

Apakah Organum Subformicale Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Suatu Kelenjar Neuroendokrin?

Suatu Kajian Morfologik dengan Metode Histokimiawi dan Imunohistokimiawi

Oleh: Daryanto

Laboratorium Histologi, Fakultas Kedokteran
Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

ABSTRACT

Daryanto – *Is organum subformicale of Rattus norvegicus a neuroendocrine gland? A morphological study using histochemistry and immunohistochemistry methods.*

The objective of this study is to provide evidence on whether the subformical organ is a neuroendocrine gland, by which the neurosecretion process to be carried out in this organ. This investigation involved the use of light microscopy by using an immunohistochemistry as well as histochemistry methods and transmission electron microscopy. Eighty adult male and female albino rats of the Lembaga Makanan Rakyat strain (Jakarta) weighing between 150-250 g, and 9 rats of Wistar strain, weighing between 200-300 g, were studied.

According to morphology and by using immunohistochemistry and histochemistry methods, the results revealed that the subformical organ was not a neuroendocrine gland that secreted a neurohormone or neurosecretory substances through a neurosecretion process.

Key Words: subformical organ – neurosecretion process – transmission electron microscopy – immunohistochemistry technics – histochemistry technics.

PENGANTAR

Organum subformicale merupakan organ berukuran mini serta berbentuk mirip segitiga pada potongan sagital otak dan terletak di sekitar linea mediana ventriculus tertius cerebri. Organ ini menonjol ke dalam lumen ventriculus tertius cerebri, tepat di bagian

tengah atau sedikit ke arah lateral permukaan corpus fornicis setinggi foramen inter-ventriculare (Akert *et al.*, 1961). Topografi organ ini pada semua jenis Vertebrata ternyata konsisten. Hal ini terungkap pada 131 species yang pernah diselidiki (Akert *et al.*, 1961; Dellman & Simpson, 1979).

Morfologi organum subformicale sejak pertama kali ditemukan sampai kira-kira tahun 1965 masih dalam perdebatan para ahli, terutama menyangkut komponen seluler, ialah sel parenkim. Menurut Asida (1943 *cit* Nakajima *et al.*, 1968) sel parenkim organum subformicale ialah sel yang belum mengalami diferensiasi, namun dianggap sebagai neuron atau setidaknya-tidaknya berasal dari sel serupa neuron. Wislocki dan Leduc (1952) mengatakan bahwa sel parenkim organum subformicale berasal dari sel ependim atau epithelium medullare dan sitoplasmanya mengandung substantia chromatophila seperti yang terdapat di dalam sitoplasma badan sel saraf umumnya. Selang beberapa tahun, Andreas (1965) memperkuat penemuan ini dengan menggunakan sarana mikroskop elektron transmisi, dan mengatakan bahwa sel parenkim organum subformicale memiliki substantia chromatophila serupa substantia chromatophila yang terdapat dalam sel saraf umumnya. Sprankel (1967, *cit*. Nakajima *et al.*, 1968) menambahkan bahwa sel parenkim organum subformicale memiliki kaitan dengan neuron "khas" atau merupakan sel bentuk peralihan.

Putnam (1922, *cit*. Brizzel, 1954) mengatakan bahwa sel parenkim organum subformicale terdiri atas sel neuroglia yang bercabang-cabang. Brizzel (1954) mengatakan bahwa organum subformicale tersusun oleh dua jenis sel utama ialah elemen gliaoid serupa astroblastus dengan ukuran kecil dan memiliki taju-taju tak teratur, dan elemen kedua didominasi oleh sel yang disebut neuron berukuran kecil, berbentuk apolar dan unipolar memiliki nukleus ukuran besar.

Kemudian Dellmann & Simpson (1979) yang merangkum hasil pantauannya terhadap hasil penemuan para ahli sebelumnya dan hasil penelitian para ahli waktu itu, mengatakan bahwa di dalam sebagian besar jenis mammalia dapat ditemutunjukkan paling tidak empat jenis perikaryon, ialah perikaryon tipe I, II, III, dan IV. Perikaryon tipe I merupakan jenis sel parenkim yang ditemutunjukkan oleh Andreas (1965); Rudert *et al.* (1966); Pfenninger *et al.* (1967) dan Schinko *et al.* (1972). Perikaryon tipe II merupakan jenis sel yang ditemutunjukkan oleh Andreas (1965), dan Akert dan Sandri (1968). Perikaryon tipe II merupakan jenis sel yang ditemutunjukkan oleh Rudert (1965), Rudert *et al.* (1986) dan Pfenninger *et al.* (1967). Sel ini diklasifikasikan sebagai sel neurosekreterik, sebab menurut Rudert (1965) di dalam sel tersebut dijumpai sisterna dalam jumlah banyak, baik yang tampak kosong maupun yang tampak berisi granula yang bersifat padat-elektron yang diperkirakan sebagai "neurosekreter" yang berasal dari sel sistem neurosekreterik magnoseluler hipotalamus. Perikaryon tipe IV merupakan jenis sel yang ditemutunjukkan oleh Weindl (1965), Rudert *et al.*, (1966), dan Leonhardt dan Lindemann (1974).

Weindl (1965) dengan menggunakan metode histokimiawi, melaporkan bahwa organum subformicale memperagakan reaksi positif dengan teknik pewarnaan kromalunhematoksilin menurut Gomori. Namun dalam kesimpulannya Weindl menolak bahwa fenomena proses neurosekreterik terjadi di dalam organum subformicale, sebab Weindl tidak berhasil menemukannya sel neurosekreterik di dalam organ ini.

Rudert (1965) mengatakan bahwa di dalam organum subformicale dijumpai tanda-tanda klasik neurosekreterik, namun hanya di dalam dan di sepanjang akson terminal perivaskular. Pfenninger *et al.* (1967) melaporkan bahwa di dalam badan sel saraf pada

organum subfornicale ditemutunjukkan granula elementer neurosekret, namun jumlahnya jauh lebih sedikit bila dibandingkan dengan granula yang terdapat di dalam neurohipofisis.

Rohr (1966) mengatakan bahwa di dalam organum subfornicale kucing dapat dijumpai dua jenis sistem serabut saraf yang memiliki kegiatan sekretorik. Namun kedua jenis serabut saraf tersebut serupa dengan serabut saraf dalam sistem hipotalamo-hipofisealis, yaitu mengandung granula elementer dengan diameter antara 1000 - 2000 Å. Jenis saraf lainnya, membengkak pada ujungnya serta berisi material bergranula dan disebut "sel bervakuola raksasa".

Di samping itu Weindl (1973) mengatakan bahwa organum subfornicale merupakan tempat kegiatan neuroendokrin. Hal ini dikemukakan lagi oleh Gross (1985) bahwa organum subfornicale merupakan model untuk pengintegrasian neurohumoral dan dianggap sebagai transduser neuroendokrin. Gross menyampaikan hal ini pada simposium khusus yang membicarakan organum subfornicale di Anaheim, California pada tahun 1984.

Kizer *et al.* (*cit.* Stutinsky, 1978 dan Muller & MacLeod, 1984) dengan menggunakan metode imunoperoxidase dapat menemukannya. *Thyroid Stimulating Hormone* (TSH), *Luteinizing Hormone Releasing-Hormone* (LH-RH) serta somatostatina di dalam organum subfornicale.

Frohman (1980) dan Ganong (1993) mengatakan bahwa sampai saat ini hanya ada dua kelompok kelenjar neuroendokrin di dalam hipotalamus, berdasar atas cara pelepasan hormon dan jenis neurotransmitter yang mengendalikannya. Kedua kelompok kelenjar neuroendokrin tersebut melepaskan hormonnya melalui proses neurosekresi. Kelenjar neuroendokrin yang memproduksi hormon melalui proses neurosekresi memiliki struktur khusus yang sesuai dengan kaidah yang telah ditetapkan (Stutinsky, 1978; Ganong, 1993). Batasan proses neurosekresi dan sel neurosekretoriknya sendiri telah ditetapkan pada Simposium ke-VI tentang "neurosekresi" di London tahun 1974 (*cit.* Stutinsky, 1978). Batasan tersebut merupakan gabungan teori neurosekresi dan sel neurosekretorik dari ahli terdahulu, ialah Knowles (1964), Scharrer (1965), dan Bargmann (1967) (*cit.* Stutinsky, 1978). Batasan tersebut mengatakan bahwa "sel neurosekretorik adalah sel saraf/neuron yang mengandung granula elementer di dalam badan sel saraf (perikaryon) maupun di dalam dan di sepanjang akson, yang bereaksi positif dengan teknik pewarnaan kromalumhematoksilin menurut Gomori. Di dalam strukturnya tidak memiliki hubungan sinapsis, baik dengan neuron lain maupun dengan organ sasaran, dan melepaskan produksinya ke dalam aliran darah".

Selain hal tersebut di atas, Ganong (1993) menambahkan bahwa kelenjar neuroendokrin memiliki pembuluh darah kapiler berjenis berlubang-lubang (*fenestrated capillaries*), yang secara faal mempermudah cara sekresi hormon yang berupa makromolekul untuk menembus atau melewati pembuluh darah kapiler ini.

Masalah yang dihadapi pada penelitian ini ialah apakah benar organum subfornicale merupakan kelenjar neuroendokrin yang memproduksi neurosekret yang bersifat Gomori (+)?

Tujuan penelitian ini ialah untuk membuktikan apakah organum subfornicale secara struktural dan fungsional merupakan kelenjar neuroendokrin yang mensintesis dan melepaskan sekret yang bersifat Gomori (+) melalui proses neurosekresi?

BAHAN DAN CARA

Delapan puluh ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) dewasa, baik jantan maupun betina, galur Lembaga Makanan Rakyat (LMR, Jakarta) berat antara 150-200 g digunakan untuk penelitian yang menggunakan metode histokimiawi dan 9 ekor tikus putih dewasa galur Wistar dan berat antara 200-300 g digunakan untuk pengamatan dengan mikroskop elektron transmisi.

Baik penelitian dengan metode histokimiawi maupun metode imunohistokimiawi merupakan penelitian deskriptif dan eksploratif.

a. Metode histokimiawi

Beberapa teknik yang menggunakan mikroskop optik dan parafin, serta tikus putih sebagai hewan percobaan yang tidak diberikan perlakuan, ialah:

1. Teknik pewarnaan hematoksilin-eosin (HE), dan toluidin biru, menggunakan 20 ekor tikus putih dewasa (*Rattus norvegicus*), baik jantan maupun betina, galur LMR. Kedua teknik pewarnaan ini digunakan untuk mendapatkan gambaran umum dan jenis sel di dalam organum subformicale.
2. Teknik pewarnaan protargol menurut Bodian dan teknik pewarnaan hematoksilin feriamoniumsulfat menurut Weil, menggunakan 15 ekor tikus putih. Kedua teknik pewarnaan ini digunakan untuk menemutunjukkan jenis serabut saraf.
3. Teknik pewarnaan kromalumhematoksilin menurut Gomori, menggunakan 20 ekor tikus putih, bertujuan untuk menemutunjukkan neurosekret di dalam organum subformicale, apabila memang ada.
4. Teknik pewarnaan uranilasetat dan Pb-sitrat untuk memperagakan struktur ultra komponen struktural di dalam organum subformicale, mencakup neuron, jenis serabut saraf, jenis pembuluh darah kapiler dan ada tidaknya sinapsis. Digunakan 19 ekor tikus putih dewasa, yang terdiri atas 10 ekor galur LMR dan 9 ekor galur Wistar.

Pelaksanaan penelitian untuk kajian histokimiawi dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada. Khusus untuk pembuatan sediaan mikroskop elektron transmisi dilakukan di tiga laboratorium, yaitu pertama di Laboratorium Kimia dan Fisika Pusat (LAKFIP) Universitas Gadjah Mada, kedua di Department of Anatomy, Faculty of Graduate Studies Mahidol University, Bangkok, Thailand, dan ketiga di Second Department of Anatomy, Kobe University School of Medicine Kobe, Jepang.

Pedoman teknik pewarnaan yang digunakan pada penelitian ini tertuang dalam buku karangan Clayden (1955), McManus & Mowrey (1960), Disbrey & Rack (1970), dan Brancroft & Stevens (1985).

b. Metode imunohistokimiawi

Lima belas ekor tikus putih dewasa, baik jantan maupun betina, galur LMR, berat badan antara 150-250 g digunakan pada penelitian ini. Semua binatang coba diberi perlakuan puasa air selama 5 hari berturut-turut, dan pada hari keenam semua tikus dibunuh dengan cara dekapitasi. Selanjutnya dibuat sediaan histologik dengan menggunakan metode parafin dan kemudian diiris secara sagital setebal 5 μm . Irisan jaringan otak ini kemudian diwarnai dengan salah satu metode imunohistokimiawi, ialah metode

LSAB (*Labeled Strept Avidin Methods*) (Naish *et al.*, 1989). Bahan yang digunakan sebagai antibodi primer ialah *Rabbit anti-human neurophysin* dengan titer $1/100$ serta LSAB kit. Setiap irisan jaringan otak yang diwarnai, selalu diikuti dengan pembuatan sediaan kontrol negatif (-), ialah sediaan yang tidak diberi antibodi primer pada waktu pembuatan sediaan histologik.

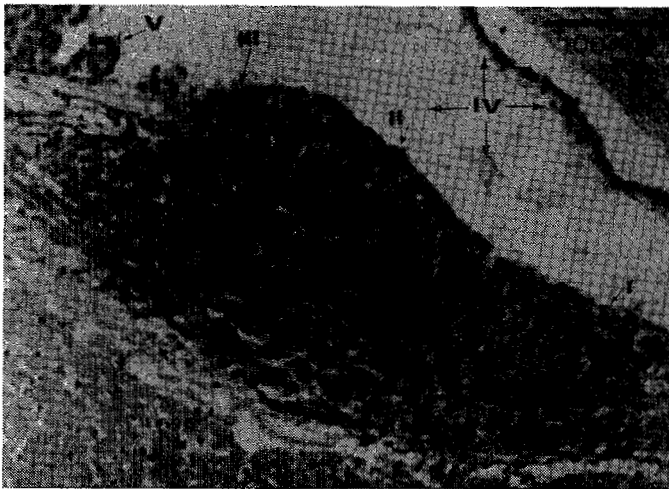
HASIL PENELITIAN

a. Metode histokimlawi

1. Teknik pewarnaan hematoksilin-eosin (HE)

Organum subformicale pada potongan sagital otak tikus berbentuk serupa bangunan segitiga (GAMBAR 1). Alas bentuk segitiga organ ini melekat pada dinding rostral ventriculus tertius cerebri, puncaknya menonjol ke dalam ruang ventriculus tertius cerebri. Di bagian lain di dalam ruang ventriculus tertius cerebri tampak plexus choroideus.

Organum subformicale tampak terbagi atas tiga bagian, ialah bagian batang dorsal (*columna dorsalis*), bagian badan (*corpus*) dan bagian batang ventral (*columna ventralis*). Organnya sendiri memperagakan gambaran seluler, tersusun secara longgar. Bentuk setiap sel umumnya oval, ukuran sel tidak seragam, dan memiliki sebuah nukleus dengan ukuran besar. Matriks interseluler tampak homogen dan di antara komponen selulernya dijumpai banyak sekali pembuluh darah kecil-kecil. Sitoplasma setiap sel bersifat asidofil, sedangkan nukleus bersifat basofil (GAMBAR 2).



(Perbesaran 100 x)

GAMBAR 1. – Gambaran umum irisan sagital otak tikus beserta organum subformicale di dalamnya diwarnai dengan teknik pewarnaan HE. Organum subformicale memperagakan gambaran seluler dan sangat berbeda dengan gambaran jaringan otak di sekitarnya. I. Bagian batang dorsal (*columna dorsalis*); II. bagian badan (*corpus*); III. bagian batang ventral (*columna ventralis*); IV. lumen ventriculus tertius cerebri, V. plexus choroideus.

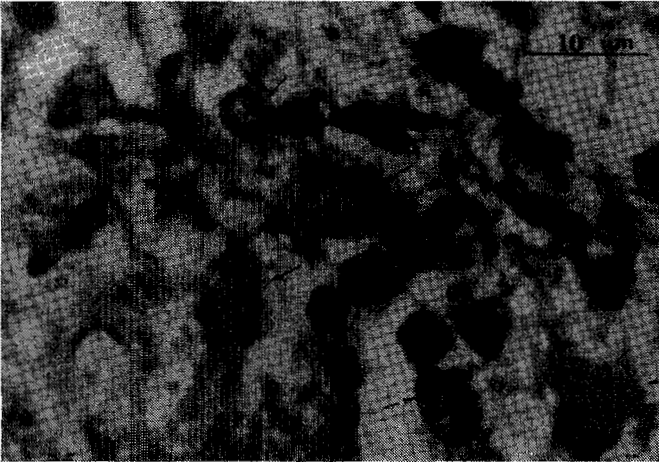


(Perbesaran 400 x.)

GAMBAR 2. – Gambaran umum irisan sagital otak tikus beserta organum subfornicale di dalamnya, diwarnai dengan teknik pewarnaan HE. 1. sel berbentuk oval; 2. sitoplasma sel bersifat asidofil (merah coklat); 3. nukleus berbentuk oval berukuran besar; 4. sel ependim, IV. lumen ventriculus tertius cerebri.

2. Teknik pewarnaan toluidin-biru

Komponen sitoplasmik selularis pada organum subfornicale dengan teknik pewarnaan toluidin-biru memperlihatkan reaksi positif. Reaksi positif ini terjadi antara zat warna toluidin biru dengan salah satu organela ialah reticulum endoplasmicum granulosum (*Nissl bodies = substantia chromatophilica*), berupa bercak-bercak berwarna biru (GAMBAR 3).

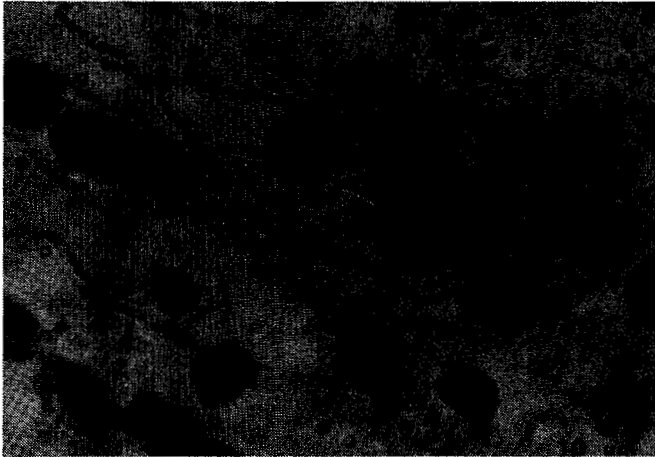


(Perbesaran 1.000 x)

GAMBAR 3. – Irisan sagital otak tikus beserta organum subfornicale di dalamnya, diwarnai dengan teknik pewarnaan toluidin-biru. Pada gambar tampak bahwa sitoplasma sel organ ini memperlihatkan reaksi positif berwarna biru-hitam ialah berupa bercak-bercak biru-hitam.

3. Teknik pewarnaan protargol menurut Bodian

Matriks organum subfornicale ternyata tidak homogen, mengandung akson dalam jumlah banyak, dan arah akson tidak teratur sehingga tampak ada yang terpotong melintang dan membujur. Akson yang terpotong melintang tampak sebagai titik-titik berwarna hitam dan akson yang terpotong membujur tampak sebagai benang berwarna hitam (GAMBAR 4).



(Perbesaran 1.000 x)

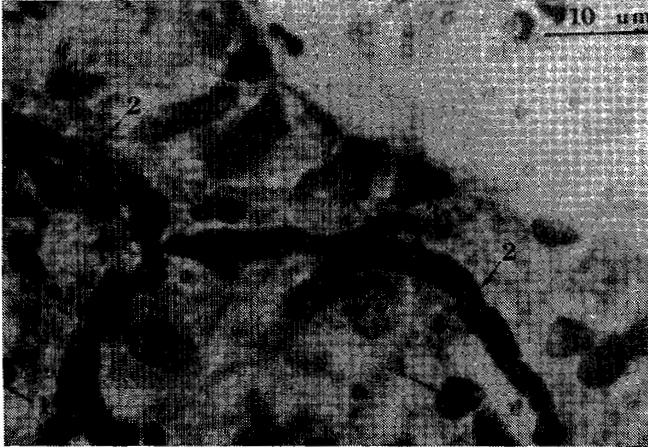
GAMBAR 4. – Irisan sagital otak tikus beserta organum subfornicale di dalamnya, diwarnai dengan teknik pewarnaan protargol menurut Bodian. 1. akson terpotong melintang (lihat anak panah); 2. akson terpotong membujur.

4. Teknik pewarnaan hematoksilin+ferlamoniumsulfat menurut Weil

Organum subfornicale ternyata juga memperagakan reaksi positif dengan teknik pewarnaan menurut Weil, artinya bahwa di dalam organum subfornicale dapat dipergakan serabut saraf berselubung myelin. Selubung myelin yang terpotong melintang tampak sebagai bulatan berwarna hitam, sedangkan yang terpotong membujur tampak sebagai garis tebal berwarna biru-hitam. Gambaran khas dapat dilihat pada selubung myelin yang terpotong membujur, myelin tampak beruas-ruas oleh adanya lekukan-lekukan pada interval tertentu yang ada di sepanjang selubung myelin (*nodus neurofibrae* = *nodus Ranvier*) (GAMBAR 5).

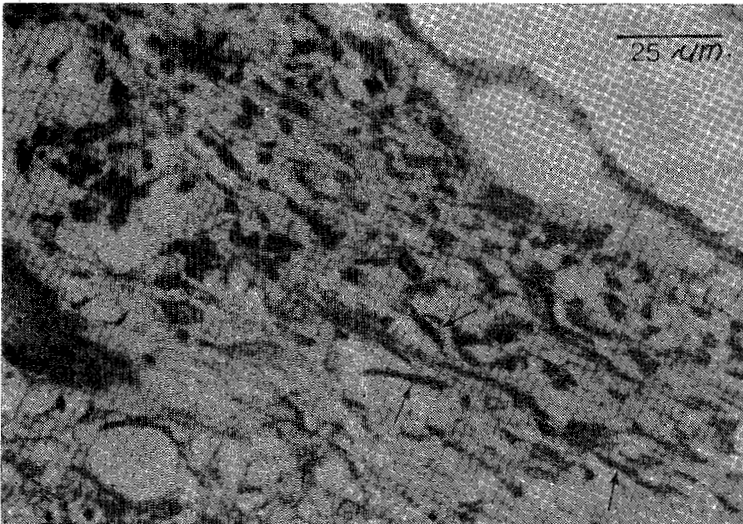
5. Teknik pewarnaan kromalumhematoksilin menurut Gomori

Organum subfornicale ternyata memperagakan reaksi positif dengan teknik pewarnaan kromalumhematoksilin menurut Gomori. Reaksi ini berupa gambaran titik atau bercak-bercak berwarna biru yang berarti ada neurosekret. Keberadaan neurosekret tidaklah di dalam badan sel saraf namun berada di dalam ban di sepanjang akson terminal (GAMBAR 6).



(Perbesaran 1.000 x)

GAMBAR 5. - Irisan sagital otak tikus beserta organum subfornicale di dalamnya, diwamai dengan teknik pewarnaan menurut Weil. 1. akson berselubung mielin terpotong melintang; 2. akson berselubung mielin terpotong membujur; 3. nodus neurofibrae.



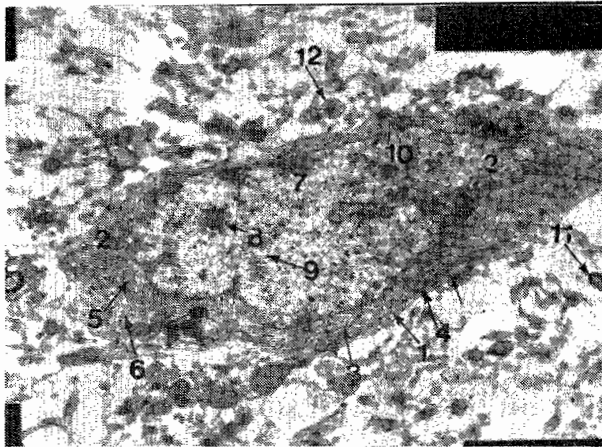
(Perbesaran 100 x)

GAMBAR 6. - Gambaran umum irisan sagital otak tikus beserta organum subfornicale di dalamnya diwamai dengan teknik pewarnaan kromalumhematoksilin menurut Gomori. Reaksi positif diperagakan di dalam dan di sepanjang akson terminal yang mengandung neurosekret (perhatikan anak panah).

6. Teknik pewarnaan uranil-asetat dan Pb-sitrat untuk pengamatan dengan mikroskop elektron transmisi

Pengamatan dengan mikroskop elektron transmisi menunjukkan bahwa sel parenkim organum subformicale tikus ternyata neuron (sel saraf) murni. Setiap sel berbentuk oval dan gambaran khas yang dapat dilihat pada setiap neuron ialah membran sel yang secara struktural tersusun oleh tiga lapis (trilaminar) yang disebut unit membran. Gambaran trilaminar ini tercermin oleh tiga garis paralel, dua garis hitam bersifat padat-elektron (*electron-dense materials*) mengapit selapis garis jernih (*electron-lucent materials*). Sitoplasma sel penuh dengan organela, baik organela berdinging membran (*membranebounded organelles*) maupun yang tidak berdinging membran (*nonmembranebounded organelles*). Organela yang tampak menonjol dalam sel ini ialah reticulum endoplasmicum granulosum dan mitokondria. Ribosoma tersebar di seluruh ruang sitoplasma dan ada yang menempel pada dinding sebelah luar reticulum endoplasmicum. Organela lain yang tampak ada di dalam sel ini complexus golgiensis (aparatus Golgi).

Setiap sel memiliki sebuah nukleus berukuran besar, kadang-kadang nukleus tampak berlobi. Di dalam nukleus penuh dengan eukromatin dan heterokromatin. Tidak dapat ditemutunjukkan bercak-bercak berwarna hitam yang bersifat padat elektron di dalam sitoplasmanya, serta tidak dapat ditemutunjukkan adanya proses mitosis (GAMBAR 7).



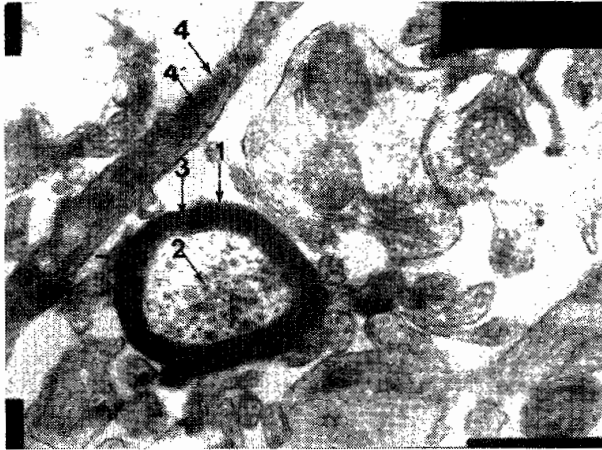
(Perbesaran 6.000 x)

GAMBAR 7. – Struktur ultra neuron yang terdapat di dalam organum subformicale. 1. membran sel; 2. daerah sitoplasma penuh organela; 3. reticulum endoplasmicum granulosum; 4. mitokondria; 5. aparatus Golgi; 6. ribosoma; 7. nukelus; 8. heterokromatin; 9. eukromatin; 10. nukleolus; 11. serabut saraf berselubung myelin; 12. serabut saraf tanpa selubung myelin; 13. nukleus berlobus.

7. Serabut saraf di dalam organum subformicale

Organum subformicale ternyata dipenuhi dengan serabut saraf, baik yang berselubung myelin maupun yang tanpa selubung myelin. Gambaran serabut saraf berselubung myelin pada potongan melintang tampak berupa titik-titik hitam terdapat di

dalam daerah jernih ialah *neurofilamen*. Selubung myelin tampak berlapis. Garis hitam bersifat padat-elektron (*electron-dense materials*) dan garis jernih bersifat jernih-elektron (*electron-lucent materials*) (GAMBAR 8).



(Perbesaran 30.000 x)

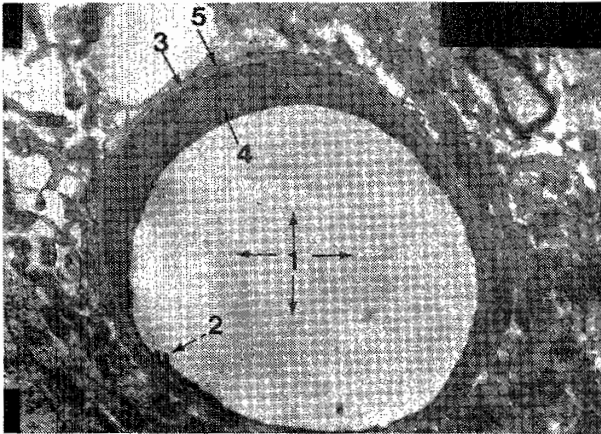
GAMBAR 8. – Struktur ultra serabut saraf pada organum subfornicale. 1. serabut saraf berselubung myelin; 2. di dalamnya tampak neurofilamen; 3. selubung myelin tersusun oleh garis-garis hitam dari material padat elektron mengapi garis jernih dari material jernih-elektron; 4. serabut saraf (akson) tanpa selubung myelin terpotong membujur tampak di dalamnya terdapat butir-butir bersifat padat elektron dan diperkirakan sebagai neurosekret.

8. Gambar struktur ultra jenis pembuluh darah kapiler yang paling banyak terdapat di dalam organum subfornicale.

Jenis pembuluh darah yang terdapat di dalam organum subfornicale ternyata kapiler darah berjenis berlanjut (*continuous capillaries*). Kapiler darah ini dilapisi oleh sel endotel yang memanjang pada kedua ujungnya, melingkar dan membentuk lumen dan kedua ujung bersatu/bertemu, dan saling melekat. Sel endotelnya sendiri melekat pada membran basal yang sangat tipis, memiliki bentuk selnya, sehingga nukleus tampak memanjang, dan kadang-kadang tampak berlobus (GAMBAR 9).

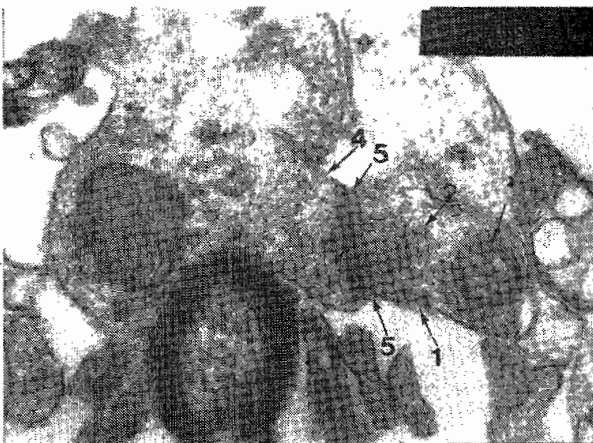
9. Gambar struktur ultra sinapsis di dalam organum subfornicale

Di dalam organum subfornicale ternyata banyak dijumpai berbagai jenis sinapsis dalam jumlah banyak. Namun jenis sinapsis yang mendominasi adalah jenis akso-dendritik (*axo-dendritic synapse*). Gambaran khas pada ujung terminal serabut saraf presinaptik membulat dan di dalamnya penuh dengan vesikel padat elektron, serta mitokondria. Ujung serabut saraf postsinaptik juga membulat dan saling melekat dengan ujung serabut saraf presinaptik dan dipisahkan oleh celah sangat sempit ialah celah sinaptik (*synaptic cleft*) (GAMBAR 10).



(Perbesaran 8.000 x)

GAMBAR 9. – Struktur ultra pembuluh darah kapiler jenis berlanjut (*continous capillaries*) yang mendominasi di dalam organum subformicale. 1. lumen kapiler; 2. titik pertemuan kedua ujung sel endotel; 3. lamina basalis yang tipis; 4. nukleus tampak berlobus; 5. tunika adventitia yang tipis.



(Perbesaran 25.000 x)

GAMBAR 10. – Struktur ultra sinapsis jenis akso-dendritik (*axo-dendritic synaptic*) yang banyak terdapat di dalam organum subformicale. 1. ujung terminal serabut saraf presinaptika; 2. vesikel sinaptika; 3. mitokondria; 4. ujung terminal serabut saraf postsinaptika; 5. celah sinaptika.

b. Metode imunohistokimiawi

Hasil memperagakan bahwa organum subformicale juga memberi reaksi positif dengan teknik pewarnaan imunoperoxidase (metode LSAB). Reaksi positif ini divisualisasikan dengan warna coklat (reaksi coklat = *brown reaction*) (GAMBAR 11 dan 12). Namun reaksi yang diperagakan ialah di luar sel (ekstraseluler), bukan intraseluler. Skor masing-masing sediaan yang diobservasi tertera pada TABEL 1.

Tabel 1. - Hasil pewarnaan dengan menggunakan metode LSAB yang menggambarkan intensitas dan densitas neurosekret dalam organum subformicale. Titer neurofisins (antibodi primer) 1/100.

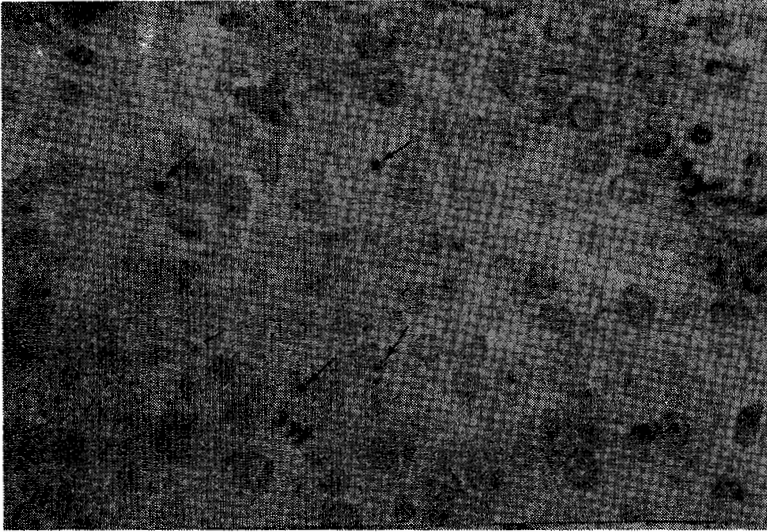
Nomor tikus	Skor reaksi-coklat
2	-
3	-
5	-
1	-
4	++
6	+++
7	++
8	++
9	++
10	++
11	++
12	++
13	++
14	++
15	++

PEMBAHASAN DAN KESIMPULAN

Hasil penelitian dari suatu kajian morfologik dengan menggunakan metode histokimiawi (meliputi penggunaan mikroskop optik dan mikroskop elektron transmisi) memperagakan bahwa topografi organum subformicale terletak di dalam ruang ventriculus tertius cerebri serta menonjol ke dalamnya. Penemuan ini menunjukkan kesamaan dan mendukung serta memperjelas penemuan peneliti terdahulu yang sudah menelitinya pada 131 species (Akert *et al.*, 1961) serta hasil pantauan Dellmann & Simpson (1979).

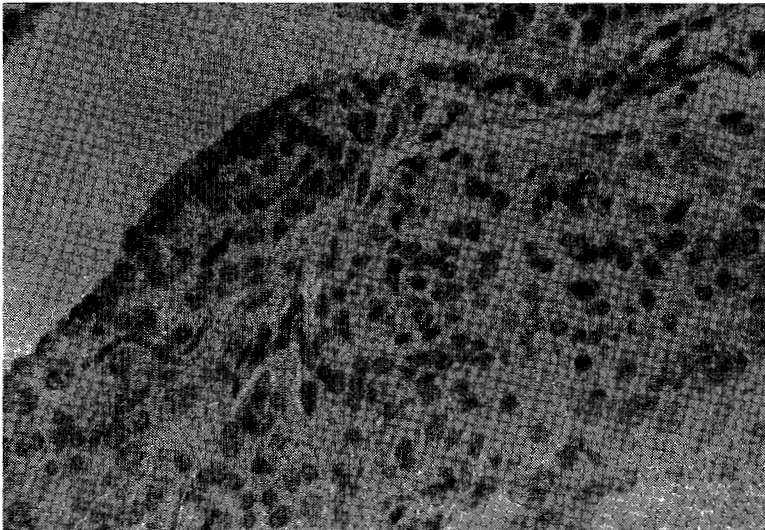
Organum subformicale memperagakan gambaran seluler yang tersusun secara longgar. Dengan teknik pewarnaan toluidin biru ternyata organum subformicale memberikan reaksi positif. Hal ini menunjukkan bahwa sel parenkim organum subformicale cenderung merupakan sel saraf (neuron). Hasil ini ternyata diperkuat dengan menggunakan mikroskop elektron transmisi, bahwa sel parenkim di dalam organum subformicale merupakan sel saraf murni (*neuron*). Dengan demikian hasil tersebut memperjelas dan memantapkan penemuan peneliti terdahulu, antara lain Yamada & Hasunuma (1954), Akert *et al.* (1961); Rudert (1965), Pfenninger *et al.* (1967) dan Weindl (1973). Hasil ini juga mendukung serta memperkuat penemuan Mark & Farmer (1984) yang mengatakan bahwa sel parenkim organum subformicale hanya satu jenis sel saraf. Hasil ini ternyata bertolak belakang dengan hasil rangkuman Dellmann & Simpson (1979) yang mengatakan bahwa di dalam organum subformicale terdapat paling tidak empat jenis neuron, termasuk di dalamnya sel neurosekretorik. Penelitian ini juga memperjelas serta

menolak pendapat Dellmann & Simpson tersebut yang telah membicarakan khusus mengenai organum subformicale di Anaheim, California pada tahun 1984.



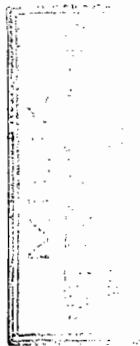
(Perbesaran 400 x)

GAMBAR 11. - Gambaran umum irisan sagital otak tikus putih beserta organum subformicale di dalamnya memberikan reaksi positif, disebut "reaksi coklat" atau *brown reaction*. Reaksi coklat tersebut divisualisasikan berupa bercak-bercak berwarna coklat dalam jumlah sedikit dan letaknya di luar badan sel saraf (lihat anak panah).



(Perbesaran 400 x)

GAMBAR 12. - Gambaran umum irisan sagital otak tikus putih beserta organum subformicale di dalamnya, yang memperagakan reaksi negatif yang merupakan kelompok kontrol.



Pengamatan secara rinci di bawah mikroskop elektron transmisi menunjukkan bahwa semua sel yang ada di dalam organum subfornicale tidak menunjukkan adanya butir-butir hitam bersifat padat elektron yang sebelumnya diperkirakan neurosekret yang bersifat padat-elektron.

Neurosekret juga telah diperjelas pada penelitian ini dengan teknik pewarnaan kromalumphematoksilin menurut Gomori. Hasil yang diperagakan ialah bahwa reaksi positif tersebut hanya dijumpai di dalam dan di sepanjang akson terminal ekstraselular.

Gambaran neurosekret yang bersifat padat elektron ternyata dapat diperagakan pada akson tanpa selubung myelin, dan tampak jelas pada potongan membujurnya.

Pengamatan dengan menggunakan salah satu teknik imunoperoksidase, yaitu metode LSAB, ternyata di dalam organum subfornicale memperagakan adanya reaksi coklat positif (*brown reaction*), dan apa yang diperagakan ternyata sama, ialah terdapat di luar sel (ekstraselular). Dengan hasil ini dapat disimpulkan bahwa neurosekret yang bersifat Gomori (+) dan bersifat imunoreaktif (+) bukanlah diproduksi di dalam organum subfornicale sendiri, namun diproduksi oleh nukleus lain di dalam otak.

Pembuluh darah kapiler yang mendominasi keberadaannya di dalam organum subfornicale ternyata ialah pembuluh darah kapiler berjenis berlanjut (*continuous capillaries*). Hasil ini ternyata sebagian menopang dan memperkuat hasil penelitian terdahulu, antara lain Ganong (1993). Sebaliknya tidak sesuai dengan hasil sebagian peneliti terdahulu antara lain Dellmann & Simpson (1979), Dellmann (1985) dan Gross (1985), yang umumnya mengatakan bahwa jenis kapiler darah yang mendominasi organ ini ialah kapiler darah jenis berlubang (*fenestrated capillaries*).

Bangunan lain yang dapat ditemutunjukkan di dalam organ ini ialah beberapa jenis sinapsis dalam jumlah yang banyak sekali. Jenis yang mendominasinya ialah sinapsis akso-dendritik (*axo-dendritic synapse*), namun jenis lain juga dapat ditemutunjukkan antara lain sinapsis akso-somatik (*axo-somatic synapse*). Hasil ini ternyata menopang penemuan Gross (1985) serta memperkuat analisis Gross (1985), bahwa organ ini menerima proyeksi serabut saraf dari nukleus lain di dalam otak.

Hasil-hasil penelitian ini memperagakan bahwa sel parenkim di dalam organ ini berupa satu jenis neuron, tanpa memiliki neuron neurosekretorik. Organ ini memiliki kapiler darah berjenis berlanjut, memiliki banyak sekali sinapsis, terutama jenis akso-dendritik dan hal ini menunjukkan bahwa organ ini mendapat proyeksi serabut saraf dari nukleus lain di dalam otak. Adanya neurosekret yang ekstraselular, baik pengujian secara histokimiawi maupun secara imunohistokimiawi, serta penggunaan sarana mikroskop elektron, memperagakan neurosekret berlokasi di dalam akson terminal.

Dengan demikian sesuai dengan batasan organ sebagai kelenjar neuroendokrin yang memproduksi sekretnya melalui proses neurosekresi (Ganong, 1993), serta batasan tentang neurosekresi yang dicanangkan pada Simposium ke-VI di London tahun 1974 (*cit. Stutinsky, 1978*) maka organum subfornicale tidak memenuhi kriteria/kategori sebagai kelenjar neuroendokrin. Dengan demikian organum subfornicale bukan kelenjar neuroendokrin yang mensintesis dan memproduksi sendiri neurosekret bersifat Gomori (+).

RINGKASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mendapat kepastian atau kejelasan apakah organum

subfornicale secara struktural merupakan kelenjar neuroendokrin yang memproduksi hormon atau neurosekret melalui proses neurosekresi. Penelitian ini melibatkan penggunaan sarana mikroskop optik untuk metode histokimiawi dan imunohistokimiawi dan mikroskop elektron transmisi. Penelitian ini menggunakan 80 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*), baik jantan maupun betina galur Lembaga Makanan Rakyat Jakarta, berat antara 150-250 dan 9 ekor tikus putih galur Wistar dengan berat antara 200-300 g.

Hasil penelitian memperagakan bahwa struktur dan struktur ultra organum subfornicale, dengan menggunakan metode histokimiawi dan imunohistokimiawi, bukanlah kelenjar neuroendokrin yang memproduksi neurohormon atau neurosekret melalui proses neurosekresi.

KEPUSTAKAAN

- Akert, K., Potter, H. D., & Anderson, J. W. 1961 The subfornical organ in mammals. Comparative and topographical anatomy. *J. Comp. Neurol.* 116:1-14.
- _____, & Sandri, C. 1968 An electron microscopic study by zinc-ismium impregnation of neurons. I. staining of synaptic vesicle at cholinergic junction. *Brain Res.* 7:286-95.
- Andreas, K.H. 1965 Der Feinbau des Subfornikalorgan von Hund. *Z. Zellforsch.* 68:445-73.
- Bancroft, J. D., & Stevens, A. 1982 *Theory and Practice Histological Techniques*. Churchill Livingstone. Edinburgh.
- Brizzee, K. R. 1954 A comparison of cell structure in the area, supraoptic crest, and intercolumnar tubercle with notes on the neurohypophysis and pineal body in the cat. *J. Comp. Neurol.* 100:699-715.
- Clayden, E. C. 1955 *Practical Section, Cutting and Staining*, 3rd. ed. J. & A. Churchill Ltd., London.
- Dellmann, H. D. 1985 Fine structural organization of the subfornical organ. A concise review. *Brain Res. Bull.* 15(1):71-8.
- Dellmann, H. D., & Simpson, J. B. 1979 The subfornical organ. *Intern. Rev. Cytol.* 58:333-421.
- Disbrey, B. D., & Rack, J. H. 1970 *Histological Laboratory Methods*. E. & S. Livingstone, Edinburgh.
- Frohman, L. A. 1980 Neurotransmitter as regulators of endocrine function, dalam D.T. Krieger, & J.C. Hughes, (eds.): *Neuroendocrinology*, pp. 44-58. Sinauer Assoc. Inc., Sunderland.
- Ganong, W. F. 1993 *Review of Medical Physiology*. Lange Med. Publ. Los Altos.
- Gross, P. M. 1985 The subfornical organ as a model of neurohumoral integration. *Brain Res. Bull.* 15(1):65-70.
- Leonhardt, H., & Lindemann, B. 1974 Surface morphology of the subfornical organ in the rabbit's brain. *Z. Zellforsch.* 146:243-60.
- Mark, M. H., & Farmer, P. M. 1984 The human subfornical organ: An anatomic and ultrastructural study. *Annals of Clin. Lab. Science* 14(5):427-42.
- McManus, J. F. A., & Mowrey, R. W. 1960 *Staining Methods Histologic and Histochemical*. Paul B. Hoeber, Inc., New York.
- Muller, E., & MacLeod, M. 1984 *Neuroendocrine Perspectives*. Elsevier, Amsterdam.
- Naish, J., Boenisch, T., Farnilo, A. J., & Stead, R. H. 1989 *Handbook of Immunochemical Staining Methods*. DAKO Cooperation, Calif.
- Nakajima, Y., Shanta, T. R., & Bourne, G. H. 1968 Histological and histochemical studies on the subfornical organ of the Squairrel monkey. *Histochem. J.* 13:331-45.
- Pfenninger, K., Akert, K., Sandri, C., & Bruppacher, H. 1967 Zum Feinbau des Subfornikalorgans der Katze. III. Nerven und Gliazellen. *Arsch. Neurol. Neurochir. Psychiatr.* 100:232-54.
- Rohr, V. U. 1966 Zum Feinbau des Subfornikalorgans der Katze II. Neurosekretorische Aktivitat. *Z. Zellforsch.* 75:11-34.

- Rudert, H. 1965 Des Subfomikalorgan und Seine Beziehungen zu dem Neurosekretorischen System im Zwischenhim des Frosches. *Z. Zellforsch.* 65:790-804.
- Rudert, H., Schwink, A., & Wetstein, R. 1966 Die Feinstruktur des Subfomikalorgan beim Kanichen. I. Die Blutgefasse. *Z. Zellforsch.* 74:252-70.
- Schinko, I., Rorschneider, I., & Wetstein, R. 1972 Elektronmikroskopische Untersuchungen am Subfomikalorgan der Maus. *Z. Zellforsch.* 123:277-94.
- Stutinsky, F. 1978 The place of neurosecretion in modern neurobiology, *dalam* J. D. Vincent & C. Kordon (eds.): *Cell Biology of Hypothalamic Neurosecretion*. pp. 17-25.
- Weindl, A. 1965 Zur Morphologie und Histochemie von Subfomikalorgan, organum Vasculosum Laminae Terminalis und Area Postrema bei Kanichen und ratte. *Z. Zellforsch.* 67:740-75.
- Weindl, A. 1973 Neuroendocrine aspects of circumventricular organ *dalam* Ganong, W. F. & Martini, L. (eds.): *Frontiers in Neuroendocrinology*., pp. 3-32. Oxford University Press, New York.
- Yamada, H. & Hasunuma, S. 1994 Finer structure of the subfomical organ (intercolumnnar tubercle) of the rat. *Tokyo Med. Dent. Univ.* 1:67-75.
-