

DISTRIBUSI NEURON NITRERJIK PADA TRAKEA CODOT (*Rousettus sp.*)

DISTRIBUTION OF NITRERGIC NERVE OF FRUIT BAT (*Rousettus sp.*) TRACHEA

Dewi Kania Musana¹, Dwi Liliek Kusindarta¹

¹Bagian Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
E-mail: musanakd@ugm.ac.id

ABSTRACT

Fruit bats (*Rousettus sp.*) are flying mammals. Previous studies generally focused in its behavior and its echolocation. This study was to determine innervations of trachea and the distribution of nitreergic nerve on the fruit bat trachea. Five adult fruit bats (33-80 g) were collected in Yogyakarta, Central Java Indonesia. They were deeply anesthetized with 25 mg/kg sodium pentobarbital intraperitoneally. Fruit bats were perfused with NaCl (0.95%) without fixative. Topography and macroscopic structure of trachea innervation were observed. The tracheas were dissected out, opened longitudinally and immersed in fixative (4% formaldehyde) for an hour, then stained with *nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate diaphorase* (NADPH-d) method. The results indicated that the fruit bat trachea was innervated by the recurrent laryngeal nerve branch of the vagus nerve. The recurrent laryngeal nerve passes through dorsocaudal of the subclavian artery. The left recurrent laryngeal nerves branch more caudal than right side. Nitreergic nerves observed in the trachea consist of ganglion, cell bodies and fibers. The shape and size vary depending on the number of cell bodies in the ganglion. Number of cell bodies in the ganglia varies form 1-8 cells.

Key words: trachea, fruit bat, nitreergic nerve, *Rousettus sp.*, NADPH-diaphorase

ABSTRAK

Kelelawar pemakan buah, merupakan mamalia yang dapat terbang. Pada umumnya penelitian lebih difokuskan pada perilaku dan ekolokasinya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui saraf yang menginervasi trakea dan distribusi neuron nitreerjik pada trakea codot (*Rousettus sp.*). Lima ekor codot dewasa dengan berat badan 33-80 g, diperoleh dari Yogyakarta, Jawa Tengah, Indonesia digunakan pada penelitian ini. Tiap codot dianestesi dengan pentobarbital (25 mg/Kg), dipertusi dengan NaCl fisiologis, tanpa fiksatif. Struktur makroskopis dan topografi persarafan trakea diamati. Preparat trakea dibuat dengan fiksasi formaldehide 4% selama 1 jam, dan diwarnai dengan *nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate diaphorase* (NADPH-d). Hasil penelitian menunjukkan bahwa trakea codot diinervasi oleh nervus laringeus rekuren cabang dari nervus vagus. Nervus laringeus rekuren melewati sisi dorsokaudal arteri subklavia kemudian ke arah kranial. Nervus laringeus rekuren kiri dipercabangkan oleh nervus vagus lebih ke kaudal dari pada yang kanan. Saraf nitreerjik trakea codot terdiri dari ganglion nitreerjik, badan sel dan serabut saraf nitreerjik. Bentuk maupun ukuran ganglion bervariasi tergantung jumlah dan bentuk badan sel penyusun ganglion. Jumlah badan sel penyusun ganglion 1-8 sel dengan ukuran bervariasi.

Kata kunci: *Rousettus sp.*, trakea, neuron nitreerjik, NADPH-diaphorase

PENDAHULUAN

Berdasarkan jenis pakannya kelelawar di Indonesia dapat dibagi menjadi dua kelompok besar, yaitu subordo Megachiroptera yang memakan

tumbuhan dan subordo Microchiroptera yang memakan serangga (Suyanto dan Kartikasari, 2001).

Codot (*Rousettus sp.*) termasuk dalam ordo Chiroptera dan tergolong dalam subordo Megachiroptera, familia Pteropodidae dan

subfamilia Pteropodinae (Suyanto, 2001; Payne dkk., 2000).

Kelelawar adalah satu-satunya mamalia yang dapat terbang. Untuk keperluan tersebut diduga memerlukan adaptasi morfologis. Kalong (*Pteropus vampyrus*) mempunyai cincin trakea yang melingkar penuh di sepertiga bagian anterior trakea dan tersusun dari tulang (Kusindarta dkk., 2003). Struktur trakea ini berbeda dengan trakea mamalia lainnya yang mempunyai trakea berbentuk C (terbuka pada sisi dorsal) berupa kartilago. Hal tersebut diduga karena adanya adaptasi morfologi saluran pernafasan pada kalong sebagai hewan terbang (Kusindarta dkk., 2003).

Trakea mamalia diinervasi oleh serabut saraf dari nervus vagus, serangkaian saraf simpatik, dan kumpulan ganglia yang terletak di bagian dorsal (atau membranosa) permukaan trakea yang membantu menginervasi trakea (Chiang dan Gabella, 1986). Saraf ini mempunyai fungsi transmisi yang tergantung pada adanya pembebasan *nitric oxide* (NO) disebut dengan nitroerjik, dan nervus ini diketahui mempunyai peranan dalam mengontrol tekanan otot polos (Toda dan Herman, 2005). *Nitricoxidesynthase* (NOS) immunoreaktif sel-sel dan serabut saraf banyak ditemukan pada sistem saraf trakea kalong (Kusindarta dkk., 2004). *Nitric Oxide* adalah salah satu *inhibitory nonadrenergic noncholinergic* (iNANC) pada otot polos saluran pernafasan (Belvisi dan Bai, 1994), pada trakea marmot (Belvisi dkk., 1991; Li dan Rand, 1991; Fisher dkk., 1996), dan manusia (Belvisi dkk., 1992), yang merupakan modulator endogen. Saraf yang mempunyai fungsi transmisi tergantung pada

pembebasan NO disebut dengan nitroerjik dan nervus ini dikenal mempunyai peranan dalam mengontrol tekanan otot polos (Toda dan Herman, 2005).

Penelitian tentang kelelawar selama ini lebih banyak ditujukan pada sistem ekolokasi Heffner dkk., 2007; 2008, Chiu dkk., 2009; Fontain dan Peremans, 2009), kebiasaan hidup dan tingkah lakunya (Ghose dkk., 2009), serta pakan (Surlykke dan Kalko, 2008), sedangkan penelitian mengenai anatominya masih jarang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui morfologi saraf yang menginervasi trakea dan mengetahui keberadaan serta distribusi neuron nitroerjik pada trakea codot (*Rousettus sp.*).

MATERI DAN METODE

Lima ekor Codot (*Rousettus sp.*) dengan berat badan antara 33-80 g, jantan dan betina diperoleh dari Yogyakarta digunakan dalam penelitian ini. Tiap Codot (*Rousettus sp*) dianestesi dengan 25 mg/Kg pentobarbital secara intraperitoneal. Setelah rongga dada dibuka dilakukan perfusi dengan NaCl fisiologis (0,9 % NaCl), tanpa fiksatif. Trakea diambil dan dibersihkan di bawah mikroskop stereo dan dibuka dengan memotong membujur di tengah-tengah kartilago trakea. Fiksasi dilakukan dengan *formaldehyde* 4% selama 1 jam. Lembaran trakea dibilas dengan *Posphate Buffer Saline* (PBS) pH: 7,4 tiga kali. Selanjutnya trakea diwarnai dengan *Nicotinamide Adenin Dinucleotide Phosphate-diaphorase* (NADPH-d). Trakea diinkubasi 5-6 jam pada suhu 37°C dalam larutan pewarnaan *Nicotinamide Adenin Dinucleotide Phosphate-*

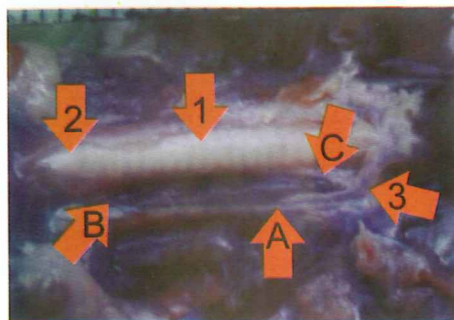
diaphorase (NADPH-d) *Nicotinamide Adenin Dinucleotide Phosphate* (β -NADPH), 0,15 mg/ml *Nitroblue tetrazolium* dan 0,3% *Triton X* dalam 100 mM *Tris HCl*). Intensitas pewarnaan diperiksa tiap 1 jam untuk mengetahui waktu inkubasi yang paling optimum. Selanjutnya trakea dibilas dengan PBS dan dilekatkan pada objek glass dengan *glycerin* dan ditutup dengan *cover glass slide*. *Slide* diamati dibawah mikroskop cahaya dan difoto menggunakan kamera digital.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Trakea codot dinervasi oleh sistem saraf yang berasal dari nervus vagus. Pada bagian anterior, nervus vagus mempercabangkan nervus laringeus superior yang menginervasi larinks dan trakea bagian anterior. Setelah melewati arteri subklavia, nervus vagus akan mempercabangkan nervus laringeus rekuren yang menuju ke anterior di sepanjang trakea yang akan menginervasi keseluruhan trakea dan sebagian esophagus (Gambar 1). Menurut Baluk dan Gabella (1989), cabang-cabang nervus laringeus rekuren memasuki dinding trakea dan esofagus membawa akson sentral dari serabut aferen vagus, serabut preganglionik parasimpatik ke ganglia trakea dan esofagus, dan

serabut postganglionik simpatik.

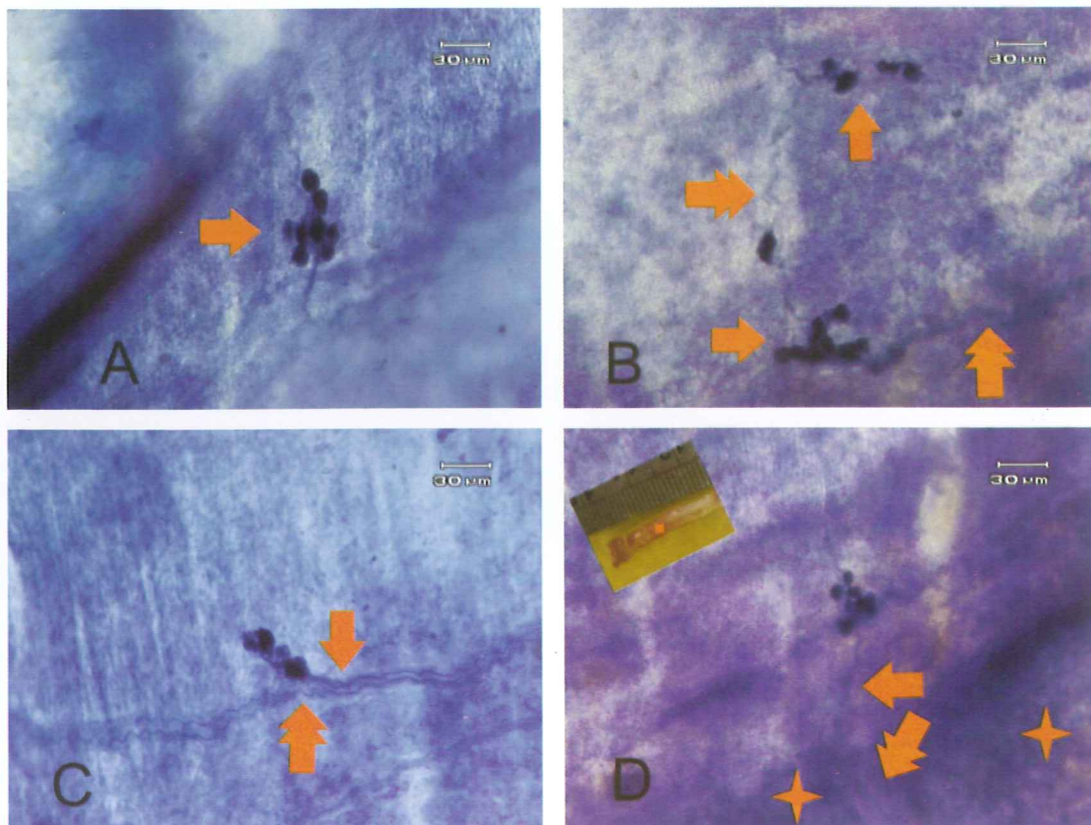
Nervus vagus pada codot (*Rousettus sp.*) berjalan bersama dengan arteri karotis komunis, mempercabangkan nervus laringeus superior yang menginervasi larinks dan mempercabangkan nervus laringeus rekuren melewati sisi dorsokaudal arteri subklavia, seperti juga pada musang (Baker dkk., 1986) dan anjing (Miller dkk., 1964). Dibanding nervus laringeus rekuren kanan, nervus laringeus rekuren kiri dipercabangkan lebih posterior disekitar aorta. Pada marmut, nervus laringeus rekuren kiri dan kanan tidak simetris, dimana nervus laringeus rekuren kiri lebih posterior 20% dibanding yang kanan (Baluk dan Gabella, 1989). Saraf yang menginervasi trakea berasal dari nervus laringeus rekuren, seperti pada anjing (Miller dkk., 1964) dan marmut (Baluk dan Gabella, 1989), berbeda dengan trakea musang yang berasal dari nervus pararekuren yang merupakan cabang dari nervus laringeus rekuren dengan arah berlawanan (Baker dkk., 1986). Nervus laringeus rekuren membersit disepanjang dorsolateral trakea dari kaudal ke kranial sampai laring dan melepaskan cabang-cabangnya di muskulus trakealis dan esofagus. Pada anjing nervus laringeus rekuren kiri lebih banyak mensuplai esofagus daripada trakea (Miller dkk., 1964).



Gambar 1. Gambaran makroskopik saraf yang menginervasi trakea. 1. Trakea codot, 2. laryng, 3. arteri subclavia, A. nervus vagus, B. nervus laringeus rekuren, C. nervus laringeus. Bar: 1 cm

Ganglion nitrorejik pada trakea codot terdapat di otot polos bagian dorsal trakea. Distribusi ganglion tidak merata di sepanjang otot polos dengan jumlah yang sedikit. Serabut saraf nitrorejik ditemukan pada keseluruhan 5 trakea codot yang diperiksa, sedangkan badan sel saraf dan ganglion hanya ditemukan pada 3 trakea. Jumlah badan sel yang menyusun tiap ganglion juga bervariasi antara 1 sampai 8 badan sel tiap ganglion (Gambar 2a,b). Antar ganglion dihubungkan oleh serabut saraf, sehingga ganglion yang satu dengan yang lain saling terhubung. Serabut saraf tersebut tidak selalu menghubungkan tiap ganglion yang berdekatan, beberapa serabut saraf menghubungkan antar

ganglion yang berjauhan dengan melintasi ganglion di dekatnya tanpa terhubung dengan ganglion terdekatnya tersebut (Gambar 2c). Ganglion saraf nitrorejik tidak ditemukan di cincin trakea maupun membran di antara cincin trakea, namun serabut saraf nitrorejik ditemukan disana. Serabut saraf tersebut berasal dari ganglion yang ada di otot polos di dorsal trakea yang memanjang hingga jaringan di antara cincin trakea (Gambar 2d). Menurut Hassal dkk., 1993. Ganglion saraf pada trakea marmut terletak diatas otot polos trakealis dan didominasi oleh ganglia kecil yang terdiri dari 2-18 badan sel yang tersebar relatif rata di sepanjang muskulus trakealis.



Gambar 2. Ganglion nitrorejik di muskulus trakealis. A. Ganglion nitrorejik yang terdiri dari 8 badan sel (panah). B. Variasi ukuran dan jumlah badan sel penyusun ganglion (panah), serabut saraf yang menghubungkan antar ganglion (panah ganda). C. Serabut saraf yang keluar dari ganglion (panah), serabut saraf tidak masuk ke ganglion (panah ganda). D. serabut saraf (panah) yang menginervasi membran diantara kartilago (panah ganda) yang diapit dua kartilago (bintang).

Ganglion nitrerjik pada trakea codot tersebar tidak merata di sepanjang muskulus trakealis dengan bentuk bervariasi dan jumlah badan sel sekitar 1-8 sel. Antar ganglion dihubungkan oleh serabut saraf nitrerjik sehingga antar ganglion saling terhubung. Pada cincin trakea maupun membran antar cincin trakea tidak ditemukan ganglion nitrerjik, namun serabut nitrerjik ditemukan dalam jumlah sedikit.

Aktivitas NOS tidak ditemukan pada ganglia trakea anjing dan kucing (Fischer dkk., 1996). Pada tikus, NOS dapat diamati tetapi konsentrasi yang terlihat pada trakea sangat sedikit, inipun hanya dapat terlihat dengan pewarnaan imunohistokimia setelah menggunakan metode luas (Brouns dkk., 2002). Keberadaan NOS pada neuron ganglionik saluran pernafasan kalong dapat dideteksi dengan pewarnaan iminohistokimia konvensional tanpa perluasan hasil reaksi (Kusindarta, 2003). Pada marmut, NO merupakan inhibitor penting untuk neurotransmitter *nonadrenergic noncholinergic* (NANC) dan berperan penting dalam relaksasi otot polos trakea dengan modulasi transmisi kolinergik (Belvisi dkk., 1991, 1993; Li dan Rand, 1991). Keberadaan saraf nitrerjik pada trakea codot dimungkinkan mempunyai pengaruh terhadap relaksasi otot polos trakea yang membantu proses pernafasan.

Hasil penelitian menyimpulkan bahwa trakea codot diinervasi oleh nervus vagus yang mempercabangkan nervus laringeus rekuren kanan dan kiri yang melewati sisi dorsokaudal arteri subklavia. Nervus laringeus rekuren kiri dipercabangkan oleh nervus vagus pada titik yang lebih caudal. Saraf nitrerjik yang teramati pada trakea codot terdiri dari ganglion nitrerjik, badan sel

dan serabut saraf nitrerjik. Bentuk maupun ukuran ganglion bervariasi tergantung jumlah dan bentuk badan sel penyusun ganglion, dengan jumlah badan sel penyusun ganglion antara 1-8 sel dengan ukuran bervariasi. Pada codot, saraf nitrerjik diduga berperan pada relaksasi oto polos dan sistem sensorik pada trakea.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini sebagian didanai dari dana DIPA UGM tahun 2005. Penulis menyampaikan terimakasih kepada Riza Zahru Firdaus dan Amanda Rasul atas bantuan teknisnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Belvisi, M.G., Bai, T.R. 1994. Inhibitory nonadrenergic noncholinergic innervation of airways smooth muscle: role of the nitric oxid, Dalam Raeburn, D., Giembyez, M.A., Airways Smooth Muscle: Structure, Innervation and Neurotransmission, *Birkhauser verlag*, Basel:143-156.
- Belvisi, M.G., Stretton, D., Barnes, P.J. 1991. Nitric oxid as an endogenous modulator of cholinergic neurotransmission in guinea pig airways, *Eur. J. Morph.*, 198: 219-221.
- _____. 1992. Nitric oxid is the endogenous neurotransmitter of bronchodilator nerves in human, *Eur. J. Morph.* 210: 221-222.
- Brouns, I., Van Genechten, J., Scheuermann, D. W., Timmermans, J. P., Andriansen, D. 2002. Neuroepithelial bodies: Morphologic substrate for the link between neuronal nitric oxide and sensitivity to airway hypoxia? *J. Comp. Neurol.* 449: 343-354.
- Chiang, C. H., Gabella, G. 1986. *Quantitative Study of The Ganglion Neurons of The Mouse Trachea*, Department of Anatomy, University College

- London, London, United Kingdom. 246: 243-252.
- Chiu C, Xian W, Moss, C.F. 2009. Adaptive echolocation behavior in bats for the analysis of auditory scenes. *J Exp Biol*. 212: 1392-1404.
- Fisher, A., Mayer, B., Kumer, W. 1996. Nitric oxid synthetase in vagal sensory and sympathetic neurons innervating the guinea pig, *J. Auton. Nerv. Sys.* 56: 157-260.
- Fontaine B, Peremans, H. 2009. Bat echolocation processing using first-spike latency coding. *Neural Netw.*
- Ghose K., Tribblehorn J.D., Bohn K., Yager D.D., Moss C.F. 2009. Behavioral responses of big brown bats to dives by praying mantises. *J Exp Biol*. 212: 693-703.
- Hassal, C.J.S., Saffrey, M.J., Burnstock, G. 1993. Expression of NADPH-diaphorase activity by guinea-pig paratracheal neurones, *NeuroReport* 4: 49-52.
- Heffner R.S., Koay G., Heffner H.E. 2007. Sound-localization acuity and its relation to vision in large and small fruit-eating bats: I. Echolocating species, *Phyllostomus hastatus* and *Carollia perspicillata*. *Hear Res.* 234: 1-9.
- _____. 2008. Sound localization acuity and its relation to vision in large and small fruit-eating bats: II. Non-echolocating species, *Eidolon helvum* and *Cynopterus brachyotis*. *Hear Res.* 241: 80-86.
- Kusindarta, D.L., Wijayanto, H., Atoji, Y. 2003. Intrinsic innervation in the tracheal smooth muscle of the large flying fox (*Pteropus vampyrus*): an immunohistochemical study, *Eur. J. Morph.* 4/(3/4): 111-116.
- Li, C.G., Rand, M.J. 1991. Evidence that part of the NANC relaxant response of guinea-pig trachea to electric field stimulation is mediated by nitric oxid, *Br. J. Pharmacol.* 102: 91-94.
- Miller, E.M., Christensen, C.G., Evans, E.H. 1964. *Anatomy of The Dog*, W. B. Saunders Company, Philadelphia, London.
- Payne, J., Francis, C.M., Philips, K., Kartikasari, S.N. 2000. *Panduan Lapangan Mamalia Di Kalimantan, Sabah, Serawak, dan Brunei Darussalam*, Wildlife Conservation Society, The Sabah Society, WWf Malaysia (Edisi Bahasa Indonesia). 177: 204-205.
- Suyanto, A., Kartikasari, S.N. 2001. *Kelelawar di Indonesia*, Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi LIPI, Balai Penelitian Botani, Herbarium Bogoriense, Bogor Indonesia: 7-11.
- Szabo, C. 1995. *Alterations in nitric oxide production in various forms of circulatory shock*, *New Horiz.* 3: 2-32.
- Toda, N., Herman, G. A. 2005. Gastrointestinal function regulation by nitroergic efferent nerves, *Pharmacol. Rev.* 57: 315-338.