma dari sel epitel oviduk kancil. *Glycoconjugate* yang paling dominan yang ditemukan baik pada bagian apikal sel epitel dan di dalam sitoplasma adalah residu gula N-asetilgalaktosamin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Rektor Universitas Syiah Kuala dan Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan yang telah membiayai penelitian ini

melalui Hibah Dosen Muda Tahun Anggaran 2010 No. 034a/H11/LK-PNBP/2010

DAFTAR PUSTAKA

- Cortes, P.P., P.A. Orihuela, L.M. Zu'n'iga, L.A. Vela'squez, and H.B. Croxatto. 2004. Sperm binding to oviductal epithelial cells in the rat: Role of sialic acid residues on the epithelial surface and sialic acid-binding sites on the sperm surface. **Biol. Reprod.** 71:1262-1269.
- DeMott, R.P., R. Lefebvre, and S.S. Suarez. 1995. Carbohydrate mediate the adherence of hamster sperm to oviductal epithelium. **Biol. Reprod.** 52:1395-1403.
- Dobrinski, I., T.T. Smith, S.S. Suarez, and B.A. Ball. 1997. Membrane contact with oviductal epithelium modulates the intracellular calcium concentration of equine spermatozoa in vitro. **Biol. Reprod.** 56:861-869.
- Fazeli, A., E.D. Anne, F.W. Paul, and V.H. William. 1999. Sperm-oviduct interaction: Induction of capacitation and preferential

- binding of uncapacitated spermatozoa to oviductal epithelial cells in porcine species. **Biol. Reprod.** 60:879-886.
- Green, C.E., J. Bredl, W.V. Holt, P.F. Watson, and A. Fazeli. 2001. Carbohydrate mediation of boar sperm binding to oviductal epithelial cells in vitro. **Biol. Reprod.** 122:305-315.
- Kiernan, J.A. 1990. **Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice.** 2nd ed., Pergamon Press, England.
- Lefebvre, R., M.C. Lo, and S.S. Suarez. 1997. Bovine sperm binding to oviductal epithelium involves fucose recognition. **Biol. Reprod.** 56:1198-1204.
- Petersen, E.T. 1999. Carbohydrate-based interactions on the route of a spermatozoon to fertilization. **Hum. Reprod. Update.** 5(4):314-329.
- Schmidt, A., P.A. Mavrogianis, M.B. O'Day-Bowman, and H.G. Verhage. 1997. Species-specific effect of oviductal glycoproteins on hamster sperm binding to hamster oocytes. **Mol. Reprod. Dev.** 46(2):201-207.
- Verhage, H.G., A.T. Fazleabas, P.A. Mavrogianis, M.B. O'Day-Bowman, K.M. Donnelly, E.B. Arias, and R.C. Jaffe. 1997a. The baboon oviduct: characteristics of an oestradiol-dependent oviduct-specific glycoprotein. **Hum. Reprod. Update.** 3(6):541-552.
- Verhage, H.G., A.T. Fazleabas, P.A. Mavrogianis, M.B. O'Day-Bowman, A. Schmidt, E.B. Arias, and R.C. Jaffe. 1997b. Characteristics of an oviductal glycoprotein and its potential role in fertility control. **J. Reprod. Fertil. Suppl.** 51:217-226.
- Walter, I. and S. Bavdek. 1997. Lectin binding patterns of porcine oviduct mucosa and endometrium during the oestrous cycle. **J. Anat.** 190:299-307.