

**PENUNTUN PRAKTIKUM
FARMAKOLOGI**



Nama Mahasiswa	:	
NIM	:	
Semester/Kelas	:	
Dosen	:	

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN DAN
TEKNOLOGI UNIVERSITAS
BINAWAN
JAKARTA
2023**

VISI DAN MISI

PROGRAM STUDI S1 FARMASI FAKULTAS ILMU KESEHATAN DAN TEKNOLOGI UNIVERSITAS BINAWAN

Visi

“Menjadi Prodi Farmasi Unggulan di Indonesia pada tahun 2025 dengan meluluskan tenaga teknis kefarmasian yang berakhlak dan dapat bersaing secara nasional maupun global”

Misi

1. Menyelenggarakan pendidikan kefarmasian yang berfokus kepada obat bahan alam, klinis komunitas dan pharmapreneur sesuai dengan perkembangan IPTEK agar dapat bersaing secara nasional dan global.
2. Mengembangkan penelitian kefarmasian khususnya dalam bidang obat bahan alam, klinis komunitas dan pharmapreneur.
3. Melakukan pengabdian masyarakat melalui pendekatan farmasi yang berorientasi pada obat bahan alam, klinis komunitas, dan pharmapreneur.
4. Melaksanakan perintisan dan pengembangan jejaring (net working) kemitraan di bidang kefarmasian pada tingkat nasional dan internasional.
5. Menghasilkan lulusan yang bertakwa dan berbudi pekerti luhur serta terampil dalam dunia kefarmasian.

LEMBAR PENGESAHAN

Penuntun Praktikum Toksikologi
Program Studi S1 Farmasi Oleh:

apt. Bunga Destiyana AP, M. Farm.
apt. Nurraya Lukitasari, M. Farm.
(Dosen Pengampu Praktikum)

Jakarta, 02 Maret 2023

Menyetujui,

apt. Ernie Halimatushadyah, M.Farm
(Ka. Prodi Farmasi)

Mengetahui

Dr. Mia Srimati S.Gz., M.Gz
(Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan dan Teknologi)

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, atas rahmat dan karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan Penuntun Praktikum Farmakologi II bagi mahasiswa Farmasi BINAWAN.

Buku ini disusun dengan maksud agar mahasiswa dapat melaksanakan praktikum dengan baik dan mudah. Praktikum Farmakologi II dimaksudkan untuk mengimbangi kemampuan mahasiswa dalam menghadapi perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi. Agar terjadi proses perkuliahan yang mengarah pada peningkatan skill mahasiswa dalam menghadapi tantangan, maka sudah selayaknya dilakukan pendalaman materi yang terfokus pada realitas di lapangan.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan yang terdapat dalam buku ini, kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan dan semoga buku ini bermanfaat bagi semua pihak.

Jakarta, Maret 2022

Penyusun

TATA TERTIB PRAKTIKUM FARMAKOLOGI

1. Praktikum diadakan sesuai dengan yang telah ditetapkan.
2. Praktikan harus hadir tepat pada waktunya, keterlambatan lebih dari 15 menit tidak dibenarkan mengikuti praktikum.
3. Sebelum memasuki ruangan praktikum setiap praktikan harus sudah memakai jas praktikum.
4. Setiap praktikan diharuskan mengecek alat-alat yang tersedia di lemari mejanya sesuai dengan daftar yang ada.
5. Setiap kehilangan atau kerusakan harus dilaporkan kepada petugas laboratorium dan ini menjadi tanggung jawab praktikan yang bersangkutan.
6. Peralatan seperti: serbet, wadah-wadahan, gunting, lem, penara, pipet, spatel film (sudip), dan lain-lain harus disediakan sendiri oleh praktikan.
7. Praktikan wajib menjaga ketertiban laboratorium selama praktikum berlangsung antara lain:
 - a. menjaga kebersihan
 - b. tidak dibenarkan berbicara sesama praktikan dan meminjam alat-alat tanpa seijin dosen.
 - c. tidak dibenarkan meninggalkan laboratorium tanpa seijin dosen.

Lab. Farmakologi

I. PEMILIHAN HEWAN COBA

Untuk mendapatkan penelitian ilmiah yang baik, maka semua aspek dalam protokol penelitian harus direncanakan dengan seksama, termasuk dalam pemilihan hewan percobaan, penting untuk memastikan bahwa penggunaan hewan percobaan merupakan pilihan terakhir dimana tidak terdapat cara lain yang bisa menggantikannya.

Rustiawan menguraikan beberapa alasan mengapa hewan percobaan tetap diperlukan dalam penelitian khususnya di bidang kesehatan, pangan dan gizi antara lain:

1. keragaman dari subjek penelitian dapat diminimalisasi,
2. variabel penelitian lebih mudah dikontrol,
3. daur hidup relatif pendek sehingga dapat dilakukan penelitian yang bersifat multigenerasi,
4. pemilihan jenis hewan dapat disesuaikan dengan kepekaan hewan terhadap materi penelitian yang dilakukan,
5. biaya relatif murah,
6. dapat dilakukan pada penelitian yang berisiko tinggi,
7. mendapatkan informasi lebih mendalam dari penelitian yang dilakukan karena kita dapat membuat sediaan biologi dari organ hewan yang digunakan,
8. memperoleh data maksimum untuk keperluan penelitian simulasi, dan,
9. dapat digunakan untuk uji keamanan, diagnostik dan toksisitas

Berdasarkan tujuan penggunaan hewan uji, maka hewan uji dapat diklasifikasikan menjadi :

1. Exploratory (penyelidikan) Hewan Uji ini digunakan untuk memahami mekanisme biologis, apakah termasuk mekanisme dasar yang normal atau mekanisme yang berhubungan dengan fungsi biologis yang abnormal.
2. Explanatory (penjelasan) Hewan Uji ini digunakan untuk memahami lebih banyak masalah biologis yang kompleks.
3. Predictive (perkiraan) Hewan Uji ini digunakan untuk menentukan dan mengukur akibat dari perlakuan, apakah sebagai cara untuk pengobatan penyakit atau untuk memperkirakan tingkat toksisitas suatu senyawa kimia yang diberikan.

Agar tujuan dari percobaan tercapai dengan baik, secara efektif dan efisien maka didalam memilih hewan percobaan penting untuk mempertimbangkan beberapa faktor berikut :

- a. Apakah hewan percobaan tersebut memiliki fungsi fisiologi, metabolik dan perilaku serta

proses penyakit yang sesuai dengan subyek manusia atau hewan lain dimana hasil penelitian tersebut akan digunakan

- b. Apakah dari sisi karakteristik biologi maupun perilaku hewan tersebut cocok dengan rencana penelitian atau percobaan yang dilakukan (misalnya cara penanganan, lama hidup, kecepatan berkembang biak, tempat hidup dsb.). hal ini sangat berguna dalam pelaksanaan penelitian atau percobaan dengan hewan
- c. Apakah tinjauan kritis dari literatur ilmiah menunjukkan spesies tersebut telah memberikan hasil yang terbaik untuk penelitian sejenis atau termasuk hewan yang paling sering digunakan untuk penelitian yang sejenis.
- d. Apakah spesimen organ atau jaringan yang akan digunakan dalam penelitian itu mencukupi pada hewan tersebut dan dapat diambil dengan prosedur yang memungkinkan.
- e. Apakah hewan yang akan digunakan dalam penelitian memiliki standar yang tinggi baik secara genetik maupun mikrobiologi.

Respon yang digunakan oleh suatu senyawa sering bervariasi karena jenis yang berbeda dan hewan yang sama. Oleh karena itu hewan uji yang akan digunakan dipilih berdasarkan umur, jenis kelamin, berat badan, Kondisi kesehatan dan keturunan. Hewan uji yang digunakan harus selalu berada dalam kondisi dan tingkat kesehatan yang baik, dalam hal ini hewan uji yang digunakan dikatakan sehat bila pada periode pengamatan bobot badannya bertambah tetap atau berkurang tidak lebih dari 10% serta tidak ada kelainan dalam tingkah laku dan harus diamati satu minggu dalam laboratorium atau pusat pemeliharaan hewan sebelum ujinya berlangsung.

Selain kriteria yang disebutkan diatas maka hewan uji sedapat mungkin bebas dari mikroorganisme patogen, karena adanya mikroorganisme patogen pada tubuh hewan sangat mengganggu jalannya reaksi pada pemeriksaan penelitian, sehingga dari segi ilmiah hasilnya kurang dapat dipertanggungjawabkan. Oleh karenanya, berdasarkan tingkatan kontaminasi mikroorganisme patogen, hewan percobaan digolongkan menjadi hewan percobaan konvensional, specified pathogen free (SPF) dan gnotobiotic. Selain itu hewan sebaiknya menggunakan hewan yang mempunyai kemampuan dalam memberikan reaksi imunitas yang baik. Hal ini ada hubungannya dengan persyaratan pertama.

Dalam penelitian kesehatan yang memanfaatkan hewan coba, juga harus diterapkan prinsip 3 R dalam protokol penelitian, yaitu: replacement, reduction, dan refinement Replacement adalah

banyaknya hewan percobaan yang perlu digunakan sudah diperhitungkan secara seksama, baik dari penelitian sejenis yang sebelumnya, maupun literatur untuk menjawab pertanyaan penelitian dan tidak dapat digantikan oleh makhluk hidup lain seperti sel atau biakan jaringan. Replacement terbagi menjadi dua bagian, yaitu: relatif (sebisa mungkin mengganti hewan percobaan dengan memakai organ/jaringan hewan dari rumah potong atau hewan dari ordo lebih rendah) dan absolut (mengganti hewan percobaan dengan kultur sel, jaringan, atau program komputer).

Reduction diartikan sebagai pemanfaatan hewan dalam penelitian seminimal mungkin, tetapi tetap mendapatkan hasil yang optimal. Jumlah minimal biasa dihitung menggunakan rumus Frederer yaitu $(n-1)(t-1) > 15$, dengan n adalah jumlah hewan yang diperlukan dan t adalah jumlah kelompok perlakuan. Kelemahan dari rumus ini adalah semakin sedikit kelompok penelitian, semakin banyak jumlah hewan yang diperlukan, serta sebaliknya. Untuk mengatasinya, diperlukan penggunaan desain statistik yang tepat agar didapatkan hasil penelitian yang sah

Refinement adalah memperlakukan hewan percobaan secara manusiawi (humane), memelihara hewan dengan baik, tidak menyakiti hewan, serta meminimalisasi perlakuan yang menyakitkan sehingga menjamin kesejahteraan hewan coba sampai akhir penelitian.

Didalam penelitian, ada beberapa hewan uji yang sering digunakan, yakni tikus, kelinci, dan primata. Permasalahannya adalah tidak sembarang hewan uji bisa digunakan untuk penelitian. Hewan hewan uji tersebut harus memenuhi beberapa kriteria sehingga hewan uji dapat dikatakan sesuai untuk fungsi atau penyakit yang di jadikan obyek penelitian kita. Berikut beberapa spesies hewan uji beserta karakteristiknya serta seringnya peneliti menggunakannya.

1. Rodent (binatang pengerat)

Hewan pengerat yang digolongkan sebagai tikus, telah digunakan sebagai hewan laboratorium selama lebih dari 100 tahun. Beberapa, jenis tikus telah mengalami perubahan genetik untuk meminimalkan dan mengendalikan variabel asing yang dapat mengubah hasil penelitian dan untuk keperluan penelitian. tikus juga merupakan hewan yang reproducible sehingga tersedia dalam jumlah yang cukup untuk penelitian yang memerlukan banyak hewan coba. Terdapat berbagai macam jenis tikus diantaranya :

- a. Tikus Biobreeding Tikus ini merupakan tikus rentan terkena DM tipe 1, sehingga tikus ini banya digunakan dan banyak berperan dalam penemuan obat DM tipe 1
- b. Tikus Putih Galur Sprague Dawley Keuntungan utama pada hewan ini adalah ketenangan

dan kemudahan penanganan (jinak), Berat dewasa antara 250-300 g untuk betina, dan 450 – 520 g untuk jantan. Usia hidup antara 2, 5 – 3, 5 tahun. Ekornya lebih panjang daripada tikus galur wistar, berkembang biak dengan cepat. Tikus ini paling banyak digunakan dalam penelitian – penelitian biomedis seperti toksikologi, uji efikasi dan keamanan, uji reproduksi, uji behavior/perilaku, aging, teratogenik, onkologi, nutrisi, dan uji farmakologi lainnya. Contoh contoh penelitian yang dilakukan antara lain Studi infeksi maternal dan fetal, Studi efek diet pre-natal tinggi garam pada keturunan, studi efek status seks dan hormonal pada stress yang diinduksi kerusakan memori, Studi gen osteocalcin spesifik tulang pada tikus, dan Studi eksitabilitas hippocampus selama siklus estrus pada tikus. Tikus ini pertama dihasilkan oleh peternakan Sprague Dawley- (kemudian menjadi Sprague Dawley-Animal Perusahaan) di Madison, Wisconsin pada tahun 1925.

- c. Tikus Putih Galur Wistar Tikus galur wistar memiliki bobot yang lebih ringan dan lebih galak daripada galur Sprague dawley. Tikus ini banyak digunakan pada penelitian toksikologi, penyakit infeksi, uji efikasi, dan aging.
- d. Tikus Mungil Alias Mencit Mencit berbeda dengan tikus, dimana ukurannya mini, berkembang biak sangat cepat, dan 99% gennya mirip dengan manusia. Oleh karena itu mencit sangat representative jika digunakan sebagai model penyakit genetic manusia (bawaan). Selain itu, mencit juga sangat mudah untuk di rekayasa genetiknya sehingga menghasilkan model yang sesuai untuk berbagai macam penyakit manusia. Selain itu, mencit juga lebih menguntungkan dalam hal kemudahan penanganan, tempat penyimpanan, serta harganya yang relatif lebih murah.

2. Kelinci

Kelinci juga merupakan hewan uji yang sering digunakan selain tikus. Contohnya kelinci albino Hewan ini biasanya digunakan untuk uji iritasi mata karena kelinci memiliki air mata lebih sedikit daripada hewan lain dan sedikitnya pigmen dimata karena warna albinonya menjadikan efek yang dihasilkan mudah untuk diamati. Selain itu, kelinci juga banyak digunakan untuk menghasilkan antibody poliklonal.

Body Condition Scoring (BCS)

Komite Penanganan Hewan Universitas McGill (UACC) merekomendasikan penggunaan Penilaian Kondisi Tubuh (BCS) untuk menilai endpoint klinis hewan. BCS merupakan penilaian yang cepat, non-invasif dan efektif dalam menilai kondisi fisik hewan. Dalam banyak kasus, BCS adalah titik akhir klinis yang lebih baik daripada berat badan. Penggunaan berat badan saja tidak dapat membedakan antara lemak tubuh atau simpanan otot. Berat badan hewan yang kurang dapat tertutupi oleh kondisi abnormal (misalnya pertumbuhan tumor, akumulasi cairan ascetic, dan pembesaran organ) atau pada kondisi normal (misalnya kehamilan). selain itu jika suatu hewan telah kehilangan berat badan lebih dari 20% namun berdasarkan penilaian BCS kondisinya masih di nilai 3 (BCS 3) maka mungkin belum perlu dilakukan euthanasia segera. Dengan demikian, BCS adalah penanda yang lebih komprehensif dan akurat untuk kesehatan hewan dibandingkan kehilangan berat badan. Nilai BCS yang kurang dari 2 biasanya akan dianggap sebagai titik akhir klinis. Endpoint klinis lain juga dapat dilaporkan seperti penurunan perilaku eksplorasi, keengganan untuk bergerak (penurunan penggerak / mobilitas), postur membungkuk, piloereksi (rambut berdiri), dehidrasi sedang hingga berat (mata cekung, lesu), nyeri tak henti-hentinya (misalnya distress vokalisasi).

A. Tujuan Percobaan

Untuk mengukur tingkat kesehatan hewan uji mencit (*mus musculus*) dengan metode BCS (Body Condition Scoring)

B. Prinsip Percobaan

Pengukuran kesehatan mencit dengan meraba bagian tulang sacroiliac (tulang antara tulang belakang hingga ke tulang kemaluan) dengan menggunakan jari dan mencocokkannya dengan nilai BSC

C. Bahan dan Alat

1. Sarung Tangan
2. Kandang Mencit
3. Alat pelidung diri
4. 5 ekor mencit jantan, galur lokal dengan berat badan 20 g- 30 g berumur antara 6 – 8 minggu

D. Prosedur Pengerjaan

1. Siapkan 5 ekor mencit
2. Letakkan satu ekor mencit di atas kandang yang terbuat dari kawat
3. Biarkan mencit dalam posisi istirahat
4. Amatilah kondisi tulang belakang mencit hingga ke tulang dekat kemaluan (bokong)
5. Secara perlahan-lahan sentulah (rabalah) bagian tulang belakang hingga ke tulang bokong
6. Catatlah hasil pengamatan dan perabaan serta ulangi untuk 4 mencit yang lain

HASIL PENGAMATAN

1. Data dan hasil pengamatan pada mencit

No Mencit	Berat Badan	Hasil	
		Pengamatan	Perabaan
1			
2			
3			
4			
5			

Cara menilai Body Condition Scoring (BCS)



BCS Nilai 1- Mencit kurus
Tulang-tulang tubuh sangat jelas kelihatan. Bilamana diraba, tidak terasa adanya lemak atau daging. Tampak atas juga kelihatan sekali bagian-bagian tubuhnya tidak berisi lemak atau daging.



BCS Nilai 2- Mencit di bawah kondisi standart
Tikus tampak kurus. Tulang-tulang masih kelihatan jelas, namun bilamana diraba masih terasa adanya daging atau lemak. Tampak atas sudah tidak terlalu berlekuk lekuk, agak berisi. Tulang pelvic dorsal dapat langsung teraba,



BCS Nilai 3- Mencit dalam kondisi yang baik
Tubuhnya tidak tampak tonjolan tulang, namun bilamana diraba cukup mudah merasakan adanya tulang-tulang. Tampak atas, biasanya sudah lebih lurus tampak berisi. Tulang pelvic dorsal sedikit teraba



BCS Nilai 4- Mencit di atas kondisi standart
Tidak tampak adanya tonjolan tulang-tulang dan bilamana diraba agak sulit merasakan tulang karena tebalnya timbunan lemak dan daging. hewan keliharaan berisi dan tampak juga lipatan-lipatan lemak dibawah kulit.



BCS Nilai 4- Mencit obese
Sudah sangat sulit meraba tulang-tulang akibat timbunan lemak dan daging yang sangat tebal.

II. PENANGANAN HEWAN PERCOBAAN

Pada uji farmakologi suatu sediaan dilakukan uji praklinis dan uji klinik dimana uji praklinis dilakukan pada hewan percobaan seperti mencit (*Mus musculus*), tikus (*Rattus norvegicus*), kelinci (*Oryctolagus cuniculus*), marmot (*Carvia parcellus*) dan lain sebagainya, sementara uji klinik dilakukan pada manusia.

Pemanfaatan hewan percobaan demi pengembangan ilmu dan eknologi semakin meningkat. Pemilihan hewan percobaan jenis apa yang akan digunakan, tentu sangat tergantung pada tujuan penelitian dan uji yang akan dilakukan. Pada dasarnya pemilihan hewan percobaan harus didasarkan pada persamaan atau kedektan ciri dan sifat hewan percobaan dengan manusia, pemilihan hewan percobaan juga didasarkan pada kemudahan mendapatkan dan pemeliharannya.

Tujuan :

Setelah menyelesaikan praktikum ini, mahasiswa diharapkan dapat mengetahui

- a. Jenis-jenis hewan percobaan
- b. Cara memegang dan menimbang hewan percobaan
- c. Cara memperlakuan hewan percobaan di kandang
- d. Cara memberi kode hewan percobaan

Bahan dan Alat :

- a. Hewan percobaan: mencit jantan 5 ekor, tikus jantan 5 ekor, kelici 5 ekor
- b. Kandang mencit, tikus da kelinci
- c. Spidol permanen
- d. Sarung tangan
- e. Timbangan hewan

Prosedur Pengerjaan

a. Memegang Hewan Percobaan

1. Mencit

Pegang ekor mencit dengan tangan kanan pada daerah sekitar 3-4 cm dari pangkal ekor. Sembari tetap memegang ekor, mencit ditaruh di tempat dengan permukaan kasar misalnya kawat bagian atas kendang. Tarik sedikit ekornya, kemudian pegang kulit kuduknya dengan ibu jari dan jari telunjuk tangan kiri. Kelingking digunakan untuk mempererat pegangan dengan menempatkan ekor mencit diantara kelingking dan jari manis tangan kiri. Kemudian mencit diangkat ke timbangan.

2. Tikus

Pegang tikus dengan cara menggenggamnya pada daerah baru dengan ibu jari berada pada leher dibawah dagu dan telapak tangan berada di daerah punggung tikus. Empat jari lainnya melingkar pada bagian perut. Posisi jari ini diperkuat dengan menempatkan ibu jari pada leher. Jika tikus terlalu besar, perlu dibantu dengan satu tangan lain untuk memegang tikus pada bagian punggungnya. Kemudian tikus diangkat ke timbangan.

3. Kelinci

Untuk mengeluarkan kelinci dari kendang, genggam kedua telinga kelinci dan bagian yang longgar pada tengkuknya, sementara tangan yang lain menahan badan dari bawah perut dan membiarkan kaki belakang bebas. Setelah kelinci berada diluar kendang, dekap kelinci kearah tubuh. Kemudian kelinci diangkat ke timbangan.

b. Memberi Kode pada Hewan Percobaan

Pegang ujung ekor mencit dengan tangan kanan dan biarkan kaki depan berpaut pada kawat bagian atas kendang. Tandai ekor mencit menggunakan spidol permanen. Tanda dapat berupa garis melintang atau sejajar nomor urutan hewan percobaan.

HASIL PENGAMATAN

Tanggal praktek :

Data pengamatan :

Mencit	Kode	Berat Badan (Kg)

Tikus	Kode	Berat Badan (Kg)

Paraf

III. RUTE PEMBERIAN OBAT

Rute pemberian obat merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi efek obat, karena karakteristik lingkungan fisiologis anatomi dan biokimia yang berbeda pada daerah kontak mula obat dan tubuh. Karakteristik ini berbeda karena jumlah suplai darah berbeda, struktur anatomi dari lingkungan kontak antara obat-tubuh yang berbeda, enzim-enzim fisiologis yang terdapat di lingkungan tersebut juga berbeda. Hal-hal ini menyebabkan bahwa jumlah obat yang dapat mencapai lokal kerjanya dalam jangka waktu tertentu akan berbeda, tergantung dari rute pemberian obat.

Tujuan :

Setelah menyelesaikan praktikum ini, mahasiswa diharapkan :

- a. Mengetahui teknik-teknik pemberian obat melalui berbagai rute pemberian obat
- b. Mengevaluasi efek yang timbul akibat pemberian obat yang sama melalui rute yang berbeda
- c. Dapat menyatakan beberapa konsekuensi praktis dari pengaruh rute pemberian obat terhadap efeknya
- d. Mengetahui manifestasi berbagai obat diberikan

Bahan dan Alat :

- a. Hewan percobaan: mencit jantan 5 ekor
- b. Obat yang diberikan: diazepam, dosis 25 mg/kg bb
- c. Kepekatan larutan obat 3,5%
- d. Alat suntik, jarum oral

Prosedur Pengerjaan :

a. Rute pemberian obat secara oral

Pemberian bahan uji secara oral dilakukan menggunakan alat suntik yang berjarum tumpul sedikit membendol pada ujungnya dan dibuat agak bengkok melengkung. Jarum/kanula dimasukkan ke dalam mulut perlahan-lahan, melewati esophagus dan kira-kira sampai di lambung. Setelah yakin jarum sudah sampai di lambung baru bahan uji diinjeksikan.

b. Rute pemberian obat secara sub-kutan

Penyuntikkan dilakukan di bawah kulit didaerah tengkuk

c. Rute pemberian secara intra vena

Penyuntikkan dilakukan pada vena lateralis ekor. Diletakkan hewan pada wadah tertutup sedemikian rupa sehingga mencit tidak leluasa untuk bergerak dengan ekor menjulur keluar. Hewan secara keseluruhan dibuat terlentang. Hangatkan ekor dengan mencelupkan ke dalam air hangat (40°-50°C). Dengan tangan kiri ekor mencit dipegang dalam posisi lurus dan tangan kanan memegang alat suntuk. Secara perlahan jarum dimasukkan pada kulit disamping pembuluh darah vena sejajar pembuluh darah. Jarum diarahkan menusuk pembuluh darah vena. Injeksikan kemudian bahan uji ke dalam aliran darah vena.

d. Rute pemberian obat secara intraperitoneal

Penyuntikkan dilakukan pada perut sebelah kanan garis tengah, jangan terlalu tinggi agar tidak mengenai hati dan kandung kemih. Hewan dipegang pada punggung sehingga kulit abdomen menjadi tegang. Pada saat penyuntikkan posisi kepala lebih rendah dari abdomen. Suntikan jarum menembus kulit dan otot masuk ke rongga peritoneal.

e. Rute pemberian obat secara intramuscular

Penyuntikkan dilakukan pada otot gluteus maximus, bicip femoris atau semi tendinosus paha belakang.

f. Rute pemberian obat secara rectal

Kateter dibasahi dahulu dengan gliserin atau paraffin kemudian dimasukkan ke dalam rectal mencit sejauh kira-kira 4 cm dan larutan obat didesak keluar.

Pengamatan

1. Untuk masing-masing rute pemberian obat, catat waktu pemberiannya, saat timbul dan hilangnya masing-masing efek
2. Efek yang diamati yaitu berbagai tingkat depresi seperti diantaranya :
 - Aktivitas spontan dari respon terhadap stimulus pada keadaan normal
 - Perubahan aktivitas, spontan atau dengan stimulus (gerakan tdk terkoordinasi)
 - Tidak ada respon lokomotorik kalau distimulasi
 - Usaha untuk menegakkan diri tidak berhasil
 - Diam tidak bergerak, usaha untuk menegakkan diri tidak lagi dicoba
3. Buatlah tabel hasil pengamatan secara lengkap

HASIL PENGAMATAN

Tanggal praktek :

Data pengamatan :

mencit	BB (Kg)	Rute pemberian	Dosis (VAO)	Onset (waktu)	Respon

Paraf

LEMBAR EVALUASI

1. Jelaskan mengapa rute pemberian mempengaruhi onset obat

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

2. Berapa volume maksimal bahan uji untuk pemberian secara oral pada hewan percobaan berikut?

Jenis Hewan	Volume Maksimal (mL)
Mencit	
Tikus	
Marmot	
Hamster	
Kelinci	

3. Jelaskan keuntungan dan kerugian rute pemberian obat secara oral dan parenteral

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

IV. ANALGETIKA DAN HUBUNGAN DOSIS-RESPON

Nyeri sebenarnya berfungsi sebagai tanda adanya penyakit atau kelainan dalam tubuh dan merupakan bagian dari proses penyembuhan (inflamasi). Nyeri perlu dihilangkan jika telah mengganggu aktivitas tubuh. Analgetik merupakan obat yang digunakan untuk menghilangkan nyeri tanpa menghilangkan kesadaran.

Ada dua jenis analgetik, analgetik narkotik dan analgetik non narkotik. Selain berdasarkan struktur kimianya, pembagian di atas juga didasarkan pada nyeri yang dapat dihilangkan. Analgetik narkotik dapat menghilangkan nyeri dari derajat sedang sampai hebat, seperti karena infark jantung, operasi, visceral dan nyeri karena kanker.

Analgetik non narkotik berasal dari golongan antiinflamasi non steroid (AINS) yang menghilangkan nyeri ringan sampai sedang. Disebut AINS karena selain sebagai analgetik, sebagian anggotanya mempunyai efek antiinflamasi dan penurun panas (antipiretik) dan secara kimiawi bukan steroid. Oleh karena itu, AINS sering disebut analgetik, antipiretik dan antiinflamasi.

Tujuan:

Setelah menyelesaikan praktikum ini, mahasiswa diharapkan :

1. Mengetahui berbagai cara untuk mengevaluasi secara eksperimental efek analgetik suatu obat
2. Mampu mengobservasi dan menyimpulkan perubahan respon akibat pemberian berbagai dosis analgetik
3. Mampu membuat kurva hubungan dosis-respon

Bahan dan Alat:

1. Mencit 5 ekor
2. Obat : tramadol dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, 150 mg/kgBB
3. Asam asetat
4. Timbangan hewan
5. Alat suntik
6. Alat untuk pengujian
7. Stopwatch
8. NaCl fisiologis

Prosedur Pengerjaan

a. Metode jentik ekor (*Tail Flick*)

Rangsang nyeri yang digunakan dalam metode ini berupa air panas dengan suhu 50°C dimana ekor mencit dimasukkan ke dalam air panas akan merasakan nyeri panas dan ekor dijentikkan ke luar dari air panas tersebut.

1. Timbang masing-masing mencit, beri nomor dan catat
2. Sebelum pemberian obat catat dengan menggunakan stopwatch waktu yang diperlukan mencit untuk menjentikkan ekornya ke luar dari air panas. Tiap rangkaian pengamatan dilakukan 3x selang 2 menit. Pengamatan pertama diabaikan, hasil pengamatan terakhir dirata-ratakan dan dicatat sebagai respon normal masing-masing tikus
3. Suntikan secara intramuscular kepada masing-masing mencit obat dengan dosis yang telah dikonversikan ke dosis mencit
4. Pengamatan dilakukan pada menit 1, 15, 25, dan 30 setelah pemberian obat. Jika mencit tidak menjentikkan ekornya ke luar dari air panas dalam waktu 10 detik maka dapat dianggap tidak menyadari stimulus nyeri tersebut
5. Buatlah tabel pengamatan dengan lengkap
6. Gambarlah suatu kurva hubungan antara dosis yang diberikan terhadap respon mencit untuk stimulus nyeri

b. Metode Pelat Panas (*Hot plate*)

Rangsang nyeri yang digunakan berupa lantai kandang yang panas ($55^{\circ}-56^{\circ}\text{C}$). Rasa nyeri pada panas kaki mencit menyebabkan respon mengangkat kaki depan dan dijilat. Rata-rata hewan mencit akan memberikan respon dengan metode ini dalam waktu 3-6 detik.

1. Timbang masing2 mencit, beri nomor dan catat
2. Sebelum pemberian obat catat dengan menggunakan stopwatch waktu yang diperlukan mencit untuk mengangkat dan menjilat kaki depannya sebagai waktu respon, catat sebagai respon normal atau respon sebelum perlakuan
3. Suntikan secara intra muscular kepada masing-masing mencit obat dengan dosis yang telah dikonversikan ke dosis mencit
4. Pengamatan dilakukan pada menit 5, 15, 25, dan 30 setelah pemberian obat
5. Buatlah tabel hasil pengamatan dengan lengkap
6. Gambarkan suatu kurva hubungan antara dosis yang diberikan terhadap respon mencit

untuk stimulus nyeri

c. Induksi Asam Aset

1. Siapkan 2 ekor tikus
2. Timbang masing-masing tikus, beri nomer dan catat
3. Tikus 1 diberika NaCl fisiologis sedangkan tikus 2 disuntikan secara intra muscular tramadol dengan dosis yang telah dikonversikan ke dosis tikus
4. Setelah 60 menit masing-masing tikus diberikan asam asetat 1% 0,1 ml/10 g BB secara intraperitoneal
5. Nyeri ditandai dengan geliat, yaitu abdomen menyentak dasar tempat pijak dan kedua pasang kaki ditarik kebelakang. Jumlah geliat yang terjadi dihitung dengan interval waktu 5 menit selama 30 menit
6. Hitung pesentase daya analgetik dengan rumus :
Persentase daya analgetik = $100 - (p/k \times 100)$
p = jumlah kumulatif geliat pada tikus yang diberikan analgetik
k = jumlah kumulatif geliat pada tikus tanpa diberikan analgetik

HASIL PENGAMATAN

Tanggal praktek :

Data pengamatan :

1. Metode Hot Plate

tikus	BB (Kg)	Dosis (VAO)	Pengamatan				
			Sebelum	5'	15'	25'	30'

2. Metode Tail Flick

tikus	BB (Kg)	Dosis (VAO)	Pengamatan				
			Sebelum	5'	15'	25'	30'

3. Induksi Asam Asetat

tikus	BB (Kg)	Dosis (VAO)	Pengamatan				
			Sebelum	5'	15'	25'	30'

IV. DIURETIK

Tujuan

Setelah menyelesaikan praktikum ini mahasiswa diharapkan :

1. Mampu menerapkan metoda pengujian obat diuretik
2. Mampu mengevaluasi potensi obat diuretik

Bahan dan Alat

1. Tikus 2 ekor
2. Timbangan, sonde, alat suntik, kantung metabolisme, kapas, gelas ukur
3. Obat : Furosemid (injeksi), Aqua bidestilata, alkohol

Prosedur Pengerjaan

1. Puasakan tikus satu malam, dengan tetap diberi minum
2. Beri pada semua tikus air hangat sebanyak 2,5 ml/100 g BB secara oral
3. Suntikan obat secara i.p. obat Furosemid dengan dosis 80 mg/kg BB dan 160 mg/kg BB
4. Tempatkan masing-masing tikus dalam kantung metabolisme dan tamping urin selama 60 menit
5. Catat volume urin tiap 10`, 30`, dan 60` setelah pemberian obat
6. Hitung persentase volume urin kumulatif selama 60 menit terhadap volume air yang diberikan secara oral
7. Buatlah kurva hubungan antara dosis obat yang diberikan dengan volume urin yang dikeluarkan selama 60 menit.

Data Pengamatan

Tikus	BB (kg)	Dosis (VAO)	t pemberian	Volume urin (ml)			
				10`	30`	60`	Total

Kurva hubungan dosis dengan volume urin

V. PENGARUH OBAT OTONOM TERHADAP MATA

SSO mempunyai 2 neuron, yaitu aferen (sensorik) dan eferen (motorik). Neuron aferen mengirimkan impuls (informasi) ke SSP, untuk diinterpretasikan. Neuron eferen menerima impuls dari otak dan diteruskan melalui medulla spinalis ke sel-sel organ efektor, seperti jantung, paru-paru, saluran pencernaan, dan mata. Jalur eferen dari SSO dibagi 2 yaitu saraf simpatik dan parasimpatik.

Sistem saraf simpatik dan parasimpatik jika bekerja pada organ yang sama akan menghasilkan efek yang berlawanan untuk tujuan keseimbangan, kecuali pada organ tertentu. Sistem saraf simpatik bersifat katabolik artinya menghabiskan energi, misalnya saat "*flight or fight*". Sistem saraf parasimpatik bersifat anabolik berarti berusaha menyimpan energi, yaitu berlangsung "*rest and digest*". Kerja obat pada kedua sistem saraf ini menyebabkan perangsangan atau penghambatan.

Tujuan

Setelah menyelesaikan praktikum ini mahasiswa diharapkan :

1. Mampu mengukur dan mengevaluasi diameter pupil mata kelinci akibat pengaruh obat kolonomimetik, muskarinik bloker, agonis adrenergik dan adrenergik bloker.

Bahan dan Alat

1. Kelinci 3 ekor
2. Loupe, alat ukur, timbangan
3. Obat : Epinefrin 1% (tetes mata), Pilokarpin 2% (Cendo Carpine), Atropin Sulfat 1% (Cendo Tropin), Pilokarpin (injeksi), Atropin Sulfat (injeksi), Aquadest

Prosedur Pengerjaan

1. Pengaruh Obat Otonom Terhadap Otot Iris Mata

Ukur diameter kedua pupil mata kelinci dengan menggunakan loupe. Teteskan larutan Atropin pada mata kiri dan larutan adrenalin pada mata kanan; teteskan pada lekuk bawah mata. Catat diameter pupil 1`, 5`, 10`, 15`, 30` setelah diberi obat.

Cuci mata kelinci dengan aquadest, sampai ukuran pupil kembali seperti semula, kemudian teteskan larutan Pilokarpin pada mata kanan dan teteskan berturut-turut larutan Pilokarpin dan

Atropin pada mata kiri. Catat diameter kedua pupil 1`, 5`, 10`, 15`, 30` setelah diberi obat.

HASIL PENGAMATAN

Tanggal Praktikum :

Data Pengamatan :

1. Pengaruh obat otonom terhadap otot iris mata kelinci yang diberi Atropin (mata kanan) dan Epinefrin (mata kiri)

Diameter pupil normal		Diameter pupil kanan (cm)						Diameter pupil kiri (cm)					
kanan	kiri	0,5`	1`	5`	10`	15`	30`	0,5`	1`	5`	10`	15`	30`

2. Pengaruh obat otonom terhadap otot iris mata kelinci yang diberi Pilocarpin + Atropin (mata kanan) dan Pilocarpin (mata kiri)

Diameter pupil normal		Diameter pupil kanan (cm)						Diameter pupil kiri (cm)					
kanan	kiri	0,5`	1`	5`	10`	15`	30`	0,5`	1`	5`	10`	15`	30`

Nilai & Paraf

--

VI. HIPNOTIK DAN SEDATIF

Tujuan

Setelah menyelesaikan praktikum mahasiswa diharapkan :

1. Mampu melakukan cara penetapan aktivitas spontan tikus dengan alat rotarod sebagai salah satu pengujian obat penekan susunan saraf pusat dan tranquilizer
2. Mampu mengevaluasi perbedaan efek obat golongan Benzodiazepin dan golongan Barbiturat pada perubahan aktivitas spontan tikus

Bahan dan Alat

1. Tikus jantan 2 ekor, mencit jantan 2 ekor
2. Rotarod, alat suntik, kapas, timbangan
3. Obat : Pentobarbital Na (injeksi), Diazepam (injeksi), Alkohol, Aquadest

Prosedur Pengerjaan

Pengaruh Obat Sedatif dan Tranquilizer Terhadap Aktivitas Spontan Tikus

Timbang 2 ekor tikus dan mencit yang berjenis kelamin sama. Ukur pupuk, amati reflek kornea, dan reflek balik badan tikus. Adaptasikan tikus dan mencit tersebut pada rotarod selama 5 menit dengan meletakkan pada roda berputar rotarod kemudian catat selama 2 menit berapa kali tikus jatuh dari ban berputar rotarod.

Suntikkan injeksi Diazepam dosis 20 mg/kg BB pada tikus pertama dan injeksi Pentobarbital Na dosis 20 mg/kg BB pada tikus kedua masing-masing secara i.m.

Amati dan catat ukuran pupil, reflek kornea, dan berjalan di rotarod pada menit ke 20 dan 40 setelah pemberian obat.

Data Pengamatan

1. Pemberian Diazepam Injeksi

Perlakuan	Rx kornea	Rx balik badan	d. pupil	Rotarod (dalam 1 menit)
Sebelum				
20 menit				
40 menit				

2. Pemberian Pentobarbital Na Injeksi

Perlakuan	Rx kornea	Rx balik badan	d. pupil	Rotarod (dalam 1 menit)
Sebelum				
20 menit				
40 menit				

Paraf

--

VII. ANESTESI UMUM

Anestesi umum adalah obat yang digunakan untuk meniadakan persepsi terhadap semua rangsangan. Anestesi umum digunakan dalam berbagai tindakan pembedahan (operasi). Untuk menimbulkan efek anestesi yang ideal, sering diperlukan kombinasi dari beberapa obat. Obat anestesi umumnya diberikan secara inhalasi atau injeksi IV. Mekanisme kebanyakan anestesi umum belum diketahui. Tetapi, semua sifatnya menghilangkan rasa sakit dengan mendepresi SSP melalui mekanisme yang belum diketahui sepenuhnya.

Tujuan

Setelah menyelesaikan praktikum ini, mahasiswa diharapkan :

1. Mengetahui tahap-tahap manifestasi anestesi umum dan tahap-tahap pemulihan dari anestesi umum
2. Mampu menganalisa perbedaan anestesi oleh berbagai

Bahan dan Alat

1. Tikus jantan 3 ekor
2. Obat : eter, kloroform, dan etanol absolut
3. Timbangan hewan, toples kaca dengan tutup, kapas, pipet tetes, dan peralatan lainnya

Prosedur dan Pengamatan

1. Tiap kelompok mahasiswa bekerja dengan 3 ekor tikus jantan
2. Pada masing-masing tikus, amati dan catat hal-hal berikut sebelum pemberian anestesi umum:
 - a. Kelakuan umum tikus
 - b. Reflek-reflek (nyeri)
3. Masukkan tikus ke dalam toples kaca yang di dalamnya diberi kapas yang sudah ditetesi eter, kloroform, atau etanol absolut
4. Catat setiap perubahan yang terjadi pada masing-masing tikus seperti no. 2
5. Setelah dicapai tingkat anestesi untuk pembedahan, pemberian anestesi dihentikan
6. Perhatikan dan catat tahap-tahap pemulihan kesadaran tikus.

7. Buatlah tabel pengamatan selengkap mungkin sehingga saudara dapat membahas dan menarik kesimpulan dari percobaan ini dan terlihat korelasi antara gejala yang muncul dengan tahap dan tingkat anestesi yang dicapai.

3. Anestesi dengan Alkohol 96%

Tikus	BB (kg)	t (waktu) pemberian	Efek yang timbul	t hilang respon

Paraf

VIII. PENGAMBILAN SAMPEL DARAH

Hewan percobaan seperti mencit dan tikus merupakan hewan percobaan eksperimental untuk mengevaluasi toksisitas, metabolik, bioavailabilitas dan lain sebagainya dalam evaluasi preklinis obat, dimana pengumpulan sampel seperti urin dan darah merupakan persyaratan dasar. Teknik pengambilan sampel ini tergantung pada faktor spesifik dari percobaan yang akan dilaksanakan.

Tujuan

Setelah menyelesaikan praktikum ini, mahasiswa diharapkan dapat mengetahui :

1. Tujuan pengambilan sampel darah pada hewan percobaan
2. Cara pengambilan sampel darah pada hewan percobaan

Bahan dan Alat

1. Hewan percobaan : mencit 5 ekor
2. Pipa kapiler
3. Jarum suntik
4. Selongsong mencit
5. Kendang metabolisme
6. Alkohol
7. Silet/gunting

Prosedur Pengerjaan

1. Pengambilan sampel darah
 - a. Plexus Retroorbitalis pada mata

Tikus dipegang dan dijepit bagian tengkuk dengan jari tangan. Tikus dikondisikan senyaman mungkin, kemudian pipa kapiler digoreskan pada medial canthus mata di bawah bola mata ke arah foramen opticus. Mikropipet diputar sampai melukai plexus, jika diputar 5x maka harus dikembalikan 5x. Darah kemudian dapat ditampung pada Eppendorf yang telah diberi EDTA untuk tujuan pengambilan plasma darah dan tanpa EDTA untuk tujuan pengambilan serumnya.

b. Pada Vena Ekor (Vena Lateralis ekor)

Sebelum dilakukan pengambilan darah, ekor hewan digosok atau dihangatkan agar pembuluh darah ekor membesar dan aliran darah lebih cepat. Tikus dimasukkan dalam selongsong yang sesuai ukuran tubuh tikus. Bilas bagian ekor tempat pengambilan darah dengan alkohol. Pengambilan darah dapat dilakukan dengan menggunakan jarum suntik atau dengan jalan pemotongan ekor hewan. Ekor tikus dijulurkan keluar dan Vena lateralis pada ekor di Insis (dipotong) 0,2 – 2 cm dari pangkal ekor dengan silet atau gunting yang steril. Darah kemudian dapat ditampung pada Eppendorf, kemudian diletakkan miring 45° dan dibiarkan mengendap pada suhu kamar.

HASIL PENGAMATAN

Tanggal Praktikum :

Data Pengamatan :

Tikus	BB (kg)	Jumlah sampel darah (ml)	
		Retroorbitalis	Vena Ekor

Paraf

LEMBAR EVALUASI

1. Sebutkan metode-metode yang digunakan dalam pengambilan sampel darah hewan percobaan

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

2. Apa saja kandungan/komposisi darah?

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

VIII. PENGAMBILAN SAMPEL URIN

Hewan percobaan seperti mencit dan tikus merupakan hewan percobaan eksperimental untuk mengevaluasi toksisitas, metabolik, bioavailabilitas dan lain sebagainya dalam evaluasi preklinis obat, dimana pengumpulan sampel seperti urin dan darah merupakan persyaratan dasar. Teknik pengambilan sampel ini tergantung pada faktor spesifik dari percobaan yang akan dilaksanakan.

Tujuan

Setelah menyelesaikan praktikum ini, mahasiswa diharapkan dapat mengetahui :

1. Tujuan pengambilan sampel urin pada hewan percobaan
2. Cara pengambilan urin darah pada hewan percobaan

Bahan dan Alat

1. Hewan percobaan : mencit 5 ekor
2. Pipa kapiler
3. Jarum suntik
4. Selongsong mencit
5. Kendang metabolisme
6. Alkohol
7. Silet/gunting

Prosedur Pengerjaan

1. Pengambilan sampel urin

Pengambilan sampel urin dapat dilakukan menggunakan kendang metabolisme. Tempatkan masing-masing hewan percobaan dalam kendang metabolisme dan tampung urin selama 60 menit.

HASIL PENGAMATAN

Tanggal Praktikum :

Data Pengamatan :

Tikus	BB (kg)	Jumlah urin (ml)

Paraf

LEMBAR EVALUASI

1. Sebutkan metode-metode yang digunakan dalam pengambilan sampel urin hewan percobaan

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

2. Apa saja kandungan/komposisi urin?

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

IX. NEKROPSI

Nekropsi atau bedah bangkai hewan merupakan analogi dari autopsi pada manusia. Tindakan ini bertujuan untuk melakukan pemeriksaan yang cepat dan tepat dalam menetapkan diagnosa pada beberapa sebab penyakit atau kematian dari hewan. Biasanya untuk melengkapi hasil diagnosa yang akurat harus ditunjang dengan hasil pemeriksaan dari beberapa laboratorium penunjang, seperti bakteriologi, virologi, parasitologi, patologi klinik, toksikologi dan sebagainya.

Nekropsi (pemeriksaan postmortem) dilakukan untuk menentukan kausa penyakit dengan melakukan deskripsi lesi makroskopis dan mikroskopis dari jaringan dengan melakukan pemeriksaan serologis, mikrobiologis, dan hispatologis yang memadai. Pemeriksaan postmortem dilakukan bila ditemukan adanya penurunan produksi, terdapat tanda-tanda yang jelas akan sakit atau diketahui adanya peningkatan jumlah kematian dan sesuai kebutuhan penelitian. Nekropsi harus dilakukan sebelum bangkai mengalami autolisis, jadi sekurang-kurang 6-8 jam setelah kematian.

Tujuan:

Setelah menyelesaikan praktikum ini, mahasiswa diharapkan dapat mengetahui

- a. Cara anestesi pada hewan percobaan
- b. Cara nekropsi hewan percobaan
- c. Organ-organ dalam hewan percobaan

Bahan dan Alat

- a. Hewan percobaan: mencit jantan 5 ekor
- b. Alat bedah
- c. Eter
- d. Sarung tangan
- e. Desinfektan
- f. Toples
- g. Kapas
- h. Jarum pentul

Prosedur Pengerjaan

a. Anestesi Hewan Percobaan

Anestesi dilakukan dengan larutan eter (dengan kapas yang dibasahi eter, masukkan dalam suatu tempat yang sesuai besar hewan cobanya), kemudian mencit dimasukkan dalam tempat tersebut, ditunggu sampai mati

b. Nekropsi

Dimulai dengan pemeriksaan luar, termasuk pengamatan mulut, hidung, mata, telinga dan sebagainya. Selanjutnya mencit diletakkan pada meja operasi atau alas khusus (seperti stereofom) dengan posisi terlentang, supaya tidak bergeser difiksasi pada telapak kaki depan dan belakang dengan menyematkan jarum pentul/paku kecil.

Insisi dimulai dari dinding abdomen, memotong kulit dan muskulusnya, irisan dilanjutkan kesisi kanan dan kiri, terus kearah kranial, memotong costae sehingga rongga thorak terbuka. Selanjutnya diambil organ apa yang diperlukan.

HASIL PENGAMATAN

Tanggal praktek :

Data pengamatan :

Nomor hewan uji :

Berat Badan (kg) :

Pengamatan Organ	Normal	Kelainan

Paraf

X. UJI TOKSISITAS AKUT

Pendahuluan

Toksisitas akut adalah efek berbahaya yang terjadi segera setelah terpapar suatu zat tunggal atau kombinasi zat (substance).

Uji toksisitas akut adalah tata cara tertentu yang dirancang untuk menentukan dosis letal median (LD_{50} / LC_{50}) suatu zat dan kemungkinan mekanisme kerja dan target organnya. LD_{50} / LC_{50} didefinisikan sebagai dosis atau konsentrasi yang diberikan sekali (tunggal) atau beberapa kali dalam 24 jam dari suatu zat yang secara statistik diharapkan dapat membunuh 50% hewan coba.

Penentuan dosis dapat menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Log } \frac{N}{n} = k \log \frac{a}{n}$$

Keterangan :

N = konsentrasi yang mematikan 90% hewan uji

n = konsentrasi yang mematikan 10% hewan uji

k = banyaknya variasi – 1 (k = jumlah kelompok tanpa kontrol)

a = dosis atau konsentrasi setelah n

Banyak cara untuk menentukan nilai LD_{50} , namun pada praktikum ini hanya akan dibahas 4 cara, yaitu : cara Farmakope Indonesia III, cara Weil, cara Probit dan cara Reed dan Muench.

a. Cara Farmakope Indonesia III (FI III)

Untuk menghitung LD_{50} berdasarkan FI III, uji harus memenuhi syarat-syarat seperti :

- Menggunakan seri dosis atau konsentrasi yang berkelipatan tetap
- Jumlah hewan percobaan atau biakan jaringan tiap kelompok harus sama
- Dosis harus diatur sedemikian rupa supaya memberikan efek dari 0-100% dan hitungan dibatasi direntang tersebut

Rumus perhitungan LD₅₀ adalah :

$$m = a - b (\sum p_i - 0,5)$$

m = log LD₅₀

a = logaritme dosis terendah yang masih menyebabkan jumlah kematian 100% tiap kelompok

b = beda log dosis yang berurutan

p_i = jumlah hewan yang mati menerima dosis I dibagi jumlah hewan seluruhnya yang menerima dosis I

b. Perhitungan nilai LD₅₀ berdasarkan cara Weil

Rumus :

$$\text{Log } m = \log D + d (f + 1)$$

m = nilai LD₅₀

D = dosis terkecil yang digunakan

d = log dari kelipatan dosis

f = suatu nilai dalam tabel Weil, karena angka kematian tertentu (r)

c. Cara Probit

Untuk dapat menghitung LD₅₀ atau LC₅₀ berdasarkan metode Probit, kita harus :

- Mempunyai tabel probit
- Menentukan nilai probit dari 1% kematian tiap kelompok uji
- Menentukan log dosis tiap-tiap kelompok
- Menentukan persamaan garis lurus hubungan antara nilai probit dengan log dosis,
 $Y = m X + b$
- Masukkan nilai 5 (probit 50% kematian hewan coba) pada persamaan garis lurus pada nilai Y. Nilai LD₅₀ atau LC₅₀ dihitung dari nilai anti log X pada saat Y = 5

$$\text{Nilai slope (m)} = \frac{\sum(X) \sum(Y) - n \sum(XY)}{(\sum(X)^2) - n \sum(X^2)}$$

$$\text{Nilai Intersep (b)} = \frac{\sum(X) \sum(Y) - \sum(X^2) \sum Y}{(\sum(X)^2) - n \sum(X^2)}$$

d. Cara Reed dan Muench

Menggunakan metode Reed dan Muench, harus menghitung dulu nilai-nilai sebagai berikut :

- a = prosentase kematian yang lebih kecil dari 50%
- b = prosentase kematian yang lebih besar dari 50%
- i = kenaikan dosis
- k = dosis yang menyebabkan kematian lebih besar dari 50%
- s = dosis yang menyebabkan kematian lebih kecil dari 50%
- h = ukuran jarak
- g = hasil perkalian antara kenaikan dosis dengan ukuran jarak
- Y = hasil penjumlahan antara g dengan log s

$$\text{LD}_{50} = \text{anti log } Y$$

Tujuan

Setelah melakukan praktikum ini, mahasiswa diharapkan :

1. Mampu melaksanakan penetapan uji toksisitas akut
2. Mampu menetapkan LD₅₀ sebagai parameter ketoksikan akut menurut cara FI III
3. Mampu menetapkan potensi ketoksikan akut

Bahan dan Alat

1. Mencit dengan galur dan kelamin sama dan berat badan relatif seragam
2. Obat : berbagai ekstrak dari beberapa simplisia
3. Sonde, alat suntik, dll

Prosedur Pengerjaan

1. Adaptasikan hewan selama seminggu dan timbang berat badan. Siapkan hewan percobaan 4 ekor per kelompok
2. Berikan obat pada masing-masing kelompok dengan dosis berbeda (dosis kelipatan)
3. Amati hewan selama 3 jam pengamatan meliputi :
 - a. Pengamatan fisik terhadap gejala klinis
 - b. Jumlah hewan yang mati pada masing-masing kelompok uji
4. Hitung LD₅₀ dengan cara FI III dan Reed Muench
5. Buatlah tabel hasil pengamatan dengan lengkap

HASIL PENGAMATAN

Tanggal Praktikum :

Data Pengamatan :

Kelompok	Dosis (VAO)	Pengamatan tanda-tanda toksik yang terjadi
I. 1		
2		
3		
4		
II. 1		
2		
3		
4		
III. 1		
2		
3		
4		
IV. 1		
2		
3		
4		
V. 1		
2		
3		
4		

Perhitungan LD₅₀ Cara FI III

Dosis	Jumlah hewan per kelompok	Hewan yang mati	Hewan yang hidup	pi

Perhitungan LD₅₀ dengan Analisa probit

Hasil Uji			Hasil Perhitungan			
Dosis (mg)	Log dosis (X)	% mati	Probit (Y)	X ²	Y ²	XY
Σ						

Nilai & Paraf

XI. PENGENALAN UJI TERATOGENIK

Teratologi dapat didefinisikan sebagai ilmu yang berhubungan dengan penyebab, mekanisme dan manifestasi kelainan perkembangan fungsi dan struktur tubuh. Ilmu ini berkembang karena dikenal banyak factor yang dapat menyebabkan kelainan bawaan pada bayi

Metoda yang dapat dilakukan dalam evaluasi teratogenitas adalah metoda *in vitro* dan *in vivo*. Pada metoda *in vitro* yang umum dipakai adalah embrio ayam dan blastosist kelinci. Metode *in vivo* umumnya melibatkan hewan mamalia. Hewan yang sering digunakan dalam uji teratogenik adalah mencit, tikus putih, dan kelinci.

Sebelum melakukan eksperimen teratogenik kelompok hewan harus di aklimasi terlebih dahulu selama 10 hari. Selama aklimasi tersebut dapat dilakukan pengamatan siklus estrus. Siklus estrus adalah fase dimana hewan uji berada pada masa subur dan mau melaksanakan perkawinan. Siklus estrus dapat ditentukan secara histologis dengan menggunakan hapusan vagina dan secara visualisasi dengan melihat secara langsung vagina hewan uji. Epitel vagina terlihat mempunyai bentuk khas jika berada pada masa estrus.

Setelah fase estrus diketahui, maka seluruh hewan uji dikawinkan. Pengawinan dilakukan dengan memasukkan hewan jantan ke dalam kandang hewan betina yang sudah estrus. Hewan yang sudah mengalami perkawinan ditandai dengan adanya sumbat vagina (*vaginal plug*). Sumbat vagina berbentuk seperti lilin, yang dapat dijumpai pada pagi sampai siang hari.

Senyawa uji yang diduga bersifat teratogen diberikan pada mencit betina hamil pada masa organogenesisnya. Masa organogenesis terjadi pada hari keenam kehamilan. Senyawa yang akan diuji diberikan dengan rute yang sama dengan rute pemberian senyawa uji tersebut. Pemberian senyawa uji dilakukan selama masa organogenesis. Perhitungan dan pemilihan dosis yang diharapkan bisa menimbulkan efek teratogenik, umumnya didasarkan pada aktivitas farmakologis dan toksikologi dari bahan yang diteliti.

Dua atau tiga hari sebelum melahirkan, induk hewan di laparatomi. Sebelum di laparatomi hewan uji dimatikan terlebih dahulu dengan anestesi eter atau dengan dislokasi eter. Bagian abdomen kemudian disayat horizontal sedikit dan lakukan sayatan ke arah vertikal sampai terlihat tanduk uterus. Dari hasil laparatomi ini akan diperoleh data : jumlah fetus, jumlah fetus pada tanduk uterus kanan dan kiri, jumlah fetus yang lahir hidup dan mati, jumlah tapak resoppsi, komposisi kelamin fetus, panjang dan berat tikus, serta ada tidaknya kecacatan pada fetus secara

morfologis.

Kelainan mungkin saja terjadi pada bagian tubuh (visceral) dan pertulangan (skeletal). Sebelum mengamati bagian ini, fetus harus difiksasi terlebih dahulu. Fiksasi adalah tindakan perendaman fetus dalam larutan fiksatif. Larutan Bouin untuk visceral dan Alizarin untuk skeletal. Perendaman dalam larutan Bouin berlangsung selama 14 hari sampai diperoleh fetus yang kenyal seperti tahu, berwarna kuning dan mudah disayat. Perendaman dalam Alizarin hanya berlangsung 3 hari. Hasil perendaman adalah fetus dengan jaringan yang transparan sementara semua tulang berwarna merah. Dari kedua larutan fiksatif tersebut akan diperoleh data kelainan pada bagian visceral seperti kelainan pada langit-langit, organ jantung, hati, ginjal, dan lain sebagainya serta kelainan pada pertulangan mulai dari tengkorak kepala sampai ekor. Kelainan pada letak, jumlah dan bentuknya yang berbeda dengan hewan kontrol normal dapat dianggap sebagai bentuk cacat.