

MODUL
BAHAN AJAR CETAK
FARMASI

PRAKTIKUM FARMAKOLOGI



» Hendra Stevani



PRAKTIKUM
FARMAKOLOGI

Pusdik SDM Kesehatan
Badan Pengembangan dan Pemberdayaan
Sumber Daya Manusia Kesehatan

Jl. Hang Jebat III Blok F3, Kebayoran Baru Jakarta Selatan - 12120
Telp. 021 726 0401, **Fax.** 021 726 0485, **Email.** pusdiknakes@yahoo.com



KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
PUSAT PENDIDIKAN SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN
BADAN PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN



MODUL
BAHAN AJAR CETAK
FARMASI

PRAKTIKUM FARMAKOLOGI

» Hendra Stevani



KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA

PUSAT PENDIDIKAN SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN

BADAN PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN

Hak Cipta © dan Hak Penerbitan dilindungi Undang-undang

Cetakan pertama, Desember 2016

Nama Penulis : *Hendra Stevani, S.Si., M.Kes., Apt*

*Pengembang desain
Instruksional* : *Dra. Lintang Patria, M.Kom.*

Desain oleh Tim P2M2 :
Kover & Ilustrasi : *Bangun Asmo Darmanto*
Tata Letak : *Heru Junianto*
Jumlah Halaman : *171*

DAFTAR ISI

TINJAUAN MATA KULIAH PRAKTIKUM	iv
BAB I: HEWAN UJI	1
Kegiatan Praktikum 1.	
Pemilihan Hewan Coba.....	3
Latihan	10
Ringkasan	10
Tes 1	10
Kegiatan Praktikum 2.	
Pemeliharaan Hewan Percobaan.....	12
Latihan	15
Ringkasan	15
Tes 2	16
Kegiatan Praktikum 3.	
Cara Pemberian Obat dan Pengambilan Spesimen Sampel Hewan Uji.....	17
Latihan	31
Ringkasan	31
Tes 3	31
Kegiatan Praktikum 4.	
Cara Menganestesi dan Mengorbankan Hewan Uji.....	33
Latihan	36
Ringkasan	36
Tes 4	36
KUNCI JAWABAN TES	38
BAB II: ANALISIS EFEK FARMAKOKINETIK OBAT PADA HEWAN UJI	39
Kegiatan Praktikum 1.	
Pengujian Efek Absorpsi Obat Pada Hewan Uji.....	41
Latihan	46

Ringkasan	47
Tes 1	47
 Kegiatan Praktikum 2.	
Pengaruh Metabolisme Obat pada Hewan Uji.....	50
Latihan	55
Ringkasan	55
Tes 2	55
 KUNCI JAWABAN TES	58
DAFTAR PUSTAKA	59
 BAB III: ANALISIS EFEK OBAT ANALGETIK DAN ANTIPIRETIK PADA HEWAN UJI	
	60
 Kegiatan Praktikum 1.	
Efek Obat Analgetik Pada Hewan Uji.....	62
Ringkasan	69
Tes 1	69
 Kegiatan Praktikum 2.	
Efek Obat Antipiretik Pada Hewan Uji.....	72
Latihan	78
Ringkasan	78
Tes 2	79
 KUNCI JAWABAN TES	80
DAFTAR PUSTAKA	82
 BAB IV: ANALISIS EFEK OBAT ANTIDIARE DAN DIURETIK PADA HEWAN UJI	
	83
 Kegiatan Praktikum 1.	
Efek Obat Diare Pada Hewan Uji.....	85
Latihan	93
Ringkasan	93
Tes 1	93
 Kegiatan Praktikum 2.	
Efek Obat Diuretik Pada Mencit.....	96
Latihan	103

Ringkasan	103
Tes 2	103
KUNCI JAWABAN TES FORMATIF	105
DAFTAR PUSTAKA	107
BAB V: ANALISIS EFEK OBAT HIPOGLIKEMIK ORAL DAN HIPOKOLESTEROLEMIA PADA HEWAN UJI	108
Kegiatan Praktikum 1.	
Efek Obat Hipoglikemik Oral Pada Hewan Uji.....	110
Latihan	121
Ringkasan	121
Tes 1	121
Kegiatan Praktikum 2.	
Efek Obat Hipokolestrolemia Pada Hewan Coba.....	124
Latihan	133
Ringkasan	134
Tes 2	134
KUNCI JAWABAN TES FORMATIF	137
DAFTAR PUSTAKA	138
BAB VI: ANALISIS EFEK TOKSIK OBAT	139
Kegiatan Praktikum 1.	
Analisis Efek Toksisitas akut Obat pada Hewan uji.....	140
Latihan	155
Ringkasan	155
Tes 1	156
KUNCI JAWABAN TES FORMATIF	158
DAFTAR LAMPIRAN	160

PENGANTAR MATA KULIAH PRAKTIKUM

Selamat datang dalam matakuliah praktikum farmakologi, matakuliah praktikum ini merupakan mata kuliah pendukung untuk matakuliah teori farmakologi. Mata kuliah ini terdiri dari beberapa topik, mulai dari pengenalan hewan uji, analisis efek farmakokinetik suatu obat dan efek farmakodinamik obat yang meliputi efek analgetik dan antipiretik, efek anti diare, efek hipnotik dan efek toksik yang semuanya diamati pada hewan uji.

Melalui matakuliah ini anda mampu mengamati efek-efek farmakokinetik dan farmakodinamik obat melalui hewan uji, mengembangkan keterampilan bereksperimen, keterampilan berpikir dan bekerja secara ilmiah, selain itu melalui matakuliah ini anda dapat memperoleh ide-ide yang dapat dikembangkan menjadi tema dalam menyusun karya tulis ilmiah (KTI)

Matakuliah ini menuntut anda untuk menerapkan konsep-konsep farmakokinetik dan farmakodinamik dalam praktikum, selain itu anda juga dituntut untuk mampu menangani hewan uji (pemilihan, pemeliharaan, pemberian obat, pengambilan spesimen sampel dan pemusnahan), mengamati dan mencatat hasil percobaan, menganalisis data hasil percobaan, serta menyimpulkan hasil percobaan. Praktikum ini akan berlangsung selama 8 minggu dimana terdiri dari 9 percobaan wajib. Pencapaian hasil belajar anda dinilai dari laporan hasil percobaan dan ujian akhir.

Setelah mengikuti matakuliah ini diharapkan anda mampu membuat laporan Praktikum Farmakologi yang berisi penanganan hewan uji, analisis efek farmakokinetik obat, dan farmakodinamik obat. Kemampuan tersebut akan anda dapatkan dengan menguasai kompetensi-kompetensi khusus berikut ini

Mampu

1. Melaksanakan Penanganan Hewan Uji
 - a. Menjelaskan cara Pemilihan Hewan uji
 - b. menjelaskan cara Pemeliharaan hewan uji
 - c. Melakukan Pemberian Obat dan mengambil spesimen sampel pada hewan uji
 - d. melaksanakan Anestesi dan Pemusnahan hewan uji
2. Menganalisis efek Farmakokinetik Obat pada hewan uji
3. Menganalisis efek obat analgetik dan Antipiretik
4. Menganalisis Efek obat Antidiare
5. Menganalisis Efek obat Hipoglikemia Oral dan Obat Hipokolestrolemia
6. Menganalisis Efek Toksik obat

Untuk mencapai kompetensi tersebut, materi praktikum ini disusun dalam 6 modul sebagai berikut :

- | | |
|---------|---|
| Modul 1 | : Penanganan Hewan uji |
| Modul 2 | : Efek farmakokinetik obat pada hewan uji |
| Modul 3 | : Efek obat analgetik dan Antipiretik |
| Modul 4 | : Efek obat Antidiare dan Diuretik |

■ Praktikum Farmakologi ■

Modul 5 : Efek obat Hipoglikemia & Hipokolestrolemia

Modul 6 : Efek Toksik obat

Dari tiap modul akan terdapat beberapa kegiatan percobaan yang umumnya dapat dilakukan secara mandiri atau secara berkelompok, tetapi laporan harus dibuat sendiri-sendiri dan ditulis tangan. Laporan yang diterima haruslah laporan asli, buatan sendiri dan ditulis dengan tangan.

Modul		Kegiatan Praktikum
No	Judul	
1	Penanganan Hewan Uji	Pemilihan Hewan uji
		Pemeliharaan hewan uji
		Pemberian Obat pada hewan uji & Pengambilan spesimen sampel hewan uji
		Anastesi dan Pemusnahan hewan uji
2	Analisis Efek Farmakokinetik obat pada hewan uji	Pengaruh Absorpsi Obat pada hewan uji
		Pengaruh metabolisme Obat pada hewan uji
3	Analisis Efek Obat analgetik dan Antipiretik pada hewan uji	Efek Obat Analgetik Pada Hewan Uji
		Efek Obat Antipiretik Pada Hewan Uji
4	Analisis Efek Obat Antidiare dan diuretik pada hewan uji	Efek Obat Anti Diare Pada Hewan Uji
		Efek Obat Diuretik Pada Hewan Uji
5	Analisis Efek Obat Hipoglikemia Oral dan Hipokolestrolemia pada Hewan Uji	Efek Obat Hipoglikemia Oral Pada Hewan Uji
		Efek Obat Hipokolestrolemia Pada Hewan Uji
6	Analisis Efek Toksik obat	Efek Toksik Akut Obat pada Hewan Uji

Laporan praktikum disusun dengan format sebagai berikut :

1. Bab I : Pendahuluan

Dalam bab ini terdiri dari 3 unsur yaitu :

I.1. Latar Belakang Praktikum

Memuat hal-hal yang mendasari pentingnya melakukan praktikum ini baik secara umum sebagai ilmu dalam kefarmasian, maupun secara khusus untuk memahami matakuliah farmakologi

I.2. Maksud dan Tujuan Praktikum

Memuat maksud dan tujuan praktikum yang dapat terdiri dari tujuan umum dan khusus

I.3. Prinsip Praktikum

Memuat prinsip dasar dalam melakukan praktikum ini

2. Bab II : Tinjauan Pustaka

Memuat dasar-dasar teori yang penting diketahui dalam melaksanakan praktikum ini, serta teori-teori yang diperlukan dalam membuat pembahasan hasil praktikum

3. Bab III : Metode Kerja
4. Bab IV : Hasil Percobaan dan Pembahasan
 - a. Memuat data-data yang didapat dari hasil percobaan, dibuat sesuai dengan format lembar praktikum yang terdapat pada akhir modul praktikum
 - b. Memuat gambar-gambar/tabel/grafik
 - c. Untuk grafik dibuat dalam milimeter blok
 - d. Perhitungan
 - e. Pembahasan
 - f. Memuat pembahasan hasil praktikum yang meliputi pembahasan data, analisis hasil perhitungan, menghubungkan dengan teori dan memperkirakan penyebab terjadinya perbedaan hasil percobaan dan praktikum
5. Bab V : Kesimpulan
Berisi hal-hal yang disimpulkan dari hasil analisis percobaan dan pembahasan yang merupakan jawaban dari tujuan praktikum.
6. Daftar pustaka
Diharapkan daftar pustakan berasal dari sekurang-kurangnya 5 sumber selain modul
Selain format laporan yang diatas anda juga harus menjawab setiap pertanyaan yang ada di modul praktikum untuk masing-masing judul kegiatan praktikum.
Agar laporan anda tidak tercecer maka, disarankan anda menjilid rapi laporan praktikum yang telah anda buat dan membuat kopi laporan yang telah selesai
Mudah-mudahan anda dapat melaksanakan kegiatan praktikum dengan baik dan benar serta menyelesaikan laporan dan tugas yang terdapat dalam modul ini tepat waktu

“Selamat Praktikum dan Semoga Sukses Selalu”

BAB I

HEWAN UJI

PENDAHULUAN

Hewan percobaan atau hewan laboratorium adalah hewan yang sengaja dipelihara dan ditenakkan untuk dipakai sebagai hewan model, dan juga untuk mempelajari dan mengembangkan berbagai macam bidang ilmu dalam skala penelitian atau pengamatan laboratorik. Animal model atau hewan model adalah objek hewan sebagai imitasi (peniruan) manusia (atau spesies lain), yang digunakan untuk menyelidiki fenomena biologis atau patobiologis (Hau & Hoosier Jr., 2003)

Dalam laboratorium pendidikan, beberapa mata kuliah dalam kurikulum Prodi Farmasi ditunjang dengan praktikum yang menggunakan hewan hidup. Penggunaan hewan hidup ini penting sebagai alat untuk memperjelas teori dan fenomena yang terjadi dalam materi mata kuliah yang bersangkutan dan hal ini tidak dapat dihindari.

Begitu pula dalam hal penelitian, Penelitian adalah kegiatan yang dilakukan berdasarkan kaidah dan metode ilmiah secara sistematis untuk memperoleh informasi, data, dan keterangan dari subjek terkait, dengan pemahaman teori dan pembuktian asumsi dan/atau hipotesis. Hasil yang didapat merupakan kesimpulan yang dapat diaplikasikan atau menjadi tambahan pengetahuan bagi kemajuan ilmu pengetahuan. Walaupun demikian, kegiatan penelitian harus tetap menghormati hak dan martabat subjek penelitian.

Modul ini akan membantu anda untuk memahami mulai dari pemilihan hewan uji hingga pemusnahan hewan uji, oleh karena itu modul ini disusun menjadi 4 (empat) kegiatan praktikum yaitu:

Kegiatan Praktikum 1 : Pemilihan Hewan Uji

Kegiatan Praktikum 2 : Pemeliharaan Hewan Uji

Kegiatan Praktikum 3 : Pemberian dan Pengambilan spesimen sampel Hewan Uji

Kegiatan Praktikum 4 : Anastesi dan Pemusnahan Hewan Uji

Apabila anda telah selesai mempelajari Kegiatan Praktikum 1, maka anda diharapkan dapat :

1. Mengetahui alasan penggunaan hewan uji
2. Mengetahui klasifikasi hewan uji berdasarkan tujuan penggunaannya
3. Menjelaskan faktor-faktor penting dalam pemilihan hewan uji
4. Menjeaskan prinsip pemanfaatan hewan coba
5. Mengenal hewan coba mencit, tikus dan kelinci

Selanjutnya apabila Anda telah selesai mempelajari sub pokok bahasan kedua, maka Anda diharapkan dapat :

1. Mengetahui hak-hak hewan coba

2. Faktor yang penting dalam pemeliharaan hewan coba

Selanjutnya apabila Anda telah selesai mempelajari sub pokok bahasan ketiga, maka Anda diharapkan dapat :

1. Mampu memegang hewan coba mencit, tikus, dan kelinci
2. Mampu mengkonversi dosis dari dosis manusia ke hewan coba
3. Mengetahui maksimal volume obat yang dapat diberikan dengan berbagai rute pemberian pada hewan coba mencit, tikus dan Kelinci
4. Mampu memberikan obat dengan berbagai rute pemberian pada hewan coba mencit, tikus dan Kelinci
5. Mampu mengambil spesimen sampel hewan coba

Selanjutnya apabila Anda telah selesai mempelajari sub pokok bahasan keempat, maka Anda diharapkan dapat :

1. Mengetahui cara meng-anestesi hewan coba
2. Mengetahui cara mengorbankan hewan coba

Didalam setiap kegiatan praktikum terdiri dari uraian singkat tentang materi praktikum, kemudian anda akan mendapatkan tahapan-tahapan dalam melakukan praktikum ini. Tahapan ini akan dibagi menjadi 3 bagian yaitu (1) persiapan yang memuat alat, bahan dan hewan yang perlu anda persiapkan dalam melakukan praktikum, (2) pelaksanaan yang memuat prosedur perlakuan pada hewan coba dan (3) pelaporan yang memuat tabel yang anda harus sesuai dengan pengamatan yang anda telah lakukan pada percobaan tersebut.

Selanjutnya anda diharapkan untuk menyelesaikan soal-soal latihan yang ada dalam tiap kegiatan praktikum tersebut. Jawaban dari soal-soal tersebut anda akan sangat membantu dalam menyusun laporan untuk menganalisis efek obat yang digunakan dalam percobaan tersebut. Pada akhir setiap kegiatan praktikum akan terdapat Tes, anda diminta untuk menyelesaikan Tes tersebut sebagai bahan penilaian terhadap pemahaman anda atas isi dari praktikum tersebut

Kegiatan Praktikum 1

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 Freuderer 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 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 reproduisible 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 ostocalcin spesifik stulang 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).

Persiapan Praktikum

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. Alat yang digunakan

1. Sarung Tangan
2. Kandang Mencit
3. Alat pelidung diri

Bahan yang digunakan

1. –

D. Hewan yang digunakan

Hewan yang digunakan adalah mencit jantan, galur lokal dengan berat badan 20 g- 30 g berumur antara 6 – 8 minggu

Pelaksanaan Praktikum

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.

Pelaporan Praktikum

Data pengamatan dan hasil perabaan 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.*



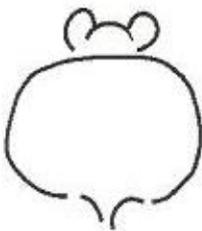
*BCS Nilai 2- Mencit di bawah kondisi standart
Tikus tampak kurus. Tulang-tulang masih kelihatan jelas, namun bilamana diraba masih terasa adanya daging atau lemak. Tampak atas sudah tidak terlalu berlekuk lekuk, agak berisi. Tulang pelvic dorsal dapat langsung teraba,*



*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 5- Mencit obese
Sudah sangat sulit meraba tulang-tulang akibat timbunan lemak dan daging yang sangat tebal.*

Latihan

- 1) Pada percobaan untuk menguji efek atropin, maka hewan kelinci tidak cocok untuk percobaan tersebut, jelaskan kenapa sebabnya
- 2) Kenapa hewan dengan jenis kelamin betina, tidak direkomendasikan untuk banyak jenis percobaan

Petunjuk jawaban Latihan

Untuk menjawab pertanyaan di atas, anda bisa menghubungkan antara tujuan penelitian yang menggunakan hewan uji tersebut dan fungsi fisiologi tubuh hewan tersebut.

Ringkasan

- 1) Penggunaan hewan percobaan merupakan pilihan terakhir dimana tidak terdapat cara lain yang bisa menggantikannya
- 2) Berdasarkan tujuan penggunaan hewan uji, maka hewan uji dapat diklasifikasikan menjadi hewan Exploratory (penyelidikan), hewan Explanatory (penjelasan) dan hewan Predictive (perkiraan)
- 3) pemilihan hewan uji disesuaikan dengan tujuan percobaan, sifat biologi hewan, studi literatur dll

Tes 1

- 1) Berikut ini adalah beberapa alasan mengapa sampai saat ini hewan masih sering digunakan dalam penelitian dan percobaan, kecuali :
 - A. keragaman dari subjek penelitian dapat diminimalisasi,
 - B. variabel penelitian lebih sulit dikontrol,
 - C. biaya relatif murah,
 - D. dapat dilakukan pada penelitian yang berisiko tinggi,
- 2) Berdasarkan tujuan penggunaan hewan uji, maka hewan uji dapat diklasifikasikan menjadi kecuali :
 - A. Exploratory
 - B. Explanatory
 - C. Predictive
 - D. Analisis
- 3) Faktor yang penting dipertimbangkan dalam memilih hewan uji adalah :
 - A. Spesies hewan uji belum pernah digunakan dalam penelitian yang sejenis

✎ ■ **Praktikum Farmakologi** ✎ ■

- B. Karakteristik fisiologi berbeda dengan jenis penyakit yang diteliti
 - C. jumlah spesimen yang dapat digunakan sebanyak mungkin
 - D. Fungsi anatomi dan fisiologi sesuai dengan aplikasi hasil penelitian
- 4) Penelitian kesehatan yang memanfaatkan hewan coba, juga harus diterapkan prinsip :
- A. dapat digantikan oleh makhluk hidup lain seperti sel atau biakan jaringan
 - B. pemanfaatan hewan penelitian dalam jumlah semaksimal mungkin
 - C. memperlakukan hewan percobaan secara manusiawi
 - D. dapat digantikan dengan simulasi komputer
- 5) berikut ini adalah kelebihan mencit sebagai hewan uji, kecuali ...
- A. berkembang biak sangat cepat,
 - B. gennya mirip dengan manusia.
 - C. representative model penyakit genetic manusia
 - D. jumlah spesimen darahnya lebih banyak

Kegiatan Praktikum 2

Pemeliharaan Hewan Percobaan

Penelitian ilmiah yang baik dimana digunakan hewan sebagai objek ataupun model kajian, maka tata kerjanya dievaluasi oleh Komisi Etik Penggunaan Hewan. Oleh karena itu, penggunaan hewan dalam kegiatan laboratorium pendidikan (praktikum) perlu selaras tata caranya dan memenuhi kriteria etika penggunaan hewan percobaan.

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian tetap harus dijaga hak-haknya yang dikenal sebagai Animal Welfare seperti yang tercantum dalam five of freedom yang terdiri dari 5 kebebasan yaitu :

1. *Freedom from hunger and thirst.*

Bebas dari rasa lapar dan haus, maksudnya adalah hewan harus diberikan pangan yang sesuai dengan jenis hewan dalam jumlah yang proporsional, higienis dan disertai dengan kandungan gizi yang cukup

2. *Freedom from thermal and physical discomfort.*

Hewan bebas dari kepanasan dan ketidak nyamanan fisik dengan menyediakan tempat tinggal yang sesuai dengan perilaku hewan tersebut

3. *Freedom from injury, disease and pain.*

Hewan harus bebas dari luka, penyakit dan rasa sakit dengan melakukan perawatan, tindakan untuk pencegahan penyakit, diagnosa penyakit serta pengobatan yang tepat terhadap binatang peliharaan

4. *Freedom to express most normal pattern of behavior.*

Hewan harus bebas mengekspresikan perilaku normal dan alami dengan menyediakan kandang yang sesuai baik ukuran maupun bentuk, termasuk penyediaan teman (binatang sejenis) atau bahkan pasangan untuk berinteraksi sosial maupun melakukan perkawinan.

5. *Freedom from fear and distress.*

Hewan bebas dari rasa takut dan penderitaan dilakukan dengan memastikan bahwa kondisi dan perlakuan yang diterima hewan peliharaan bebas dari segala hal yang menyebabkan rasa takut dan stress seperti konflik dengan spesies lain dan gangguan dari predator.

Pada dasarnya pengelolaan hewan percobaan dititik beratkan pada:

a. *Kondisi bangunan*

Terkadang di dalam penelitian hewan uji ditempatkan dalam kandang. Namun perlu diingat kondisi dan ukuran kandang sangat menentukan kondisi hewan percobaan, karena bentuk, ukuran serta bahan yang dipakai merupakan elemen dalam physical environment bagi hewan percobaan. Kandang harus dirancang sedemikian rupa sehingga hewan dapat hidup dengan tenang, tidak terlalu lembab, dapat menghasilkan

peredaran udara yang baik, suhu cocok, ventilasi lengkap dengan insect proof screen (kawat nyamuk).

b. Sanitasi

Kandang yang digunakan dalam menempatkan hewan ujii memiliki sistem sanitasi yang baik, sestim drainase yang baik, dan terjaga kebersihan dengan baik, misalnya dengan desinfektan (lysol 3-5%). Di samping itu perlunya mengenakan lab jas (Protective clothing) atau peralatan proteksi lainnya seperti masker dan sebagainya.

c. Tersedianya makanan

Tersedianya makanan untuk hewan percobaan yang bernutrisi dan dalam jumlah yang cukup. Penyimpanannya harus baik, terhindar dari lingkungan yang lembab, diusahakan bebas dari insekta atau hewan penggerek lainnya, karena dengan adanya ini dapat merupakan petunjuk adanya kerusakan bahan makanan hewan

d. Kebutuhan air

Kebutuhan air dapat diperoleh oleh hewan dengan mudah dan lancar dan usahakan tidak terlalu tinggi kandungan mineralnya serta bersih, dan tidak membasahi kandang hewan tersebut

e. Sirkulasi udara

Dengan adanya sistim ventilasi yang baik, sehingga sirkulasi udara dapat diatur, lebih baik lagi bila dipasang exhaust fan sehingga sirkulasi udara menjadi terkontrol.

f. Penerangan

Penerangan diperlukan sekali terutama dalam pengaturan proses reproduksi hewan, perlu diperhatikan siklus terang dan gelap karena pada beberapa hewan siklus estrus (siklus reproduksinya) sangat tergantung oleh penerangan dan bila tidak terdapat penerangan akan menyebabkan terhambatnya proses reproduksi.

g. Kelembaban dan temperatur ruangan

Suhu dan kelembaban ruangan merupakan komponen penting dari lingkungan semua hewan karena secara langsung mempengaruhi kemampuan hewan untuk mengatur panas internalnya. Kehilangan panas pada hewan dapat menyebabkan hewan menjadi pingsan, bukan dengan cara berkeringat. Adapun kelembaban dan temperatur ruangan yang direkomendasikan bagi masing-masing hewan percobaan masing-masing berbeda misalnya tikus pada suhu 30°C, dan kelinci pada suhu 25^o-28^oC

h. Keamanan

Maksud dari pada keamanan ini adalah menjaga jangan sampai terjadi infeksi penyakit baik yang berasal dari hewan maupun manusia. Sehingga sebagai usaha pencegahan tidak diperkenankan semua orang boleh menyentuh atau mengeluarkan hewan hewan dari kandang (lebih-lebih bila hewannya adalah bebas kuman atau yang disebut dengan Germ Free Animals) tanpa suatu keperluan apapun.

i. Training/kursus bagi personil

Dalam program pemeliharaan hewan percobaan diperlukan tenaga yang terlatih dan berpengalaman yang cukup, karena ilmu yang menyangkut hewan percobaan dapat

melibatkan banyak aspek ilmu, sehingga diperlukan sekali adanya kursus baik tenaga administrasi maupun tenaga teknis.

Persiapan Praktikum

A. Tujuan Percobaan

Menghitung perubahan berat badan mencit (*mus musculus*) dalam masa adaptasi selama 5 (lima) hari

B. Prinsip Percobaan

Perubahan berat badan mencit (*mus musculus*) dapat ditentukan dengan persen selisih berat badan sebelum adaptasi dan sesudah adaptasi

C. Alat yang digunakan

1. Kandang Mencit
2. Alat pelindung diri
3. Sumber cahaya

Bahan yang digunakan

1. Pakan normal mencit
2. Air minum

D. Hewan yang digunakan

Hewan yang digunakan adalah mencit jantan, galur lokal dengan berat badan 20 g- 30 g berumur antara 6 – 8 minggu

Pelaksanaan Praktikum

1. Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit jantan sebanyak 10 ekor.
2. Hewan percobaan kemudian ditimbang berat badannya dan dikelompokkan menjadi 2 kelompok dan masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor.
3. Setiap kelompok dipisahkan dalam kandang yang berbeda.
4. mencit diaklimatisasi selama 7 hari dengan pemberian makan dengan pakan reguler dan air minum
5. Mencit dipelihara dalam ruangan dengan suhu kamar sama, tapi dengan siklus cahaya terang : gelap yang berbeda dimana kelompok I dengan siklus cahaya terang : gelap (14:10) dan kelompok II dengan siklus terang : gelap (10 : 14)
6. Setelah 7 hari mencit kemudian di timbang berat badannya dan dicatat
7. Hitunglah persen perubahan berat badan sebelum dan sesudah perlakuan

Pelaporan Praktikum

Data pengamatan dan hasil perabaan pada mencit

<i>kelompok</i>	<i>Mencit</i>	<i>Berat badan (g)</i>		<i>Persen perubahan</i>
		<i>Sebelum</i>	<i>Sesudah</i>	
<i>I</i>	<i>1</i>			
	<i>2</i>			
	<i>3</i>			
	<i>4</i>			
	<i>5</i>			
<i>II</i>	<i>1</i>			
	<i>2</i>			
	<i>3</i>			
	<i>4</i>			
	<i>5</i>			

Latihan

Buatlah suatu uraian singkat tentang peranan komisi etik penelitian, peneliti dan hewan uji dalam proses penelitian.

Petunjuk Latihan

Anda bisa menggunakan petunjuk etik penelitian sebagai acuan untuk mencari hubungan tersebut.

Ringkasan

1. Setiap Hewan yang digunakan dalam percobaan tetap harus di jaga hak-haknya yang dikenal sebagai animal welfare
2. Animal welfare terdiri dari lima kebebasan yaitu Bebas dari rasa lapar dan haus, bebas dari kepanasan dan ketidak nyamanan fisik, bebas dari luka, penyakit dan rasa sakit, bebas mengekspresikan perilaku normal dan alami, bebas dari rasa takut dan penderitaan
3. Dalam memelihara hewan percobaan maka dititikberatkan pada Kondisi bangunan, Sanitasi, Tersedianya makanan, Kebutuhan air, Sirkulasi udara, Penerangan,

Kelembaban dan temperatur ruangan, Keamanan, dan Pemberian Training/kursus bagi personil

Tes 2

- 1) Berikut ini adalah Animal welfare terdiri dari lima kebebasan kecuali
 - A. Bebas dari rasa lapar dan haus,
 - B. bebas dari kepanasan dan ketidak nyamanan fisik,
 - C. bebas dari luka, penyakit dan rasa sakit,
 - D. bebas dari kurungan di kandang

- 2) Salah satu hak hewan adalah *Freedom from hunger and thirst*, yaitu
 - A. Bebas diberikan pakan apa saja sesuai tujuan penelitian
 - B. Hewan uji tidak dapat dipuaskan
 - C. Hewan uji dapat dipuaskan tapi tetap diberikan air
 - D. Hewan uji dapat dipuaskan hanya bila diperlukan dalam penelitian

- 3) Sedangkan hak hewan yang berupa *Freedom from fear and distress* dalam penelitian berarti
 - A. Hewan boleh dibiarkan merasa takut atau stress
 - B. Hewan dapat diberikan obat untuk untuk mengurangi rasa takut
 - C. Segera setelah perlakukan hewan dibebaskan dari rasa takut
 - D. Hewan yang stress dapat dimatikan

- 4) Dalam memelihara hewan percobaan maka dititikberatkan pada :
 - A. Kandang yang luas,
 - B. Tersedianya makanan yang berlebih
 - C. Kebutuhan air mengalir
 - D. Penerangan yang cukup

- 5) Keuntungan bagi hewan coba bila petugas menggunakan jas laboratorium dalam menangani mencit adalah :
 - A. Hewan Terhindar dari stress
 - B. Hewan menjadi tenang
 - C. Patugas terhindar dari penyakit hewan
 - D. Hewan terhindar tertularnya bakteri

Kegiatan Praktikum 3

Cara Pemberian Obat dan Pengambilan Spesimen Sampel Hewan Uji

Melalui kegiatan praktikum ini, akan membantu anda untuk dapat memberikan obat kepada hewan uji dengan berbagai jalur pemberian dan melalui kegiatan praktikum ini pula anda mampu untuk mengambil spesimen sampel hewan uji. Kedua kemampuan tadi diperlukan agar hewan coba terlindung dari rasa sakit selain itu dosis yang diberikan hewan coba juga sesuai dan kemampuan ini penting untuk melakukan percobaan-percobaan pada praktikum yang berikutnya.

Sebelum anda mampu memberikan obat dan mengambil spesimen pada hewan uji, anda dituntut untuk mampu memegang dan mengendalikan hewan uji dengan benar, hewan uji terlindung dari rasa sakit dan cedera yang didapat bila hewan tersebut dipegang dengan benar, selain itu bila hewan tersebut tidak dipegang dengan benar, maka hewan tersebut dapat melukai anda.

Persiapan Praktikum

A. Tujuan Percobaan

Melalui praktikum ini diharapkan anda mampu memegang, memberikan perlakuan dan mengambil sampel cairan dari hewan uji mencit, tikus dan kelinci dengan benar.

B. Prinsip Percobaan

Hewan percobaan dipegang, diberi perlakuan dan diambil sampel cairannya dengan benar sehingga hewan tetap tenang, sehat dan merasa aman

C. Alat dan hewan yang digunakan

Alat

1. Masker
2. Sarung tangan
3. Kandang restrain
4. Spoit oral
5. Spoit 1 ml

Hewan uji yang digunakan

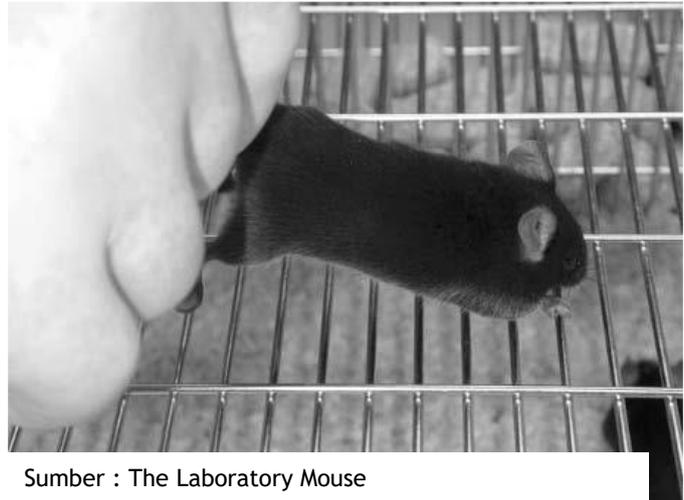
1. Mencit
2. Tikus
3. kelinci

Pelaksanaan Praktikum

Sebelum anda memegang mencit dan hewan lainnya sebaiknya anda menggunakan alat pelindung diri yang berupa baju laboratorium, sarung tangan, dan masker. Bila anda memiliki riwayat alergi dengan hewan yang digunakan dalam percobaan ini, segeralah melapor kepada instruktur.

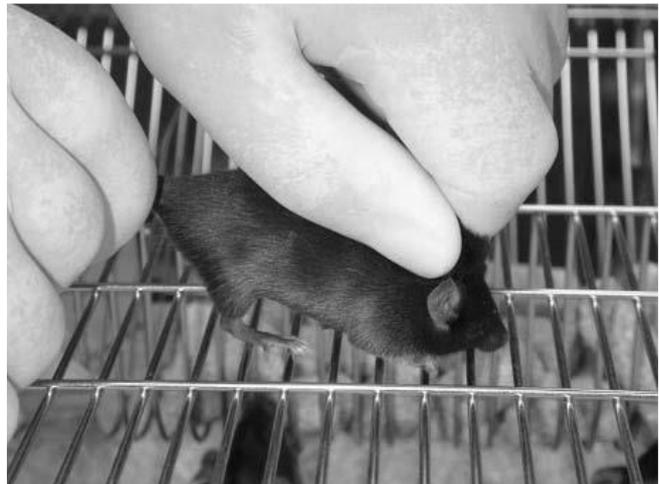
1. Memegang Mencit

- a. Mencit diangkat dengan cara memegang ekor kearah atas dengan tangan kanan
- b. lalu letakkan mencit di permukaan yang kasar biarkan mencit menjangkau / mencengkeram alas yang kasar (kawat kandang).



Sumber : The Laboratory Mouse

- c. Kemudian tangan kiri dengan ibu jari dan jari telunjuk menjepit kulit tengkuk mencit seerat / setegang mungkin.

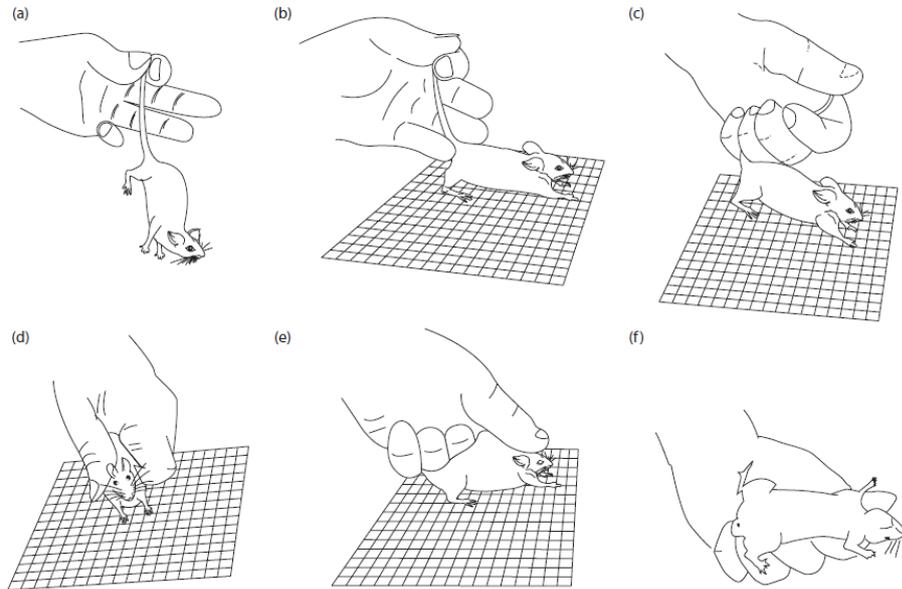


Sumber : The Laboratory Mouse

- d. Ekor dipindahkan dari tangan kanan, dijepit antara jari kelingking dan jari manis tangan kiri.
- e. Dengan demikian, mencit telah terpegang oleh tangan kiri dan siap untuk diberi perlakuan.



Sumber : The Laboratory Mouse



2. Cara Memegang Tikus

- a. Tikus adalah hewan yang pandai dan responnya baik bila dipegang dengan baik pula
- b. Tikus tidak akan menyerang kecuali merasa terancam atau diprovokasi. Penggunaan sarung tangan selain mengurangi resiko alergi, juga menghindari paparan feromone dan dan senyawa kimia lain yang dapat menyebabkan tikus gugup
- c. Angkat hewan lembut dengan menempatkan tangan Anda di sekitar dada bagian atas, tanpa meremas. Tempatkan ibu jari Anda di bawah rahang hewan jika Anda takut digigit, tetapi tidak memberikan tekanan pada tenggorokan



Sumber : The Norwegian Reference Centre for Laboratory Animal Science & Alternative



Sumber : The Norwegian Reference Centre for Laboratory Animal Science & Alternative

- d. Tikus akan tetap santai jika perut dipijat lembut. Berbicara dengan tenang dan menghindari suara bernada tinggi. Ingatlah untuk menahan bagian belakangnya hewan serta

Sumber : The Norwegian Reference Centre for Laboratory Animal Science & Alternative



Cara Memegang Kelinci

- a. Kelinci harus diposisikan diatas handuk atau baju laboratorium. Pastikan Anda memiliki kontrol penuh atas hewan setiap saat sehingga kelinci tidak dapat membahayakan dirinya sendiri dengan melompat dari meja.



Sumber : The Norwegian Reference Centre for Laboratory Animal Science & Alternative

- b. Pegang kulit di leher kelinci.



Sumber : The Norwegian Reference Centre for Laboratory Animal Science & Alternative

- c. tahanlah bagian bawah kelinci dengan tangan anda yang lain



Sumber : The Norwegian Reference Centre for Laboratory Animal Science & Alternative

- d. Angkat bagian belakangnya kelinci dengan mendukung daerah pinggul antara kaki



- e. Lengan kanan sekarang dapat dilepas untuk sementara, misalnya untuk membuka pintu kandang. Kepala hewan harus ditutup setiap saat oleh siku Anda.



Sumber : The Norwegian Reference Centre for Laboratory Animal Science & Alternative

- f. Kelinci dapat dipegang menggunakan jas lab, handuk tebal atau kain yang melilit hewan, sehingga memberikan rasa aman. Kelinci tidak suka ditinggalkan di tempat-tempat terbuka.



Sumber : The Norwegian Reference Centre for Laboratory Animal Science & Alternative

- g. Dalam contoh ini kelinci tertahan menggunakan kain tenun longgar yang yang diertatkan dengan menggunakan jarum rajut tumpul



Sumber : The Norwegian Reference Centre for Laboratory Animal Science & Alternative

- h. Dalam contoh ini sebuah handuk yang biasa digunakan untuk membungkus erat kelinci.



Sumber : The Norwegian Reference Centre for Laboratory Animal Science & Alternative

- i. Mata dapat ditutup untuk menenangkan hewan lebih lanjut, tetapi perlu hati-hati jika kelinci dibius, sebab depresi pernafasan yang disebabkan oleh banyak obat penenang dapat berakibat fatal jika saluran udara terganggu



- j. Handuk harus terselip di bawah bagian belakangnya kelinci sehingga hewan tidak bisa meronta mundur dari handuk.



Sumber : The Norwegian Reference Centre for Laboratory Animal Science & Alternative

- k. Cara yang sama dapat diaplikasikan pada jas lab.



Sumber : The Norwegian Reference Centre for Laboratory Animal Science & Alternative

CARA PEMBERIAN OBAT PADA HEWAN

1. Mencit

a. Oral:

Cairan obat diberikan dengan menggunakan sonde oral. Sonde oral ditempelkan pada langit-langit mulut atas mencit, kemudian perlahan-lahan dimasukkan sampai ke esofagus dan cairan obat dimasukkan.



Sumber : The Laboratory Mouse

b. Sub kutan:

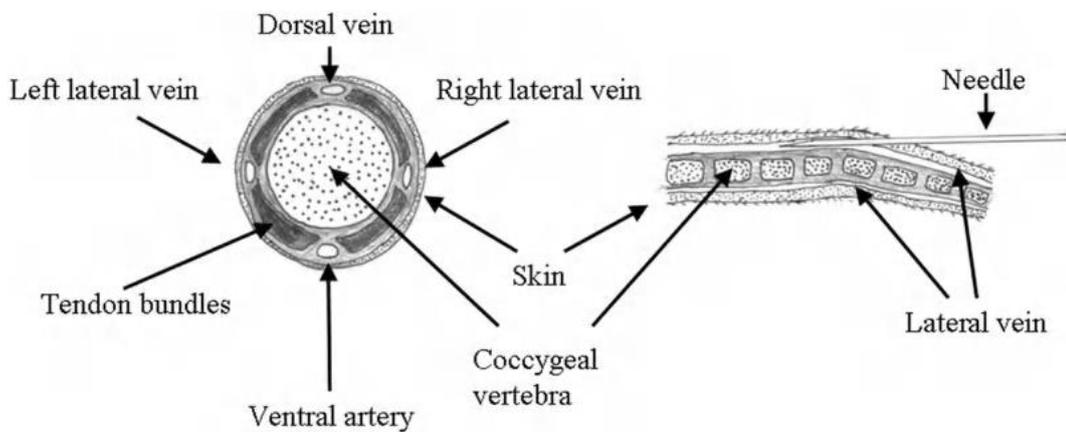
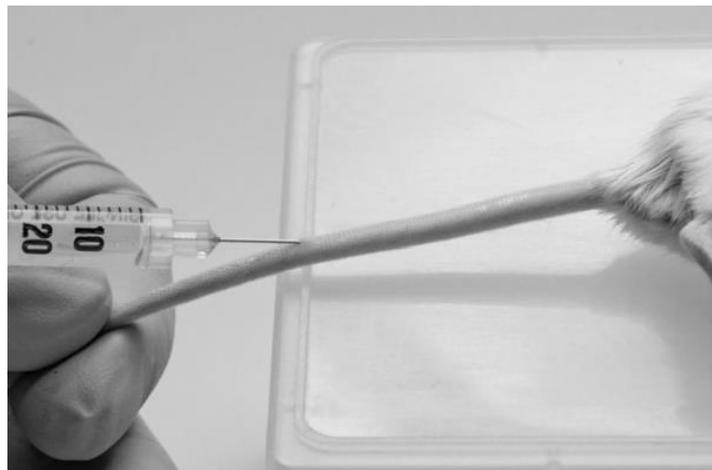
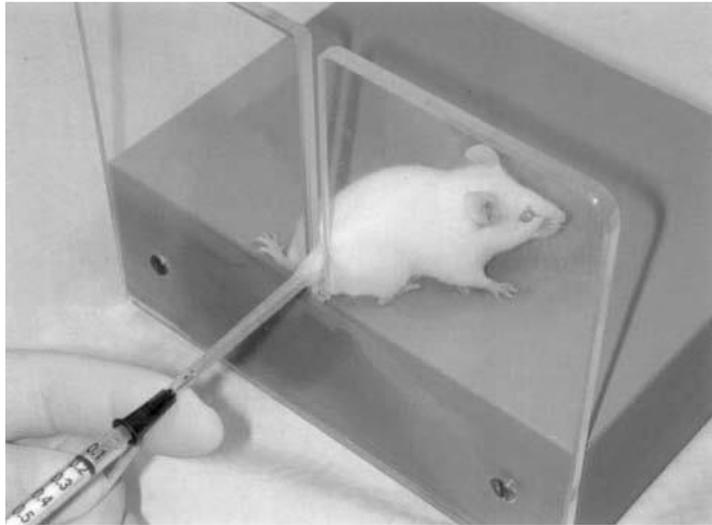
Kulit di daerah tengkuk diangkat dan ke bagian bawah kulit dimasukkan obat dengan menggunakan alat suntik 1 ml & jarum ukuran 27G/ 0,4 mm. Selain itu juga bisa di daerah belakang tikus



Sumber : The Laboratory Mouse

c. Intra vena:

Mencit dimasukkan ke dalam kandang restriksi mencit, dengan ekornya menjulur keluar. Ekornya dicelupkan ke dalam air hangat (28-30 °C) agar pembuluh vena ekor mengalami dilatasi, sehingga memudahkan pemberian obat ke dalam pembuluh vena. Pemberian obat dilakukan dengan menggunakan jarum suntik no. 24.



Sumber : The Laboratory Mouse

- d. Intramuskular:
Obat disuntikkan pada paha posterior dengan jarum suntik no. 24.



Sumber : The Laboratory Mouse

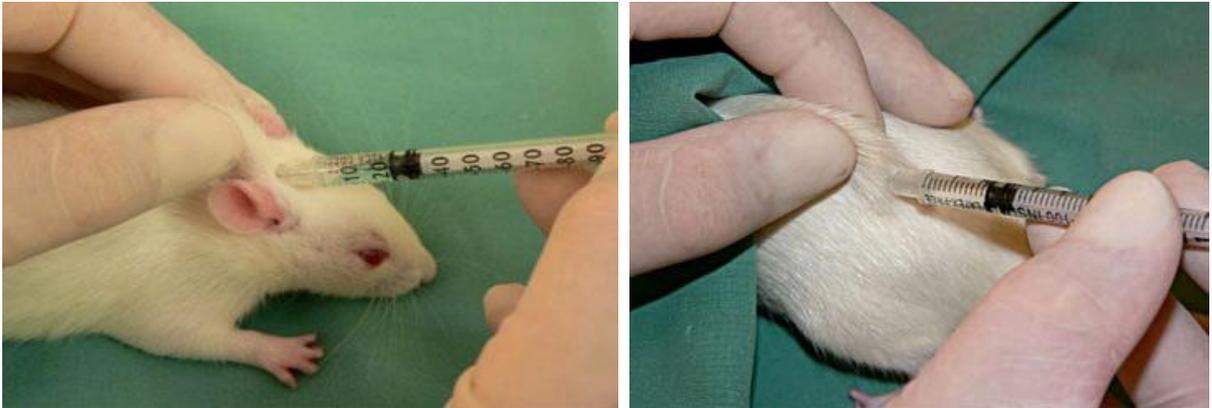
- e. Intra peritoneal:
Pada saat penyuntikan, posisi kepala lebih rendah dari abdomen. Jarum disuntikkan dengan sudut sekitar 100 dari abdomen pada daerah yang sedikit menepi dari garis tengah, agar jarum suntik tidak mengenai kandung kemih. Penyuntikan tidak di daerah yang terlalu tinggi untuk menghindari terjadinya penyuntikan pada hati.



Sumber : The Norwegian Reference Centre for Laboratory Animal Science & Alternative

2. Tikus

- a. Pemberian secara oral, intra muskular, intra peritoneal dan intravena dilakukan dengan cara yang sama seperti pada mencit.
- b. Pemberian secara sub kutan dilakukan di atas kulit tengkuk atau kulit abdomen.



Sumber : The Norwegian Reference Centre for Laboratory Animal Science & Alternative

3. Kelinci

- a. Oral:
Pemberian obat dengan cara oral pada kelinci dilakukan dengan menggunakan alat penahan rahang dan feeding tube no 6-8.
- b. Sub kutan:
Pemberian obat secara sub kutan dilakukan pada sisi sebelah pinggang atau tengkuk dengan cara kulit diangkat dan jarum (25-26 g) ditusukkan dengan arah anterior. Dengan volume pemberian maksimal 1% BB



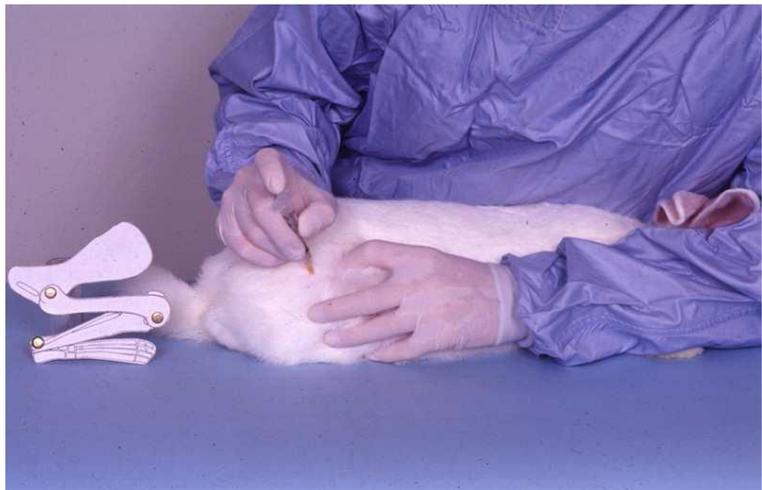
Sumber : The Norwegian Reference Centre for Laboratory Animal Science & Alternative

- c. Intra vena:
Penyuntikan dilakukan pada vena marginalis di daerah dekat ujung telinga. Sebelum penyuntikan, telinga dibasahi terlebih dahulu dengan alkohol atau air hangat.



Sumber : The Norwegian Reference Centre for Laboratory Animal Science & Alternative

- d. Intra muskular:
Pemberian intramuskular dapat dilakukan pada otot paha belakang. Hindari otot posterior femur karena risiko kerusakan saraf siatik. Gunakan jarum ukuran 25ga dan volume pemberian tidak lebih 0.5-1.0 ml/tempat penyuntikan



Sumber : The Norwegian Reference Centre for Laboratory Animal Science & Alternative

- e. Intra peritoneal:
Posisi diatur sedemikian rupa sehingga letak kepala lebih rendah daripada perut. Penyuntikan dilakukan pada garis tengah di muka kandung kencing.

Pelaporan

<i>Hewan coba</i>		<i>Cara pemberian</i>	<i>Vol. pemberian</i>
<i>Jenis</i>	<i>Berat</i>		

CARA MENGHITUNG KONVERSI DOSIS

Didalam melakukan percobaan dengan menggunakan hewan uji, seringkali menggunakan bahan kimia baik sebagai bahan yang akan diteliti maupun sebagai pembanding. Untuk itu perlu diketahui cara mengubah dosis manusia ke hewan uji.

Tabel konversi dosis hewan percobaan

	<i>Mencit 20g</i>	<i>Tikus 200g</i>	<i>Kelinci 1,5 kg</i>	<i>Manusia 70 kg</i>
<i>Mencit 20g</i>	1,0	7,0	27,80	387,9
<i>Tikus 200g</i>	0,14	1	3,9	56,0
<i>Kelinci 1,5 kg</i>	0,04	0,25	1,0	14,2
<i>Manusia 70 kg</i>	0,0026	0,018	0,07	1,0

Volume pemberian berdasarkan cara pemberiannya

Species	Volume maksimum sesuai jalur pemberian				
	i.v	i.m	i.p	s.c	p.o
Mencit 20-30 g	0,5	0,05	1,0	0,5-1,0	1,0
Tikus 200 g	1,0	0,1	2-5	2-5	5,0
Kelinci 2,5 kg	5-10	0,5	10-20	5-10	20,0

Contoh

Buatlah perhitungan dosis dan volume pemberian serta konsentrasi larutan yang diperlukan untuk memberikan obat glibenklamid dengan dosis lazim pada manusia sebesar 5 mg kepada kelinci

Perhitungan Dosis Pemberian glibenklamid pada kelinci

Dosis lazim untuk manusia = 5 mg

Konversi dosis untuk kelinci BB 1,5 kg = Dosis Lazim x Faktor Konversi
 = 5 mg x 0.07
 = 0.35 mg

Untuk kelinci berat 2,5 kg = 2,5 kg / 1,5 kg x 0,35 mg
 = 0,5833 mg

Dibulatkan menjadi = 0,6 mg

Dosis ini diberikan dalam volume = 20 ml

Dibuat larutan persediaan = 100 ml

Jumlah glibenklamid yang ditimbang = 100 ml / 20 ml x 0,6 mg
 = 3 mg

% kadar glibenklamid = 0,003 g / 100 ml x 100 %
 = 0,003 %

Jika akan digunakan tablet Glibenkalmid, maka timbang tablet glibenkalmid yang akan digunakan

Berat 1 tablet = 201,8 mg / tab

Berat serbuk glibenklamid yang timbang = 3 mg / 5 mg x 201,8 mg
 = 121,08 mg

Latihan

- 1) Jika dosis lazim manusia adalah 2 mg, berapa dosis diazepam yang harus diberikan ke mencit ?
- 2) Buatlah sediaan larutan Pentothal dengan konsentrasi tertentu yang akan diberikan ke mencit dengan dosis 50 mg/kgBB

Petunjuk menyelesaikan soal latihan

Ikutilah langkah-langkah cara perhitungan yang terdapat dalam kegiatan praktikum ini

Ringkasan

- 1) Penting untuk mengetahui cara memegang hewan uji sebelum mempelajari cara pemberian obat dan mengambil spesimen hewan uji.
- 2) Cara memegang hewan uji, berbeda-beda tergantung jenis hewan uji tersebut
- 3) Cara memegang hewan uji yang benar akan mencegah hewan tersebut cedera atau mencederai anda

Tes 3

- 1) Berikut alasan utama perlunya kemampuan untuk memegang hewan coba kecuali:
 - A. Mencegah hewan lari
 - B. Dapat memberikan perlakuan pada hewan coba dengan baik
 - C. Mencegah hewan melukai anda
 - D. Mencegah hewan melukai diri sendiri
- 2) Untuk mengangkat mencit, maka hewan tersebut lebih baik bila di pegang pada :
 - A. Badan
 - B. Ekor
 - C. Kepala
 - D. Telinga
- 3) Injeksi intravena pada kelinci dilakukan pada vena yang berada pada:
 - A. Kaki
 - B. Telinga
 - C. Ekor
 - D. Badan

- 4) Untuk menjaga kelinci tetap tenang dapat dilakukan dengan :
- A. Membiarkan kelinci sendiri
 - B. Memegang telinga kelinci
 - C. Menutup mata kelinci
 - D. Memegag kelinci dengan kedua tangan
5. Untuk mengurangi stress pada tikus dapat dilakukan dengan :
- A. Membiarkan tikus sendiri
 - B. Mengelus dada tikus
 - C. Memegang belakang kepala tikus
 - D. Memegang ekor tikus
6. Jika dosis pada manusia untuk obat A adalah 50 mg, maka untuk mencit setara dengan
- A. 13
 - B. 1,3
 - C. 0,13
 - D. 0,013

Kegiatan Praktikum 4

Cara Menganestesi dan Mengorbankan Hewan Uji

Melalui kegiatan praktikum ini, anda akan mampu memahami alasan suatu hewan di anastesi dan dikorbankan, serta mampu untuk melakukan anastesi dan mengorbankan hewan uji.

CARA MENGANESTESI

Anestesi adalah keadaan ketidaksadaran yang diinduksi pada hewan. Anestesi diperlukan terutama sebelum hewan itu dibedah, ada tiga tahapan anestesi yaitu analgesia (penghilang rasa sakit), amnesia (hilangnya memori) dan imobilisasi. Obat yang digunakan untuk mencapai anestesi biasanya memiliki efek yang berbeda-beda. Beberapa obat dapat digunakan secara individual untuk mencapai semua komponen anestesi, lainnya hanya dapat bersifat analgesik atau sedatif dan dapat digunakan secara individual atau dalam kombinasi dengan obat lain untuk mencapai anestesi penuh.

Relaksan otot rangka seperti Curariform atau beta bloker neuromuskuler (misalnya suksinilkolin, decamethonium, curare, galamin, pancuronium) tidak digunakan untuk anestesi dan tidak memiliki efek analgesik. Mereka hanya dapat digunakan bersama dengan anestesi umum. Biasanya, diperlukan pernapasan buatan. pemantauan fisiologis juga harus digunakan untuk menilai kedalaman anestesi, dimana metode refleksi normal tidak akan dapat diandalkan.

MENGORBANKAN HEWAN PERCOBAAN

Percobaan dengan hewan biasanya akan berakhir dengan mematikan hewan tersebut, baik karena akan diambil organ *in vitro* nya selama atau pada akhir percobaan (misalnya pengamatan histologi paru), untuk menilai bagaimana efek obat (misalnya efek toksik obat), atau karena hewan tersebut mengalami penderitaan atau sakit dan cacat yang tidak mungkin sembuh lagi.

Istilah mematikan hewan uji dikenal sebagai *euthanasia*, yaitu suatu proses dengan cara bagaimana seekor hewan di bunuh dengan menggunakan teknis yang dapat diterima secara manusiawi. Hal ini berarti hewan mati dengan mudah, cepat, tenang dengan rasa sakit yang sedikit mungkin.

Persiapan Praktikum

A. TUJUAN PERCOBAAN

Melakukan anestesi dan euthanasia pada hewan coba yang memenuhi syarat

B. ALAT DAN BAHAN YANG DIGUNAKAN

Alat yang digunakan

1. Kadang restrain

2. penggaris
3. Timbangan berat badan

BAHAN YANG DIGUNAKAN

1. Alkohol 70%
2. Eter
3. Etil Karbamat
4. Haloten
5. Natrium fenobarbital

C. HEWAN YANG DIGUNAKAN

Hewan yang digunakan adalah mencit jantan, galur lokal, berumur antara 6 – 8 minggu.

1. Untuk percobaan euthanasia gunakan mencit yang memenuhi syarat untuk dikorbankan yaitu jika suatu hewan telah kehilangan berat badan lebih dari 20%, 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).
2. Untuk percobaan anestesi gunakan hewan yang sehat

Pelaksanaan Praktikum

A. CARA MENG-ANASTESI MENCIT

Senyawa-senyawa yang dapat digunakan untuk anestesi adalah:

Eter

Eter dapat digunakan untuk anestesi waktu singkat. eter diletakkan diatas kapas dan dimasukkan dalam suatu wadah tertutup kedap, kemudian hewan ditempatkan dalam wadah tersebut dan ditutup. Didalam menggunakan eter sebaiknya anda menggunakan masker untuk mencegah anda menghirup uap eter tersebut. Saat hewan sudah kehilangan kesadaran, hewan dikeluarkan dan siap dibedah. Penambahan selanjutnya untuk menjaga kedalam anestesi dapat diberikan dengan bantuan kapas yang dibasahi dengan obat tersebut.

B. EUTHANASIA MENCIT DENGAN CARA FISIK

Cara fisik dilakukan dengan dislokasi leher. Proses dislokasi dilakukan dengan cara:

1. Ekor mencit dipegang dan kemudian ditempatkan pada permukaan yang bisa dijangkaunya, biarkan mencit meregangkan badannya.
2. Saat mencit meregangkan badannya, pada tengkuk ditempatkan suatu penahan, misalnya pensil atau batang logam yang dipegang dengan tangan kiri.
3. Ekornya ditarik dengan tangan kanan dengan keras, sehingga lehernya akan terdislokasi dan mencit akan terbunuh.

PELAPORAN

Tabel Pengamatan Anastesi mencit

<i>No mencit</i>	<i>Berat badan</i>	<i>Waktu anastesi</i>	
		<i>Sadar</i>	<i>Tidak sadar</i>

Latihan

Coba anda sebutkan 5 jenis-jenis penelitian dan alasan dalam penelitian tersebut mengapa suatu hewan harus di anastesi dan euthanasia

Petunjuk jawaban

Anda dapat melakukan browsing di internet atau membuka KTI yang ada dipustakaaan untuk mencari jenis-jenis penelitian tersebut

Ringkasan

1. Anestesi adalah keadaan ketidaksadaran yang diinduksi pada hewan
2. tiga tahapan anestesi yaitu analgesia amnesia dan imobilisasi
3. Anastesi pada hewan dilakukan dengan menggunakan bahan kimia baik dengan injeksi maupun dengan dihirup.
4. *Euthanasia* adalah proses mematikan hewan dengan cara yang manusiawi
5. *Euthanasia* dapat dilakukan secara fisik maupun dengan menggunakan bahan kimia

Tes 4

- 1) Tahapan anestesi pada hewan uji adalah
 - A. Sadar, analgesia, amnesia dan imobilisasi
 - B. Sadar, Amnesia, Analgesia dan imobilisasi

- C. Sadar, Amnesia, imobilisasi dan Analgesia
 - D. Sadar, Imobilisasi, Amnesia dan Analgesia
- 2) Hal yang perlu diperhatikan dalam penggunaan beta bloker neuromuskuler sebagai anastesi adalah
- A. Dapat digunakan sebagai anastesi tunggal
 - B. memiliki efek analgesik
 - C. digunakan sebagai anastesi umum.
 - D. Tidak diperlukan pernapasan buatan
- 3) Obat anestetika yang paling banyak digunakan untuk kelinci adalah
- A. fenobarbital natrium,
 - B. eter
 - C. halotan
 - D. curare
- 4) Euthanasia dapat dilakukan pada hewan uji bila
- A. ingin mengurangi jumlah hewan uji
 - B. hewan uji tidak digunakan lagi
 - C. mengalami cedera ringan
 - D. organ dalam diperlukan untuk penelitian
- 5) Cara fisik yang dapat dilakukan untuk mematikan tikus adalah dipukul pada bagian
- A. Kepala Depan
 - B. Wajah
 - C. Perut
 - D. tengkuk

Kunci Jawaban Tes

Tes 1

1. B
2. D
3. D
4. C
5. D

Tes 2

1. D
2. D
3. C
4. D
5. D

Tes 3

1. A
2. B
3. B
4. C
5. B
6. C

Tes 4

1. A
2. C
3. A
4. D
5. D

BAB II

ANALISIS EFEK FARMAKOKINETIK OBAT PADA HEWAN UJI

PENDAHULUAN

Sebelum anda mempelajari modul ini, coba anda renungkan berapa banyak cara pemberian obat yang dapat dilakukan, Anda mungkin sudah pernah menggunakan obat secara oral (diminum) namun ada banyak cara pemberian obat selain dengan cara tersebut, misalnya secara intra vena, mungkin anda sering bertanya pula kenapa pada saat darurat seperti di IRD (instalasi Rawat Darurat) pasien lebih sering diberikan sediaan secara injeksi intravena, ketimbang secara peroral?.

Ranah farmakokinetik terbatas pada dosis obat diberikan sampai terjadinya kadar obat di dalam darah. Jadi farmakokinetik menghubungkan antara besar dosis dari jalur pemberian, dan kadar obat di dalam darah terhadap waktu. Dilain pihak farmakodinamik mengaitkan antara perubahan kadar obat di dalam darah terhadap kadarnya di reseptor. Karena tidak mungkin mengetahui kadar obat dalam reseptor, maka praktis farmakodinamik mengaitkan perubahan kadar obat di dalam darah dan efek yang terjadi.

Ketika suatu sediaan obat diberikan dengan cara ekstravaskular (peroral, intramuskular, intraperitoneal, subkutan dan melalui rektum), maka obat mengalami proses absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi (ADME), sebelum mencapai reseptor (R). Obat akan berada dalam sirkulasi sistemik dengan kadar tertentu, kemudian menembus keluar dari pembuluh darah, terdistribusi ke seluruh jaringan organ dan akhirnya berikatan pada reseptor pada membran sel. Ikatan obat dengan reseptor inilah yang memicu berbagai reaksi kimia di dalam sel, sampai timbul efek obat.

Setelah mempelajari pokok bahasan ini, secara umum anda diharapkan dapat menganalisis pengaruh farmakokinetik obat terutama pengaruh absorpsi dan metabolisme terhadap kadar obat di dalam tubuh dengan mengamati onset dan durasi efek obat pada hewan coba.

Dalam modul ini anda akan dijelaskan bagaimana cara melakukan percobaan untuk menganalisis pengaruh farmakokinetik obat terutama pengaruh absorpsi dan metabolisme terhadap kadar obat di dalam tubuh dengan mengamati onset dan durasi efek obat pada hewan coba, oleh karena itu modul ini disusun menjadi 2 (dua) kegiatan praktikum yaitu :

Kegiatan Praktikum 1 : Pengujian Efek Absorpsi Obat pada Hewan Uji

Kegiatan Praktikum 2 : Pengaruh Metabolisme Obat pada Hewan Uji

Apabila Anda telah selesai mempelajari materi di sub pokok bahasan pertama maka diharapkan anda dapat :

🗑️ ■ Praktikum Farmakologi 🗑️ ■

1. Mengetahui cara mengkonversi dosis luminal manusia ke dosis pada mencit
2. Cara membuat sediaan luminal yang sesuai dengan hewan coba mencit yang digunakan
3. Menentukan onset dan durasi efek luminal pada mencit dengan mengamati reflek balik badan
4. Menganalisis perbedaan onset dan durasi efek luminal yang diberikan dengan berbagai rute pemberian obat.
5. Mengurutkan rute pemberian sesuai dengan kecepatan onset dan lama durasi efek luminal pada mencit

Selanjutnya apabila Anda telah selesai mempelajari materi di sub pokok bahasan kedua maka diharapkan anda dapat :

1. Mengetahui cara mengkonversi dosis cimetidine manusia ke dosis pada mencit
2. Cara membuat sediaan cimetidine yang sesuai dengan hewan coba mencit yang digunakan
3. Menentukan onset dan durasi efek luminal pada mencit yang diberikan tunggal dan yang diberikan secara kombinasi dengan cimetidine dengan mengamati reflek balik badan mencit
4. Menganalisis perbedaan onset dan durasi efek luminal yang diberikan tunggal dan yang diberikan secara kombinasi dengan cimetidine.
5. Menentukan apakah terjadi inhibisi atau induksi enzim pada pemberian secara bersamaan luminal dan cimetidine pada mencit

Didalam setiap kegiatan praktikum terdiri dari uraian singkat tentang materi praktikum, kemudian anda akan mendapatkan tahapan-tahapan dalam melakukan praktikum ini. Tahapan ini akan dibagi menjadi 3 bagian yaitu (1) persiapan yang memuat alat, bahan dan hewan yang perlu anda persiapkan dalam melakukan praktikum, (2) pelaksanaan yang memuat prosedur perlakuan pada hewan coba dan (3) pelaporan yang memuat tabel yang anda harus sesuai dengan pengamatan yang anda telah lakukan pada percobaan tersebut.

Selanjutnya anda diharapkan untuk menyelesaikan soal-soal latihan yang ada dalam tiap kegiatan praktikum tersebut. Jawaban dari soal-soal tersebut anda akan sangat membantu dalam menyusun laporan untuk menganalisis efek obat yang digunakan dalam percobaan tersebut. Pada akhir setiap kegiatan praktikum akan terdapat Tes, anda diminta untuk menyelesaikan Tes tersebut sebagai bahan penilaian terhadap pemahaman anda atas isi dari praktikum tersebut

Kegiatan Praktikum 1

Pengujian Efek Absorpsi Obat Pada Hewan Uji

Pada kegiatan praktikum ini, Anda akan menganalisa efek absorpsi obat yang diberikan dalam berbagai rute pemberian terhadap kadar obat didalam tubuh dengan mengamati efek kecepatan efek yang terjadi (onset) dan lama efek tersebut bertahan pada hewan uji (durasi).

Absorpsi adalah proses perpindahan obat dari tempat pemberiannya ke dalam pembuluh darah. Banyak faktor yang dapat mempengaruhi kecepatan dan besarnya dosis obat yang diabsorpsi, diantaranya adalah rute pemberian. Secara garis besar obat dapat diberikan melalui 2 rute pemberian yaitu enteral dan parenteral. Pemberian melalui enteral umumnya dilakukan melalui oral, dimana obat masuk ke dalam mulut, turun ke kerongkongan dan masuk ke dalam lambung dan sebagian besar penyerapan obat terjadi melalui usus. Sedangkan pemberian parenteral umumnya dilakukan melalui injeksi baik secara intravena, subcutan dan lain sebagainya.

Pemberian oral pada hewan uji akan memberikan bioavailabilitas yang beragam, dikarenakan banyak faktor yang mempengaruhi obat sebelum mencapai pembuluh darah. Hal ini menyebabkan kecepatan dan jumlah dosis yang mencapai pembuluh darah beragam pula, akibatnya efek obat juga akan memberikan onset dan durasi yang beragam pula. Sedangkan pada pemberian dengan cara parenteral terutama secara intravena maka obat langsung dimasukkan dalam pembuluh darah vena sehingga tidak terjadi proses absorpsi, akibatnya jumlah obat yang ada dalam pembuluh darah akan sama dengan jumlah obat yang diberikan. Tetapi rute pemberian parenteral lain tetap melalui proses absorpsi karena letak injeksi diberikan diluar pembuluh darah, seperti injeksi intra muskular yang diberikan melalui otot, atau injeksi lainnya sehingga pada pemberian tersebut tetap terjadi proses absorpsi.

Selain karena faktor rute pemberian maka absorpsi juga dipengaruhi oleh sifat fisik dan kimia dari bahan aktif yang diberikan, Bentuk asam, ester, garam, kompleks atau hidrat dari bahan obat dapat mempengaruhi kekuatan dan proses absorpsi obat. Selain itu bentuk kristal atau polimorfi, kelarutan dalam lemak atau air, dan derajat ionisasi juga mempengaruhi proses absorpsi.

Uraian Bahan

1. Na.CMC (FI ed III, Exipient)

Nama resmi	: NATRII CARBOXYMETHYLCELLULOSUM
Nama sinonim	: Natrium Karboksimetil Selulosa
Pemerian	: Serbuk atau butiran, putih atau putih kuning gading tidak berbau atau hampir tidak berbau, higroskopik
Kelarutan	: Mudah mendispersi dalam air, membentuk suspensi koloidal, tidak larut dalam etanol (95%)p, dalam eter p dan dalam pelarut organik lain
Kegunaan	: Bahan Pesuspensi

Konsentrasi : 0,1 – 1 %

2. Luminal

Nama resmi : PHENOBARBITALUM

Nama lain : Luminal

Pemerian : Hablur atau serbuk hablur, putih tidak berbau, rasa agak pahit.

Kelarutan : Sangat sukar larut dalam air; agak sukar larut dalam kloroform; larut dalam etanol.

Kegunaan : Sebagai sampel.

Farmakologi : Efek utama barbiturate ialah depresi SSP. Semua tingkat depresi dapat dicapai, mulai dari sedasi, hipnosik, koma sampai dengan kematian. Efek antisietas barbiturate berhubungan dengan tingkat sedasi yang dihasilkan. Efek hipnotik barbiturate dapat dicapai dalam waktu 20-60 menit dengan dosis hipnotik. Tidurnya menyerupai tidur fisiologis, tidak disertai mimpi yang mengganggu. Untuk efek antikonvulsi umumnya diberikan oleh barbiturate yang mengandung substitusi 5- fenil misalnya fenobarbital.

Farmakokinetik : Barbiturate secara oral diabsorpsi cepat dan sempurna dari lambung dan usus halus ke dalam darah. Barbiturate digunakan untuk mengatasi status epilepsy dan menginduksi serta mempertahankan anestesi umum. Barbiturate didistribusi secara luas dan dapat melewati plasenta, ikatan dengan protein plasma sesuai dengan kelarutan dalam lemak.

Dosis : 30 mg sebagai hipnotik

Persiapan Praktikum

A. TUJUAN PERCOBAAN

Untuk Menganalisis Kecepatan Absorpsi luminal dengan berbagai macam jalur pemberian obat

B. PRINSIP PERCOBAAN

Cara pemberian mempengaruhi kecepatan absorpsi, semakin cepat luminal diabsorpsi oleh tubuh maka semakin cepat pula efek hipnotik luminal terjadi dengan ditandai oleh waktu tertidurnya hewan coba yang lebih cepat pula

C. ALAT DAN BAHAN YANG DIGUNAKAN

Alat yang digunakan

1. Batang pengaduk
2. Beaker
3. Gelas ukur
4. Hot plate

5. Mixer
6. Spoit 1 ml
7. Spoit oral
8. Stop watch
9. Timbangan berat badan,

Bahan yang digunakan

1. Alkohol 70%
2. Aqua destilat,
3. Injeksi luminal
4. Natrium CMC.
5. Tablet luminal,

D. PEMBUATAN NATRIUM CMC 1%

1. Panaskan kurang lebih 200 ml air hingga mendidih
2. Timbang Na.CMC sebanyak 1 g
3. Masukkan Na.CMC kedalam beaker gelas 300 ml lalu tambahkan 50 ml air panas
4. Aduk campuran tersebut dengan mixer hingga homogen, ditandai dengan tidak nampaknya lagi serbuk berwarna putih dan campuran berupa seperti gel.
5. Tambahkan air panas sedikit demi sedikit sambil diaduk hingga volume larutan tersebut menjadi 100 ml, dinginkan

E. PEMBUATAN SUSPENSI LUMINAL UNTUK PEMBERIAN ORAL

Perhitungan Dosis oral luminal untuk mencit

Dosis lazim luminal untuk manusia	=	30 mg
Konversi dosis untuk mencit BB 20 g	=	Dosis Lazim x Faktor Konversi
	=	30 mg x 0,0026 = 0,078 mg
Untuk mencit dengan berat 30 g	=	(30 g/ 20 g) x 0,078 mg
	=	0,117 mg
Dosis ini diberikan dalam volume	=	0,2 ml
Dibuat larutan persediaan sebanyak	=	100 ml
Jumlah luminal yang digunakan	=	(100 ml / 0,2 ml) x 0,117 mg
	=	58,5 mg atau 0,0585 g
% kadar luminal	=	(0,0585 g / 100ml) x 100%
	=	0,0585%

Jika akan digunakan tablet luminal

Tablet luminal tersedia dalam beberapa konsentrasi yaitu 10 mg, 30 mg dan 100 mg per tabletnya, walaupun yang paling sering tersedia dalam kadar 30 mg/tabletnya. Tentukan dahulu tablet luminal dengan kandungan berapa yang saudara akan gunakan lalu timbang berat tablet tersebut. Misalkan tablet luminal yang anda akan gunakan adalah tablet luminal dengan kadar 30 mg/ tablet. Dikarenakan saudara membutuhkan luminal sebanyak 58,5 mg

Maka saudara membutuhkan setidaknya 2 tablet luminal. Timbanglah 2 tablet luminal tersebut lalu hitung beratnya. Misalnya berat 2 tablet luminal tersebut adalah 240 mg, maka serbuk tablet luminal yang anda butuhkan sebanyak

$$\begin{aligned}\text{Berat 2 tablet luminal @ 30 mg} &= 240 \text{ mg} / 60 \text{ mg luminal} \\ \text{Berat serbuk Luminal yang timbang} &= 58,5 \text{ mg} / 60 \text{ mg} \times 240 \text{ mg} \\ &= 234 \text{ mg}\end{aligned}$$

Cara pembuatan suspensi luminal 0,0585 %

1. Ambil 2 tablet luminal lalu gerus hingga halus, lalu timbang sebanyak yang dibutuhkan sesuai perhitungan.
2. Masukkan serbuk luminal yang sudah ditimbang lumpang, tambahkan sekitar 50 ml larutan Natrium CMC, aduk hingga homogen
3. Pindahkan ke suspensi luminal tersebut ke dalam erlenmeyer lalu cukupkan volumenya hingga 100 ml dengan larutan Na.CMC 1%

Pelaksanaan

Hewan percobaan dikelompokkan menjadi 4 kelompok dan masing–masing kelompok terdiri dari 4 ekor. Setiap kelompok dipisahkan dalam kandang yang berbeda. Sebelum penelitian dilakukan mencit diaklimatisasi selama 7 hari untuk membiasakan pada lingkungan percobaan, dan diberi makanan standar. Hewan dianggap sehat apabila perubahan berat badan tidak lebih dari 10% serta memperlihatkan perilaku normal

1. Gunakan mencit jantan sebanyak 12 ekor
2. Ditimbang berat badan tiap mencit lalu catat
3. Mencit kemudian dikelompokkan secara rawu ke dalam 4 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 3 ekor, dimana
4. kelompok I sebagai kontrol, diberikan larutan Na.CMC 1%
5. kelompok II sebagai kelompok oral yang diberikan suspensi luminal secara oral dengan dosis 0,2 ml / 30 BB mencit
6. kelompok III sebagai kelompok subkutan yang diberikan injeksi luminal secara subkutan sebanyak 0,117 mg / 30 g BB mencit
7. dan kelompok IV sebagai kelompok intravena yang diberikan injeksi luminal secara intravena sebanyak 0,117 mg / 30 g BB mencit
8. semua pemberian dilakukan dengan dosis yang sesuai
9. setiap pemberian obat dicatat waktunya, kemudian mencit diamati berapa lama waktu yang dibutuhkan mula tertidur (onset obat) berapa lama waktu tidur mencit tersebut (durasi), dengan mengamati refleksi balik badan mencit.

Pelaporan

1. Data Pengamatan Volume pemberian obat pada mencit

Kelompok	Replikasi	BB mencit (g)	Vol Pemberian (ml)
Peroral	1		
	2		
	3		
Subkutan	1		
	2		
	3		
Intravena	1		
	2		
	3		
Na.CMC	1		
	2		
	3		

2. Data Pengamatan Percobaan Pengaruh Absorpsi Obat

Kelompok	Replikasi	<i>Jam pemberian</i>	Reflek balik badan (pada jam)		Durasi
			<i>Hilang</i>	<i>kembali</i>	
Peroral	1				
	2				
	3				

Subkutan	1				
	2				
	3				
Intravena	1				
	2				
	3				
Na.CMC	1				
	2				
	3				

Latihan

Untuk memperdalam pemahaman Anda terhadap materi praktikum diatas, maka kerjakanlah soal berikut :

- 1) Dalam suatu percobaan, jika obat Luminal diberikan secara peroral pada jam 09.00, kemudian mencit tertidur jam 09.50, dan terbangun pada jam 11.00, maka obat tersebut menunjukkan karakteristik :
 - a. Onset obat adalah 50 menit
 - b. Onset obat 2 jam
 - c. Durasi obat 50 menit
 - d. Durasi obat 50 menit
- 2) Hasil percobaan pemberian Luminal dosis 100 mg/kgBB pada mencit menunjukkan :

Pemberian	Jam pemberian	Reflek balik badan (pada jam)	
		Hilang	kembali
<i>iv</i>	<i>09.00</i>	<i>09.05</i>	<i>11.00</i>
<i>im</i>	<i>09.05</i>	<i>09.12</i>	<i>11.00</i>
<i>sc</i>	<i>09.10</i>	<i>09.25</i>	<i>11.00</i>
<i>ip</i>	<i>09.12</i>	<i>09.20</i>	<i>11.00</i>
<i>po</i>	<i>09.15</i>	<i>09.45</i>	<i>11.00</i>

Berdasarkan data tersebut, urutan cara pemberian yang memiliki durasi efek yang paling lama adalah sbb :

- a. iv > im > sc > ip > po
- b. po > ip > sc > im > iv
- c. iv > im > ip > sc > po
- d. iv > ip > im > sc > po
- e. po > im > ip > sc > iv

Petunjuk jawaban latihan

Dalam menyelesaikan soal-soal diatas anda perlu perhatikan bahwa onset suatu obat ditandai dengan mula efek obat itu timbul sedangkan durasi efek obat ditandai dengan lamanya efek obat yang terjadi pada hewan uji.

Ringkasan

1. Kecepatan timbulnya efek suatu obat dikenal sebagai onset obat. dan lamanya efek obat dikenal sebagai durasi obat
2. Onset obat bergantung pada kecepatan absorpsi obat.
3. Kecepatan absorpsi obat dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor termasuk cara pemberian dan lokasi pemberian obat, bentuk sediaan dan sifat fisik dan kimia sediaan.
4. Kecepatan obat tersebut sampai kedalam darah akan mempercepat onset obat yang teramati.

Tes 1

- 1) Yang dimaksud dengan onset obat adalah
 - A. Waktu mulai efek obat timbul
 - B. Waktu mula obat diberikan
 - C. Jarak antara waktu obat diberikan sampai efek yang timbul
 - D. Jarak antara waktu efek timbul sampai efek hilang

- 2) Yang dimaksud dengan durasi obat adalah
 - A. Waktu mulai efek obat timbul
 - B. Waktu mula obat diberikan
 - C. Jarak antara waktu obat diberikan sampai efek yang timbul
 - D. Jarak antara waktu efek timbul sampai efek hilang

- 3) Jika dosis luminal untuk antikonvulsan sebesar 100 mg, berapa dosis yang diberikan untuk mencit
- 0,0026 mg
 - 0,026 mg
 - 0,26 mg
 - 2,6 mg
- 4) Jika onset luminal diketahui selama 30 menit, durasi selama 2 jam, maka bila obat diberikan pada jam 09.00 maka mencit akan kembali sadar pada jam
- 09.30
 - 10.00
 - 11.00
 - 11.30
- 5) Jika diinginkan mencit segera tertidur dengan waktu tidur yang lama, maka obat yang diberikan sebaiknya memiliki sifat...
- Onset yang cepat, durasi yang cepat
 - Onset yang cepat, durasi yang lambat
 - Onset yang lambat durasi yang cepat
 - Onset yang lambat, durasi yang lambat.
- 6) Hasil percobaan pemberian Luminal pada mencit menunjukkan :

Pemberian	Jam pemberian	Reflek balik badan (pada jam)	
		Hilang	kembali
<i>iv</i>	<i>09.00</i>	<i>09.05</i>	<i>11.00</i>
<i>im</i>	<i>09.05</i>	<i>09.12</i>	<i>11.00</i>
<i>sc</i>	<i>09.10</i>	<i>09.25</i>	<i>11.00</i>
<i>ip</i>	<i>09.12</i>	<i>09.20</i>	<i>11.00</i>
<i>po</i>	<i>09.15</i>	<i>09.45</i>	<i>11.00</i>

Berdasarkan data tersebut, urutan cara pemberian yang memiliki onset efek yang paling cepat adalah sbb :

- iv, im, ip, sc, po*
- iv, im, ip, sc, po*
- po,sc,ip,im,iv*
- po,sc,ip,im,iv*

Laporan Praktikum

Laporan praktikum disusun dengan format sebagai berikut :

1. Bab I : Pendahuluan

Dalam bab ini terdiri dari 3 unsur yaitu :

I.1. Latar Belakang Praktikum

Memuat hal-hal yang mendasari pentingnya malakukan praktikum ini baik secara umum sebagai ilmu dalam kefarmasian, maupun secara khusus untuk memahami matakuliah farmakologi

I.2. Maksud dan Tujuan Praktikum

Memuat maksud dan tujuan praktikum yang dapat terdiri dari tujuan umum dan khusus

I.3. Prinsip Praktikum

Memuat prinsip dasar dalam melakukan praktikum ini

2. Bab II : Tinjauan Pustaka

Memuat dasar-dasar teori yang penting diketahui dalam melaksanakan praktikum ini, serta teori-teori yang diperlukan dalam membuat pembahasan hasil praktikum

3. Bab III : Metode Kerja

4. Bab IV : Hasil Percobaan dan Pembahasan

- a. Memuat data-data yang didapat dari hasil percobaan, dibuat sesuai dengan format lembar praktikum yang terdapat pada akhir modul praktikum
- b. Memuat gambar-gambar/tabel/grafik
- c. Untuk grafik dibuat dalam milimeter blok
- d. Perhitungan
- e. Pembahasan

Memuat pembahasan hasil praktikum yang meliputi pembahasan data, analisis hasil perhitungan, menghubungkan dengan teori dan memperkirakan penyebab terjadinya perbedaan hasil percobaan dan praktikum

5. Bab V : Kesimpulan

Berisi hal-hal yang disimpulkan dari hasil analisis percobaan dan pembahasan yang merupakan jawaban dari tujuan praktikum.

6. Daftar pustaka

Diharapkan daftar pustakan berasal dari sekurang-kurangnya 5 sumber selain modul

Selain format laporan yang diatas anda juga harus menjawab setiap pertanyaan yang ada di modul praktikum untuk masing-masing judul kegiatan praktikum.

Agar laporan anda tidak tercecer maka, disarankan anda menjilid rapi laporan praktikum yang telah anda buat dan membuat kopi laporan yang telah selesai

Mudah-mudahan anda dapat melaksanakan kegiatan praktikum dengan baik dan benar serta menyelesaikan laporan dan tugas yang terdapat dalam modul ini tepat waktu

Kegiatan Praktikum 2

Pengaruh Metabolisme Obat pada Hewan Uji

Dear rekan-rekan praktikan,

Melalui kegiatan praktikum ini akan membantu Anda untuk menganalisis pengaruh metabolisme obat terhadap konsentrasi obat di dalam darah dengan mengamati kecepatan efek yang terjadi (onset) dan lama efek obat tersebut bertahan pada hewan uji (durasi).

Metabolisme, sering pula disebut biotransformasi atau perubahan kimiawi obat dalam tubuh. Metabolisme dapat terjadi diseluruh tubuh (kecuali di tulang atau jaringan lemak). Organ utama tubuh yang memetabolisme obat adalah di hati. Metabolisme adalah upaya tubuh untuk mengeluarkan senyawa asing diantaranya dengan mengubah senyawa tersebut menjadi lebih hidrofilik sehingga mudah diekskresikan. Proses ini berlangsung dengan melibatkan reaksi-reaksi biokimia fase-1 (oksidasi, reduksi, hidrolisis dan hidrosilasi), dilanjutkan fase-2 (konyugasi sulfat, asetat, glukoronat, glisin dan glutation). Enzim utama yang banyak berperan dalam dalam metabolisme obat adalah sitokrom P450 (CYP). Kerja enzim ini dalam memetabolisme suatu obat dapat mengalami inhibisi (penghambatan) dan induksi (peningkatan) kerja oleh suatu senyawa lain, sehingga dapat mengubah ketersediaan hayati obat, yang pada akhirnya dapat mengubah kadar obat dalam darah.

Pada umumnya metabolisme akan mengurangi kadar obat di dalam tubuh (kecuali untuk obat jenis *prodrug*). Sehingga peningkatan kemampuan enzim dalam metabolisme (induksi) akan menyebabkan kadar obat didalam tubuh akan berkurang, begitu pula sebaliknya penghambatan kemampuan enzim dalam metabolisme (inhibisi) akan menyebabkan kadar obat meningkat. Induksi dan inhibisi enzim sering terjadi bila obat diberikan secara bersamaan. Jika suatu obat diberikan secara bersamaan dan salah satu dari obat tersebut dapat mempengaruhi kerja enzim dalam metabolisme obat yang lainnya maka, kadar obat yang dimetabolisme oleh enzim tersebut akan berubah pula, yang dapat diamati pada efek yang terjadi,

Persiapan Praktikum

A. Tujuan Percobaan

Untuk Menganalisis efek Metabolisme Diazepam yang diberikan secara bersamaan dengan Cimetidin

B. Prinsip Percobaan

Berkurangnya kemampuan enzim dalam metabolisme Diazepam yang menyebabkan konsentrasi Diazepam menjadi lebih tinggi di dalam darah yang dapat diamati dengan durasi efek yang lebih lama.

C. Alat dan bahan yang digunakan

Alat yang digunakan

1. Batang pengaduk

2. Beaker
3. Gelas ukur
4. Hot plate
5. Mixer
6. Spoit oral
7. Stop watch
8. Timbangan berat badan,

Bahan yang digunakan

1. Tablet Diazepam
2. Tablet Cimetidine,
3. Alkohol 70%,
4. Aqua destilat,
5. Natrium CMC.

D. Pembuatan Bahan Praktikum

1. Pembuatan Natrium CMC 1%
 - a. Panaskan kurang lebih 200 ml air hingga mendidih
 - b. Timbang Na.CMC sebanyak 1 g
 - c. Masukkan Na.CMC kedalam beaker gelas 300 ml lalu tambahkan 50 ml air panas
 - d. Aduk campuran tersebut dengan mixer hingga homogen, ditandai dengan tidak nampaknya lagi serbuk berwarna putih dan campuran berupa seperti gel.
 - e. Tambahkan air panas sedikit demi sedikit sambil diaduk hingga volume larutan tersebut menjadi 100 ml, dinginkan
2. Pembuatan suspensi oral luminal untuk mencit

Perhitungan Dosis oral Diazepam untuk mencit

Dosis lazim Diazepam untuk manusia = 5 mg

Konversi dosis untuk mencit BB 20 g = Dosis Lazim x Faktor Konversi

$$= 5 \text{ mg} \times 0,0026 = 0,013 \text{ mg}$$

Untuk mencit dengan berat 30 g = $(30 \text{ g} / 20 \text{ g}) \times 0,013 \text{ mg}$

$$= 0,0195 \text{ mg}$$

Dosis ini diberikan dalam volume = 0,2 ml

Dibuat larutan persediaan sebanyak = 100 ml

Jumlah Diazepam yang digunakan = $(100 \text{ ml} / 0,2 \text{ ml}) \times 0,0195 \text{ mg}$

$$= 9,75 \text{ mg} \sim 10 \text{ mg}$$

$$= 10 \text{ mg} = 0,01 \text{ g}$$

% kadar Diazepam = $(0,010 \text{ g} / 100 \text{ ml}) \times 100\%$

$$= 0,01\%$$

Jika akan digunakan tablet Diazepam

Tablet Diazepam tersedia dalam beberapa konsentrasi yaitu 2 mg, dan 5 mg per tabletnya, walaupun yang paling sering tersedia dalam kadar 2 mg/tabletnya. Untuk membuat suspensi diazepam 0,01% tentukan dahulu tablet Diazepam dengan kandungan berapa yang saudara akan gunakan Misalkan tablet Diazepam yang anda akan gunakan adalah tablet Diazepam dengan kadar 5 mg/ tablet. Dikarenakan saudara membutuhkan Diazepam sebanyak 10 mg Maka saudara membutuhkan setidaknya 2 tablet Diazepam.

Cara pembuatan suspensi Diazepam 0,01 %

1. Ambil 2 tablet Diazepam lalu gerus hingga halus,
2. Masukkan serbuk luminal yang sudah ditimbang lumpang, tambahkan sekitar 50 ml larutan Natrium CMC, aduk hingga homogen
3. Pindahkan ke suspensi luminal tersebut ke dalam erlenmeyer lalu cukupkan volumenya hingga 100 ml dengan larutan Na.CMC 1%

3. Pembuatan suspensi oral cimetidine

Dosis lazim cimetidine untuk manusia	= 200 mg
Konversi dosis untuk mencit BB 20 g	=Dosis Lazim x Faktor Konversi
	= 200 mg x 0,0026 = 0,52 mg
Untuk mencit dengan berat 30 g	= (30 g/ 20 g) x 0,52 mg
	= 0,78 mg
Dosis ini diberikan dalam volume	= 0,2 ml
Dibuat larutan persediaan sebanyak	= 100 ml
Jumlah luminal yang digunakan	= (100 ml / 0,2 ml) x 0,78 mg
	= 390 mg atau 0,390 g
% kadar luminal	= (0,390 g / 100ml) x 100%
	= 0,390 %

Jika akan digunakan tablet cimetidine

Tentukan dahulu berat tablet cimetidine yang saudara akan gunakan dengan cara menimbang berat tablet tersebut. Dikarenakan saudara membutuhkan cimetidine sebanyak 390 mg Maka saudara membutuhkan setidaknya 2 tablet cimetidine. Timbanglah 2 tablet cimetidine tersebut lalu hitung beratnya. Misalnya berat 2 tablet cimetidine tersebut adalah 500 mg, maka serbuk tablet luminal yang anda butuhkan sebanyak

Berat 2 tablet luminal @ 200 mg	= 500 mg / 400 mg luminal
Berat serbuk Cimetidine yang timbang	= (390 mg / 400 mg) x 500 mg
	= 487,5 mg

Cara pembuatan suspensi Cimetidine 0,390 %

1. Ambil 2 tablet Cimetidine lalu gerus hingga halus, lalu timbang sebanyak yang dibutuhkan sesuai perhitungan.

2. Masukkan serbuk Cimetidine yang sudah ditimbang lumpang, tambahkan sekitar 50 ml larutan Natrium CMC, aduk hingga homogen
3. Pindahkan ke suspensi Cimetidine tersebut ke dalam erlenmeyer lalu cukupkan volumenya hingga 100 ml dengan larutan Na.CMC 1%

Pelaksanaan

Hewan percobaan dikelompokkan menjadi 3 kelompok dan masing–masing kelompok terdiri dari 3 ekor. Setiap kelompok dipisahkan dalam kandang yang berbeda. Sebelum penelitian dilakukan, mencit diaklimatisasi selama 7 hari untuk membiasakan pada lingkungan percobaan, dan diberi makanan standar. Hewan dianggap sehat apabila perubahan berat badan tidak lebih dari 10% serta memperlihatkan perilaku normal

1. Gunakan mencit jantan sebanyak 9 ekor
2. Ditimbang berat badan tiap mencit lalu catat
3. Mencit kemudian dikelompokkan secara rawu ke dalam 3 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 3 ekor, dimana kelompok I sebagai kontrol, diberikan larutan Na.CMC 1%, kelompok II sebagai kelompok oral yang diberikan suspensi Diazepam, dan kelompok III sebagai kelompok Cimetidine yang diberikan suspensi Diazepam dan suspensi cimetidine
4. semua pemberian dilakukan secara oral dengan dosis 0,2 ml / 30g BB mencit
5. setiap pemberian obat dicatat waktunya, kemudian mencit diamati berapa lama waktu yang dibutuhkan mulai tertidur (onset obat) berapa lama waktu tidur mencit tersebut (durasi), dengan mengamati refleksi balik badan mencit.

Pelaporan

1. Data Pengamatan Volume pemberian obat pada mencit

Kelompok	Replikasi	BB mencit	Vol Pemberian
Peroral	1		
	2		
	3		
Subkutan	1		
	2		
	3		

✂ ■ **Praktikum Farmakologi** ✂ ■

Intravena	1		
	2		
	3		
Na.CMC	1		
	2		
	3		

2. Data Pengamatan Percobaan Pengaruh Absorpsi Obat

Kelompok	Replikasi	<i>Jam pemberian</i>	Reflek balik badan (pada jam)		Durasi
			<i>Hilang</i>	<i>kembali</i>	
Peroral	1				
	2				
	3				
Subkutan	1				
	2				
	3				
Intravena	1				
	2				
	3				
Na.CMC	1				
	2				
	3				

Latihan

- 1) Jelaskan faktor-faktor yang mempengaruhi metabolisme obat
- 2) Sebutkan Faktor eksternal yang dapat mempengaruhi metabolisme obat

Petunjuk menyelesaikan soal latihan

Anda dapat mendapatkan jawaban soal-soal diatas dengan membuka buku yang berkaitan dengan farmakologi dasar

Ringkasan

- 1) Metabolisme adalah proses perubahan suatu senyawa menjadi metabolitnya
- 2) Jika suatu obat mengalami metabolisme akan menyebabkan kadar obat di dalam tubuh akan berkurang (kecuali prodrug)
- 3) Enzim yang memetaboliseme obat dapat diinduksi (ditingkatkan kerjanya) akibatnya kadar obat didalam tubuh berkurang
- 4) Enzim yang memetaboliseme obat dapat pula diinhibis (dihambat kerjanya) akibatnya kadar obat didalam tubuh meningkat
- 5) Dalam percobaan ini digunakan cimetidine untuk menghambat kerja enzim yang memetabolisme Diazepam sehingga kadar Diazepam meningkat di dalam darah

Tes 2

- 1) Jika cimetidine dengan dosis lazim pada manusia sebesar 200 mg, akan diberikan pada kelinci dengan berat badan 1,5 kg, berapa dosis untuk kelinci tersebut
 - A. 0,14 mg
 - B. 1,4 mg
 - C. 14 mg
 - D. 140 mg
- 2) Jika tersedian suspensi Diazepam dengan konsentrasi 0,06 %, akan digunakan untuk mencit dengan dosis sekali pemberian 0,12 mg, maka berapa banyak volume suspensi Diazepam tersebut diambil
 - A. 0,1 ml
 - B. 0,2 ml
 - C. 0,3 ml
 - D. 0,4 ml

- 3) Jika Diazepam diberikan sendiri pada hewan uji, hewan uji tertidur selama 2 jam, namun bila diberikan bersamaan cimetidine, hewan uji tertidur selama 3 jam, ini dapat disebabkan oleh
- A. induksi enzim yang memetabolisme Diazepam
 - B. inhibisi enzim yang memetabolisme Diazepam
 - C. induksi enzim yang memetabolisme cimetidine
 - D. inhibisi enzim yang memetabolisme cimetidine
- 4) Yang manakah proses berikut yang menghasilkan onset yang cepat dan durasi yang lama
- A. pemberian iv dan terjadi induksi enzim
 - B. pemberian iv dan terjadi inhibisi enzim
 - C. pemberian oral dan terjadi induksi enzim
 - D. pemberian oral dan terjadi inhibisi enzim
- 5) Jika anda membutuhkan 50 mg cimetidine, dan tersedia tablet cimetidine dengan berat tablet 300 mg. Diketahui tiap tablet mengandung cimetidine 200 mg, berapa banyak serbuk cimetidine yang harus diambil
- A. 75 mg
 - B. 33,3 mg
 - C. 350 mg
 - D. 250 mg

LAPORAN PRAKTIUM

Laporan praktikum disusun dengan format sebagai berikut :

1. Bab I : Pendahuluan

Dalam bab ini terdiri dari 3 unsur yaitu :

I.1. Latar Belakang Praktikum

Memuat hal-hal yang mendasari pentingnya malakukan praktikum ini baik secara umum sebagai ilmu dalam kefarmasian, maupun secara khusus untuk memahami matakuliah farmakologi

I.2. Maksud dan Tujuan Praktikum

Memuat maksud dan tujuan praktikum yang dapat terdiri dari tujuan umum dan khusus

I.3. Prinsip Praktikum

Memuat prinsip dasar dalam melakukan praktikum ini

2. Bab II : Tinjauan Pustaka

Memuat dasar-dasar teori yang penting diketahui dalam melaksanakan praktikum ini, serta teori-teori yang diperlukan dalam membuat pembahasan hasil praktikum

3. Bab III : Metode Kerja

4. Bab IV : Hasil Percobaan dan Pembahasan

a. Memuat data-data yang didapat dari hasil percobaan, dibuat sesuai dengan format lembar praktikum yang terdapat pada akhir modul praktikum

b. Memuat gambar-gambar/tabel/grafik

c. Untuk grafik dibuat dalam milimeter blok

d. Perhitungan

e. Pembahasan

Memuat pembahasan hasil praktikum yang meliputi pembahasan data, analisis hasil perhitungan, menghubungkan dengan teori dan memperkirakan penyebab terjadinya perbedaan hasil percobaan dan praktikum

5. Bab V : Kesimpulan

Berisi hal-hal yang disimpulkan dari hasil analisis percobaan dan pembahasan yang merupakan jawaban dari tujuan praktikum.

6. Daftar pustaka

Diharapkan daftar pustakan berasal dari sekurang-kurangnya 5 sumber selain modul

Selain format laporan yang diatas anda juga harus menjawab setiap pertanyaan yang ada di modul praktikum untuk masing-masing judul kegiatan praktikum.

Agar laporan anda tidak tercecer maka, disarankan anda menjilid rapi laporan praktikum yang telah anda buat dan membuat kopi laporan yang telah selesai

Mudah-mudahan anda dapat melaksanakan kegiatan praktikum dengan baik dan benar serta menyelesaikan laporan dan tugas yang terdapat dalam modul ini tepat waktu

Kunci Jawaban Tes

Tes 1

1. C
2. D
3. C
4. C
5. D
6. A

Tes 2

1. C
2. B
3. B
4. B
5. A

Daftar Pustaka

Lukman Hakim (2012) *Farmakokinetik Klinik*. Bursa Ilmu. Yogyakarta

Krinke, G.J. (2000). *The laboratory rat*. Academic Press. U.K

Departemen Kesehatan RI (1993) *Pedoman Pengujian dan Pengembangan Fitofarmaka: Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitokimia dan Pengujian Klinik*, Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phyto Medica. Jakarta

Eun-Ja Park, Hea-Young Cho, dan Yong-Bok Lee. 2005. *Effect of Cimetidine and Phenobarbital on Metabolite Kinetics of Omeprazole in Rats*. Arch Pharm Res Vol 2& No 10, 1196-1202, 2005

Gough PA, Curry SH, Araujo OE, Robinson JD, Dallman JJ. *Influence of cimetidine on oral diazepam elimination with measurement of subsequent cognitive change*. Br J Clin Pharmacol 14 (1982): 739-42

BAB III

ANALISIS EFEK OBAT ANALGETIK DAN ANTIPIRETIK PADA HEWAN UJI

PENDAHULUAN

Mungkin setiap orang pernah merasakan nyeri, apakah itu nyeri kepala, nyeri karena luka atau nyeri dengan penyebab yang lainnya, begitu pula dengan demam. Ketika seseorang merasakan nyeri, biasanya mereka akan mengkonsumsi pereda nyeri yang dapat dibeli secara bebas di apotek atau toko obat, dan bila tak tertahankan, terkadang harus di bawah ke rumah sakit. Obat yang digunakan untuk meredakan nyeri, dikenal sebagai analgetik, sedangkan obat yang digunakan untuk menurunkan demam dikenal sebagai antipiretik. Biasanya obat yang memiliki efek analgetik dapat pula digunakan sebagai antipiretik, tetapi setiap jenis obat tersebut memiliki kemampuan yang berbeda untuk setiap efeknya, misalnya parasetamol dapat digunakan sebagai antipiretik juga dapat digunakan sebagai analgetik, tetapi efek antipiretik parasetamol lebih dominan di bandingkan efek analgetiknya.

Setelah mempelajari pokok bahasan ini dengan baik, secara umum anda diharapkan dapat menganalisis efek obat analgetik dan antipiretik pada hewan uji. Sasaran lebih rinci dalam modul ini, disusun dalam 2 sub pokok bahasan yaitu sub pokok bahasan pertama membahas obat analgetik dan sub pokok bahasan ke 2 membahas obat antipiretik. Dalam sub pokok bahasan pertama anda diharapkan untuk mampu

1. Menghitung dosis obat analgetik untuk hewan uji
2. Menghitung dosis penginduksi asam asetat untuk hewan uji
3. Mengenali tanda-tanda nyeri pada hewan uji
4. Menghitung persen daya analgetik obat

Selanjutnya apabila anda telah menyelesaikan praktek ke 2 tentang efek obat antipiretik, anda diharapkan mampu untuk

1. Menghitung dosis obat antipiretik untuk hewan uji.
2. Mengetahui bahan-bahan yang dapat digunakan untuk menginduksi demam
3. Mengukur demam pada hewan uji melalui rektal
4. Menghitung penurunan suhu tubuh mencit

Oleh karena itu modul ini disusun menjadi 2 (dua) kegiatan praktikum yaitu :

Kegiatan Praktikum 1 : Analisis Efek Obat Analgetik pada Hewan Uji

Kegiatan Praktikum 2 : Analisis Efek Obat Antipiretik pada Hewan Uji

Didalam setiap kegiatan praktikum terdiri dari uraian singkat tentang materi praktikum, kemudian anda akan mendapatkan tahapan-tahapan dalam melakukan praktikum ini. Tahapan ini akan dibagi menjadi 3 bagian yaitu (1) persiapan yang memuat

✍ ■ Praktikum Farmakologi ✍ ■

alat, bahan dan hewan yang perlu anda persiapkan dalam melakukan praktikum, (2) pelaksanaan yang memuat prosedur perlakuan pada hewan coba dan (3) pelaporan yang memuat tabel yang anda harus sesuai dengan pengamatan yang anda telah lakukan pada percobaan tersebut.

Selanjutnya anda diharapkan untuk menyelesaikan soal-soal latihan yang ada dalam tiap kegiatan praktikum tersebut. Jawaban dari soal-soal tersebut anda akan sangat membantu dalam menyusun laporan untuk menganalisis efek obat yang digunakan dalam percobaan tersebut. Pada akhir setiap kegiatan praktikum akan terdapat Tes, anda diminta untuk menyelesaikan Tes tersebut sebagai bahan penilaian terhadap pemahaman anda atas isi dari praktikum tersebut

Kegiatan Praktikum 1

Efek Obat Analgetik Pada Hewan Uji

Pada kegiatan praktikum ini, anda akan menganalisa efek obat analgetik untuk membandingkan kemampuan tiap obat analgetik dalam meredakan nyeri pada mencit yang diinduksi rasa nyeri secara kimia dengan pemberian asam asetat secara intraperitoneal.

Obat-obat antiradang, analgesik dan antipiretik merupakan suatu kelompok senyawa yang heterogen, sering tidak berkaitan secara kimia (walaupun kebanyakan diantaranya merupakan asam organik) namun mempunyai kerja terapeutik dan efek samping tertentu yang sama. Protetipenya adalah aspirin; oleh karena itu, senyawa-senyawa ini sering disebut obat mirip aspirin dan juga sering disebut obat antiradang nonsteroid atau NSAID (Non Steroid Antiinflamasi Drugs)

NSAID adalah suatu kelompok agen yang berlainan secara kimiawi dan memiliki perbedaan dalam aktivitas antipeiretik, analgesik dan anti-inflamasinya. Obat ini terutama bekerja melalui penghambatan enzim siklooksigenasi yang mengkatalisis langkah pertama dalam biosintesis prostanoid. NSAID dalam digolongkan menjadi

1. Aspirin dan derivatnya
2. Derivat asam propionic
3. Derivat asam acetit
4. Derivat oxicam
5. Fenamte
6. Asam hetoaryl acetic
7. Nabumetone
8. Celecoxib

Uraian bahan

1. Parasetamol

Nama resmi	: Acetaminophenum
Nama sinonim	: Parasetamol
Pemerian	: Berupa hablur atau serbuk hablur putih, rasa pahit, berbau, serbuk kristal dengan sedikit rasa pahit.
Kelarutan	: Larut dalam 70 bagian air, dalam 7 bagian etanol (95 %)P, dalam 13 bagian aseton P, dalam 40 bagian gliserol P dan dalam 9 bagian propilenglikol P; larut dalam larutan alkalihidroksida
Kegunaan	: Bahan aktif
Dosis manusia	: 325–1000 mg tiap 4-6 jam maksimum 4g/hari
Farmakokinetik	: Parasetamol diabsorpsi cepat dan sempurna melalui saluran cerna. Konsentrasi tertinggi dalam plasma dicapai dalam waktu ½ jam dan masa paruh plasma antara 1-3 jam

2. Ibuprofen

Nama resmi	:	Ibuprofen
Nama sinonim	:	buprofen
Pemerian	:	Serbuk hablur; putih hingga hampir putih; berbau khas lemah.
Kelarutan	:	Sangat mudah larut dalam etanol, metanol, aseton dan kloroform; sukar larut dalam etil asetat; praktis tidak larut dalam air.
Kegunaan	:	Bahan aktif
Dosis manusia	:	nyeri (haid), demam, dan rematik, permulaan 400 mg p.c./d.c., lalu 3-4 dd 200-400 mg,
Farmakokinetik	:	Absorpsi ibuprofen cepat melalui lambung dan kadar maksimum dalam plasma dicapai setelah 1-2 jam. Waktu paruh dalam plasma sekitar 2 jam, 90% ibuprofen terikat dalam protein plasma. Ekskresi berlangsung cepat dan lengkap. Kira-kira 90% dari dosis yang diabsorpsikan diekskresikan melalui urin sebagai metabolit atau konjugatnya. Metabolit utama merupakan hasil hidroksilasi dan karboksilasi

3. Antalgin

Nama resmi	:	METAMPIRON
Nama sinonim	:	Antalgin, Mathampyronum
Pemerian	:	Serbuk hablur, putih atau putih kekuningan
Kelarutan	:	Larut dalam air dan HCl 0,02 N
Kegunaan	:	Bahan aktif
Dosis manusia	:	500 mg
Farmakokinetik	:	Pada pemberian secara oral senyawa diserap cepat dan sempurna dalam saluran cerna. Terdapat 60% antalgin yang terikat oleh protein plasma, waktu paruh dalam plasma 3 jam. Obat ini dimetabolisme di hati menjadi metabolit utama dan diekskresi melalui ginjal

Pelaksanaan Percobaan

A. Tujuan Percobaan

Untuk Menganalisis efek analgetik dari parasetamol, ibuprofen dan antalgin pada hewan uji mencit

B. Prinsip Percobaan

Semakin tinggi kemampuan analgetik suatu obat semakin berkurang jumlah geliatan mencit yang diakibatkan induksi dengan asam asetat

C. Alat dan bahan yang digunakan

Alat yang digunakan

1. Batang pengaduk
2. Spoit oral
3. Stop watch
4. Timbangan berat badan,

Bahan yang digunakan

1. Sirop Parasetamo
2. Sirop Ibuprofen
3. Sirop Antalgin
4. Alkohol 70%
5. Aqua destilat,

D. Hewan yang digunakan

Hewan yang digunakan adalah mencit jantan, galur lokal dengan berat badan 20 g- 30 g berumur antara 6 – 8 minggu

E. Penyiapan bahan Penelitian

1. Pembuatan Suspensi Parasetamol

Perhitungan Dosis oral Asetaminophenum untuk mencit

Dosis lazim Parasetamol untuk manusia = 500 mg

Konversi dosis untuk mencit BB 20 g = Dosis Lazim x Faktor Konversi
 = 500 mg x 0,0026 = 1,3 mg

Untuk mencit dengan berat 30 g = (30 g/ 20 g) x 1,3 mg
 = 1,95 mg

Dosis ini diberikan dalam volume = 0,2 ml

Dibuat larutan persediaan sebanyak = 100 ml

Jumlah parasetamol yang digunakan = (100 ml / 0,2 ml) x 1,95 mg
 = 975 mg atau 0,975 g

% kadar parasetamol = (0,975 g / 100ml) x 100%
 = 0,975 %

Jika akan digunakan sirop parasetamol

Jika di dalam percobaan menggunakan sirop parasetamol, diketahui Sirop parasetamol mengandung parasetamol 120 mg per sendok teh (5 ml), Dikarenakan dalam percobaan ini anda membutuhkan parasetamol sebanyak 975 mg maka untuk membuat larutan parasetamol 0,975%

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi sirop parasetamol} &= 120 \text{ mg} / 5 \text{ ml} \\ \text{Jumlah parasetamol yang dibutuhkan} &= 975 \text{ mg} \\ \text{Jadi jumlah sirop parasetamol yang diambil} &= (975 \text{ mg} / 120 \text{ mg}) \times 5 \text{ ml} \\ &= 40,625 \text{ ml} \sim 40,6 \end{aligned}$$

Cara pengerjaan

Untuk membuat larutan parasetamol dengan kadar 0,975 %, dilalukan dengan mengukur sirop parasetamol sebanyak 40,6 ml masukkan ke dalam labu ukur 100,0 ml lalu tambahkan air hingga 100 ml, kocok hingga homogen.

$$\begin{aligned} 2. \text{ Dosis lazim Ibuprofen untuk manusia} &= 400 \text{ mg} \\ \text{Konversi dosis untuk mencit BB 20 g} &= \text{Dosis Lazim} \times \text{Faktor Konversi} \\ &= 400 \text{ mg} \times 0,0026 = 1,04 \text{ mg} \\ \text{Untuk mencit dengan berat 30 g} &= (30 \text{ g} / 20 \text{ g}) \times 1,04 \text{ mg} \\ &= 1,56 \text{ mg} \\ \text{Dosis ini diberikan dalam volume} &= 0,2 \text{ ml} \\ \text{Dibuat larutan persediaan sebanyak} &= 100 \text{ ml} \\ \text{Jumlah ibuprofen yang digunakan} &= (100 \text{ ml} / 0,2 \text{ ml}) \times 1,56 \text{ mg} \\ &= 780 \text{ mg} \text{ atau } 0,780 \text{ g} \\ \text{\% kadar ibuprofen} &= (0,780 \text{ g} / 100\text{ml}) \times 100\% \\ &= 0,780 \% \end{aligned}$$

Jika akan digunakan sirop ibuprofen

Jika di dalam percobaan menggunakan sirop ibuprofen, diketahui Sirop ibuprofen tersedia dalam 2 konsentrasi yaitu sirop ibuprofen dengan konsntrasi 400 mg / 5 ml dan 200 mg / 5 ml, misalnya dalam percobaan ini menggunakan sirop ibuprofen dengan kadar 200 mg / 5 ml , maka untuk membuat suspensi ibuprofen dengan kadar 0,780% maka anda membutuhkan sirop ibuprofen sebanyak:

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi sirop parasetamol} &= 120 \text{ mg} / 5 \text{ ml} \\ \text{Jumlah ibuprofen yang dibutuhkan} &= 780 \text{ mg} \\ \text{Jadi jumlah sirop parasetamol yang diambil} &= (780 \text{ mg} / 200 \text{ mg}) \times 5 \text{ ml} \\ &= 19,5 \text{ ml} \end{aligned}$$

Cara pengerjaan

Untuk membuat larutan ibuprofen dengan kadar 0,780% sebanyak 100 ml, dilakukan dengan mengukur sirop ibuprofen sebanyak 19,5 ml masukkan ke dalam labu ukur 100,0 ml lalu tambahkan air hingga 100 ml, kocok hingga homogen.

3. Dosis lazim Antalgin untuk manusia = 500 mg
 Konversi dosis untuk mencit BB 20 g = Dosis Lazim x Faktor Konversi
 = 500 mg x 0,0026 = 1,3 mg
 Untuk mencit dengan berat 30 g = (30 g/ 20 g) x 1,3 mg
 = 1,95 mg
 Dosis ini diberikan dalam volume = 0,2 ml
 Dibuat larutan persediaan sebanyak = 100 ml
 Jumlah antalgin yang digunakan = (100 ml / 0,2 ml) x 1,95 mg
 = 975 mg atau 0,975 g
 % kadar antalgin = (0,975 g / 100ml) x 100%
 = 0,975 %

Jika akan digunakan sirop Antalgin

Jika di dalam percobaan menggunakan sirop Antalgin, diketahui Sirop Antalgin mengandung Antalgin 250 mg per sendok teh (5 ml), Dikarenakan dalam percobaan ini anda membutuhkan antalgin sebanyak 975 mg :

- Konsentrasi sirop Antalgin = 500 mg / 5 ml
 Jumlah Antalgin yang dibutuhkan = 975 mg
 Jadi jumlah sirop Antalgin yang diambil = (975 mg/ 500 mg) x 5 ml
 = 9,75 ml

Cara pengerjaan

Untuk membuat larutan Antalgin dengan kadar 0,975 %, dilakukan dengan mengukur sirop Antalgin sebanyak 9,75 ml masukkan ke dalam labu ukur 100,0 ml lalu tambahkan air hingga 100 ml, kocok hingga homogen.

PELAKSANAAN

Hewan percobaan dikelompokkan menjadi 4 kelompok dan masing–masing kelompok terdiri dari 3 ekor. Setiap kelompok dipisahkan dalam kandang yang berbeda. Sebelum penelitian dilakukan mencit diaklimatisasi selama 7 hari untuk membiasakan pada lingkungan percobaan, dipelihara dalam ruangan dengan suhu kamar, siklus cahaya terang : gelap (14:10) pemberian makan dengan pakan reguler dan air minum, sebelum perlakuan mencit dipuaskan selama 10 jam tetapi tetap diberikan air minum dan diberi makanan standar. Hewan dianggap sehat apabila perubahan berat badan tidak lebih dari 10% serta memperlihatkan perilaku normal

1. digunakan mencit jantan sebanyak 12 ekor Setelah ditimbang, hewan dikelompokkan secara rawu yang dibagi dalam 4 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 3 ekor,
2. kelompok I sebagai kontrol, diberikan larutan aqua dest
3. kelompok II sebagai kelompok parasetamol diberi sirop parasetamol
4. kelompok III sebagai kelompok ibuprofen diberi sirop ibuprofen
5. dan kelompok IV sebagai kelompok antalgin diberi sirop antalgin
6. semua pemberian dilakukan secara oral dengan volume pemberian 1ml/20g BB mencit

7. menit setelah pemberian, semua mencit kemudian disuntik secara intraperitoneal dengan larutan asam asetat 1% v/v dengan dosis 75 mg/kgBB
8. Amati dan catat jumlah geliatan mencit setelah setelah pemberian asam asetat, geliatan mencit dapat berupa perut kejang dan kaki tertarik ke belakang

PELAPORAN

Data yang dikumpulkan berupa jumlah geliatan mencit setelah pemberian injeksi peritoneal asam asetat setiap 5 menit selama 60 menit.

Geliatan mencit yang teramati berupa

1. Torsi pada satu sisi,
2. Kontraksi otot yang terputus-putus,
3. Kaki belakang dan kepala tertarik kearah belakang sehingga menyentuh dasar ruang yang ditempatinya
4. Penarikan kembali kepala serta kaki belakang ke arah abdomen

Lembar Kerja Praktek

1. Tabel volume pemberian oral dan intraperitoneal

Perlakuan	Replikasi	Berat badan (g)	Volume pemberian (ml)	
			Peroral	intraperitoneal
Na.CMC	1			
	2			
	3			
Parasetamol	1			
	2			
	3			
Ibuprofen	1			
	2			
	3			
Antalgin	1			
	2			
	3			

✂ ■ **Praktikum Farmakologi** ✂ ■

air	1			
	2			
	3			
Asam asetat	1			
	2			
	3			

2. Tabel Jumlah Geliatan Mencit

Perlakuan	No mencit	Jumlah geliatan (menit)											jumlah	
		5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55		60
Air	1													
	2													
	3													
Parasetamol	1													
	2													
	3													
Ibuprofen	1													
	2													
	3													
Antalgin	1													
	2													
	3													

3. Analisis Data

Data dianalisis dengan menghitung persen daya analgetiknya dengan rumus

$$\% \text{ daya analgetik} = 100 - \left(\frac{\text{jumlah geliatan kelompok obat}}{\text{jumlah geliatan kelompok kontrol}} \times 100\% \right)$$

Contoh cara menghitung % daya analgetik

Hitunglah % daya analgetik dari parasetamol berdasarkan data pengamatan dibawah ini

Kelompok	Jumlah geliat mencit												jumlah
	5'	10'	15'	20'	25'	30'	35'	40'	45'	50'	55'	60'	
Kontrol	24	23	16	10	9	12	11	16	8	12	13	8	162
Ibuprofen	3	5	6	3	4	4	4	3	3	2	3	3	43
Parasetamol	2	7	16	17	21	18	17	13	12	6	5	3	137
Antalgin	16	24	18	13	14	10	11	8	6	3	4	3	130

$$\begin{aligned}
 \% \text{ daya Analgetik Parasetamol} &= 100 - \left(\frac{\text{jumlah geliatan parasetamol}}{\text{jumlah geliatan kontrol}} \times 100 \right) \\
 &= 100 - \left(\frac{137}{162} \times 100 \right) \\
 &= 100 - 84,56 = 15,44\%
 \end{aligned}$$

Ringkasan

- Analgetik adalah obat yang digunakan untuk meredakan nyeri
- Pada hewan coba, nyeri dapat diinduksi dengan pemberian asam asetat secara intraperitoneal
- Geliatan mencit merupakan indikator mencit telah mengalami nyeri
- Kemampuan analgetik dalam menurunkan nyeri dapat dihitung berdasarkan % daya analgetik

Tes 1

- Bahan kimia yang dapat menginduksi nyeri bila disuntikan secara peritoneal pada hewan coba adalah
 - Parasetamol
 - Antalgin
 - Ibuprofen
 - Asam asetat
- Tanda-tanda mencit menderita nyeri adalah
 - Mencit berlari
 - Refleks balik badan mencit hilang

- C. Mencit tidak sadarkan diri
 D. Mencit menarik kaki belakang ke arah abdomen
- 3) Bila dosis obat A untuk mengatasi nyeri pada manusia adalah 250 mg, berapa dosis untuk tikus
 A. 4,5 mg
 B. 0,65 mg
 C. 17,5 mg
 D. 250 mg

Kelompok	Jumlah geliat mencit												jumlah
	5'	10'	15'	20'	25'	30'	35'	40'	45'	50'	55'	60'	
Kontrol	24	23	16	10	9	12	11	16	8	12	13	8	162
Ibuprofen	3	5	6	3	4	4	4	3	3	2	3	3	43
Parasetamol	2	7	16	17	21	18	17	13	12	6	5	3	137
Antalgin	16	24	18	13	14	10	11	8	6	3	4	3	130

Data hasil pengujian analgetik hewan

- 4) Hitunglah % analgetik untuk Ibuprofen dari tabel berikut
 A. 73,5 %
 B. 68,6 %
 C. 66,7 %
 D. 5,1 %
- 5) Berdasarkan tabel diatas, urutkanlah obat-obat diatas berdasarkan besarnya kemampuan analgetiknya
 A. Ibuprofen, parasetamol, antalgin, kontrol
 B. Parasetamol, antalgin, ibuprofen, kontrol
 C. Antalgin, ibuprofen, parasetamol, kontrol
 D. Ibuprofen, antalgin, parasetamol, kontrol

LAPORAN PRAKTIUM

Laporan praktikum disusun dengan format sebagai berikut :

1. Bab I : Pendahuluan

Dalam bab ini terdiri dari 3 unsur yaitu :

I.1. Latar Belakang Praktikum

Memuat hal-hal yang mendasari pentingnya malakukan praktikum ini baik secara umum sebagai ilmu dalam kefarmasian, maupun secara khusus untuk memahami matakuliah farmakologi

I.2. Maksud dan Tujuan Praktikum

Memuat maksud dan tujuan praktikum yang dapat terdiri dari tujuan umum dan khusus

I.3. Prinsip Praktikum

Memuat prinsip dasar dalam melakukan praktikum ini

2. Bab II : Tinjauan Pustaka

Memuat dasar-dasar teori yang penting diketahui dalam melaksanakan praktikum ini, serta teori-teori yang diperlukan dalam membuat pembahasan hasil praktikum

3. Bab III : Metode Kerja

4. Bab IV : Hasil Percobaan dan Pembahasan

Memuat data-data yang didapat dari hasil percobaan, dibuat sesuai dengan format lembar praktikum yang terdapat pada akhir modul praktikum

Memuat gambar-gambar/tabel/grafik

Untuk grafik dibuat dalam milimeter blok

Perhitungan

Pembahasan

Memuat pembahasan hasil praktikum yang meliputi pembahasan data, analisis hasil perhitungan, menghubungkan dengan teori dan memperkirakan penyebab terjadinya perbedaan hasil percobaan dan praktikum

5. Bab V : Kesimpulan

Berisi hal-hal yang disimpulkan dari hasil analisis percobaan dan pembahasan yang merupakan jawaban dari tujuan praktikum.

6. Daftar pustaka

Diharapkan daftar pustakan berasal dari sekurang-kurangnya 5 sumber selain modul

Selain format laporan yang diatas anda juga harus menjawab setiap pertanyaan yang ada di modul praktikum untuk masing-masing judul kegiatan praktikum.

Agar laporan anda tidak tercecer maka, disarankan anda menjilid rapi laporan praktikum yang telah anda buat dan membuat kopi laporan yang telah selesai

Mudah-mudahan anda dapat melaksanakan kegiatan praktikum dengan baik dan benar serta menyelesaikan laporan dan tugas yang terdapat dalam modul ini tepat waktu

Kegiatan Praktikum 2

Efek Obat Antipiretik Pada Hewan Uji

Dear rekan-rekan praktikan,

Pada kegiatan praktikum ini anda akan menganalisa efek obat antipiretik pada hewan uji yang di induksi demam dengan pemberian pepton 5% secara subkutan.

Demam didefinisikan sebagai kenaikan suhu tubuh diatas suhu tubuh normal (lebih dari 100°F atau 37,8°C), obat yang digunakan untuk menurunkan demam dikenal sebagai antipiretik. antipiretik bekerja dengan menghambat pembentukan PGE₂, yang mengurangi umpan balik antara neuron yang mengatur demam dan hipotalamus dengan demikian mampu menurunkan demam. Semua antipiretik bekerja dengan menghambat enzim siklooksigenase, sama seperti kerja dari analgetik

Pengaturan suhu tubuh memerlukan keseimbangan yang akurat antara pembentukan dan hilangnya panas; hipotalamus mengatur set point sehingga suhu dipertahankan. Saat demam, set point ini meningkat dan NSAID mendorongnya kembali ke keadaan normal. Obat ini tidak mempengaruhi suhu tubuh jika suhu tubuh naik oleh faktor seperti olahraga atau meningkatnya suhu lingkungan

Demam pada hewan uji dapat diinduksi dengan pemberian

1. Pepton 5%, diberikan sebanyak 1,0 ml/200g secara subkutan
2. Vaksin DPT-HB 0,2 ml/ 200g, secara intramuskular pada bagian paha untuk menginduksi terjadinya demam
3. Vaksin Kotipa (kombinasi vaksin kolera, tifus dan paratifus) dengan dosis 0,6 mL/kgBB intra-muskuler (i.m.) (2 kali pemberian selama seminggu) dan perubahan suhu tubuh diamati tiap 30 menit selama 5 jam, hewan coba dikatakan demam jika suhu mencapai 38°C sampai 40°C atau kenaikan suhu di atas 1,5°C dari suhu basal.

Uraian bahan

1. Parasetamol

- Nama resmi : **Acetaminophenum**
 Nama sinonim : Parasetamol
 Pemerian : Berupa hablur atau serbuk hablur putih, rasa pahit, berbau, serbuk kristal dengan sedikit rasa pahit.
 Kelarutan : Larut dalam 70 bagian air, dalam 7 bagian etanol (95 %)P, dalam 13 bagian aseton P, dalam 40 bagian gliserol P dan dalam 9 bagian propilenglikol P; larut dalam larutan alkalihidroksida
 Kegunaan : Bahan aktif
 Dosis manusia : 325–1000 mg tiap 4-6 jam maksimum 4g/hari
 Farmakokinetik : Parasetamol diabsorpsi cepat dan sempurna melalui saluran cerna. Konsentrasi tertinggi dalam plasma dicapai dalam waktu ½ jam dan masa paruh plasma antara 1-3 jam

2. Ibuprofen

- Nama resmi : **Ibuprofen**
 Nama sinonim : Ibuprofen
 Pemerian : Serbuk hablur; putih hingga hampir putih; berbau khas lemah.
 Kelarutan : Sangat mudah larut dalam etanol, metanol, aseton dan kloroform; sukar larut dalam etil asetat; praktis tidak larut dalam air.
 Kegunaan : Bahan aktif
 Dosis manusia : nyeri (haid), demam, dan rematik, permulaan 400 mg p.c./d.c., lalu 3-4 dd 200-400 mg,
 Farmakokinetik : Absorpsi ibuprofen cepat melalui lambung dan kadar maksimum dalam plasma dicapai setelah 1-2 jam. Waktu paruh dalam plasma sekitar 2 jam, 90% ibuprofen terikat dalam protein plasma. Ekskresi berlangsung cepat dan lengkap. Kira-kira 90% dari dosis yang diabsorpsikan diekskresikan melalui urin sebagai metabolit atau konjugatnya. Metabolit utama merupakan hasil hidroksilasi dan karboksilasi

3. Antalgin

- Nama resmi : **METAMPIRON**
 Nama sinonim : Antalgin, Mathampyronum
 Pemerian : Serbuk hablur, putih atau putih kekuningan
 Kelarutan : Larut dalam air dan HCl 0,02 N
 Kegunaan : Bahan aktif
 Dosis manusia : 500 mg

Farmakokinetik : Pada pemberian secara oral senyawa diserap cepat dan sempurna dalam saluran cerna. Terdapat 60% antalgin yang terikat oleh protein plasma, waktu paruh dalam plasma 3 jam. Obat ini dimetabolisme di hati menjadi metabolit utama dan diekskresi melalui ginjal

PELAKSANAAN PRAKTIKUM

A. Tujuan Percobaan

Untuk Menganalisis efek antipiretik dari parasetamol, ibuprofen dan antalgin pada hewan uji mencit

B. Prinsip Percobaan

Efek antipiretik diamati dengan terjadinya penurunan suhu tubuh mencit yang diinduksi dengan induktor demam setelah pemberian obat antipiretik

C. Alat dan bahan yang digunakan

Alat yang digunakan

1. Batang pengaduk
2. Spoit oral
3. Stop watch
4. Termometer badan
5. Timbangan berat badan,

Bahan yang digunakan

1. Alkohol 70%
2. Aqua destilat,
3. Sirop Antalgin
4. Sirop Ibuprofen
5. Sirop Parasetamo

D. Hewan yang digunakan

Hewan yang digunakan adalah mencit jantan, galur lokal dengan berat badan 20 g- 30 g berumur antara 6 – 8 minggu

E. Penyiapan bahan Penelitian

1. Pengenceran parasetamol

Perhitungan Dosis oral Asetaminophenum untuk mencit

Dosis lazim Parasetamol untuk manusia = 500 mg

Konversi dosis untuk mencit BB 20 g = Dosis Lazim x Faktor Konversi

= 500 mg x 0,0026 = 1,3 mg

Untuk mencit dengan berat 30 g = (30 g/ 20 g) x 1,3 mg

= 1,95 mg

Dosis ini diberikan dalam volume = 0,2 ml

Dibuat larutan persediaan sebanyak = 100 ml

Jumlah parasetamol yang digunakan = (100 ml / 0,2 ml) x 1,95 mg

$$\begin{aligned} \text{\% kadar parasetamol} &= 975 \text{ mg atau } 0,975 \text{ g} \\ &= (0,975 \text{ g} / 100\text{ml}) \times 100\% \\ &= 0,975 \% \end{aligned}$$

Jika akan digunakan sirop parasetamol

Jika di dalam percobaan menggunakan sirop parasetamol, diketahui Sirop parasetamol mengandung parasetamol 120 mg per sendok teh (5 ml), Dikarenakan dalam percobaan ini anda membutuhkan parasetamol sebanyak 975 mg maka untuk membuat larutan parasetamol 0,975%

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi sirop parasetamol} &= 120 \text{ mg} / 5 \text{ ml} \\ \text{Jumlah parasetamol yang dibutuhkan} &= 975 \text{ mg} \\ \text{Jadi jumlah sirop parasetamol yang diambil} &= (975 \text{ mg} / 120 \text{ mg}) \times 5 \text{ ml} \\ &= 40,625 \text{ ml} \sim 40,6 \end{aligned}$$

Cara pengerjaan

Untuk membuat larutan parasetamol dengan kadar 0,975 %, dilalukan dengan mengukur sirop parasetamol sebanyak 40,6 ml masukkan ke dalam labu ukur 100,0 ml lalu tambahkan air hingga 100 ml, kocok hingga homogen.

2. Pengenceran Ibuprofen

$$\begin{aligned} \text{Dosis lazim Ibuprofen untuk manusia} &= 400 \text{ mg} \\ \text{Konversi dosis untuk mencit BB 20 g} &= \text{Dosis Lazim} \times \text{Faktor Konversi} \\ &= 400 \text{ mg} \times 0,0026 = 1,04 \text{ mg} \\ \text{Untuk mencit dengan berat 30 g} &= (30 \text{ g} / 20 \text{ g}) \times 1,04 \text{ mg} \\ &= 1,56 \text{ mg} \\ \text{Dosis ini diberikan dalam volume} &= 0,2 \text{ ml} \\ \text{Dibuat larutan persediaan sebanyak} &= 100 \text{ ml} \\ \text{Jumlah ibuprofen yang digunakan} &= (100 \text{ ml} / 0,2 \text{ ml}) \times 1,56 \text{ mg} \\ &= 780 \text{ mg atau } 0,780 \text{ g} \\ \text{\% kadar ibuprofen} &= (0,780 \text{ g} / 100\text{ml}) \times 100\% \\ &= 0,780 \% \end{aligned}$$

Jika akan digunakan sirop ibuprofen

Jika di dalam percobaan menggunakan sirop ibuprofen, diketahui Sirop ibuprofen tersedia dalam 2 konsentrasi yaitu sirop ibuprofen dengan konsntrasi 400 mg / 5 ml dan 200 mg / 5 ml, misalnya dalam percobaan ini menggunakan sirop ibuprofen dengan kadar 200 mg / 5 ml , maka untuk membuat suspensi ibuprofen dengan kadar 0,780% maka anda membutuhkan sirop ibuprofen sebanyak:

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi sirop parasetamol} &= 120 \text{ mg} / 5 \text{ ml} \\ \text{Jumlah ibuprofen yang dibutuhkan} &= 780 \text{ mg} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jadi jumlah sirup parasetamol yang diambil} &= (780 \text{ mg} / 200 \text{ mg}) \times 5 \text{ ml} \\ &= 19,5 \text{ ml} \end{aligned}$$

Cara pengerjaan

Untuk membuat larutan ibuprofen dengan kadar 0,780% sebanyak 100 ml, dilakukan dengan mengukur sirup ibuprofen sebanyak 19,5 ml masukkan ke dalam labu ukur 100,0 ml lalu tambahkan air hingga 100 ml, kocok hingga homogen.

3. Pengenceran Antalgin

$$\begin{aligned} \text{Dosis lazim Antalgin untuk manusia} &= 500 \text{ mg} \\ \text{Konversi dosis untuk mencit BB 20 g} &= \text{Dosis Lazim} \times \text{Faktor Konversi} \\ &= 500 \text{ mg} \times 0,0026 = 1,3 \text{ mg} \\ \text{Untuk mencit dengan berat 30 g} &= (30 \text{ g} / 20 \text{ g}) \times 1,3 \text{ mg} \\ &= 1,95 \text{ mg} \\ \text{Dosis ini diberikan dalam volume} &= 0,2 \text{ ml} \\ \text{Dibuat larutan persediaan sebanyak} &= 100 \text{ ml} \\ \text{Jumlah antalgin yang digunakan} &= (100 \text{ ml} / 0,2 \text{ ml}) \times 1,95 \text{ mg} \\ &= 975 \text{ mg atau } 0,975 \text{ g} \\ \% \text{ kadar antalgin} &= (0,975 \text{ g} / 100 \text{ ml}) \times 100\% \\ &= 0,975 \% \end{aligned}$$

Jika di dalam percobaan menggunakan sirup Antalgin, diketahui Sirup Antalgin mengandung Antalgin 250 mg per sendok teh (5 ml), Dikarenakan dalam percobaan ini anda membutuhkan antalgin sebanyak 975 mg :

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi sirup Antalgin} &= 500 \text{ mg} / 5 \text{ ml} \\ \text{Jumlah Antalgin yang dibutuhkan} &= 975 \text{ mg} \\ \text{Jadi jumlah sirup Antalgin yang diambil} &= (975 \text{ mg} / 500 \text{ mg}) \times 5 \text{ ml} \\ &= 9,75 \text{ ml} \end{aligned}$$

Cara pengerjaan

Untuk membuat larutan Antalgin dengan kadar 0,975 %, dilakukan dengan mengukur sirup Antalgin sebanyak 9,75 ml masukkan ke dalam labu ukur 100,0 ml lalu tambahkan air hingga 100 ml, kocok hingga homogen.

PELAKSANAAN

Hewan percobaan dikelompokkan menjadi 4 kelompok dan masing–masing kelompok terdiri dari 4 ekor. Setiap kelompok dipisahkan dalam kandang yang berbeda. Sebelum penelitian dilakukan mencit diaklimatisasi selama 7 hari untuk membiasakan pada lingkungan percobaan, dipelihara dalam ruangan dengan suhu kamar, siklus cahaya terang : gelap (14:10) pemberian makan dengan pakan reguler dan air minum, sebelum perlakuan mencit dipuaskan selama 18 jam tetapi tetap diberikan air minum dan diberi makanan standar.

Hewan dianggap sehat apabila perubahan berat badan tidak lebih dari 10% serta memperlihatkan perilaku normal

1. Mencit digunakan mencit jantan sebanyak 12 ekor Setelah ditimbang, hewan dikelompokkan secara rawu yang dibagi dalam 4 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 3 ekor,
2. Semua hewan uji dilakukan pengukuran suhu rektal awal sebelum penyuntikan lalu diberi larutan pepton 5%, sebanyak 1,0 ml/200 g secara subkutan untuk menginduksi terjadinya demam. Semua hewan uji yang mengalami peningkatan suhu tubuh sebesar atau sama dengan 1,5 °C dapat dikategorikan demam
3. Setelah didapatkan suhu demam, seluruh hewan uji diberikan bahan uji sesuai dengan kelompok yaitu
 - a. kelompok I sebagai kontrol, diberikan larutan aqua dest
 - b. kelompok II sebagai kelompok parasetamol diberi sirop parasetamol
 - c. kelompok III sebagai kelompok ibuprofen diberi sirop ibuprofen
 - d. dan kelompok IV sebagai kelompok antalgin diberi sirop antalgin
 - e. semua pemberian dengan dosis 0,2 ml/20 g BB mencit
4. Efek antipiretik dari masing-masing perlakuan dinilai melalui pengukuran suhu rektal dari menit ke-30, 60, 90, dan 120 setelah pemberian bahan uji dengan menggunakan termometer digital

PELAPORAN

Data yang dikumpulkan berupa pengukuran suhu rektal dari menit ke-30, 60, 90, dan 120 setelah pemberian obat antipiretik dengan menggunakan termometer digital.

Tabel 1. Pengamatan Suhu mencit

Perlakuan	Replikasi	Rata-rata suhu rektal Mencit (°C) pada menit ke					
		t _a	t ₀	30'	60'	90'	120'
Air	1						
	2						
	3						
Parasetamol	1						
	2						
	3						
Ibuprofen	1						
	2						
	3						

Antalgin	1						
	2						
	3						

Ket :

t_a = suhu awal rektal sebelum penyuntikan pepton 5%

t_0 = suhu demam setelah penyuntikkan pepton 5%

Tabel 2. Perubahan suhu setiap kelompok perlakuan

Waktu	Menit ke	Kelompok perlakuan			
		Air	Parasetamol	Ibuprofen	Antalgin
t_0	Suhu demam				
t_1	30' (t_1-t_0)				
t_2	60' (t_2-t_1)				
t_3	90' (t_3-t_2)				
t_4	120' (t_4-t_3)				

Latihan

- 1) Jelaskan bagaimana tubuh mengatur suhu tubuh
- 2) Jelaskan mekanisme demam dari induksi pepton
- 3) Jelaskan mekanisme antipiretik dari parasetamol, ibuprofen dan antalgin

Petunjuk menyelesaikan soal latihan

Anda dapat mendapatkan jawaban soal-soal diatas dengan membuka buku yang berkaitan dengan farmakologi

Ringkasan

1. Obat yang berguna sebagai penurun demam dikenal sebagai antipiretik
2. Demam pada hewan uji dapat di induksi dengan pemberian Pepton 5%, Vaksin DPT-HB 0,2 ml/ 200g, dan Vaksin Kotipa
3. Demam pada hewan dapat ditandai dengan meningkatnya suhu sama atau lebih dari 1,5 °C dari suhu basal hewan uji

Tes 2

- 1) Obat yang digunakan sebagai penurun demam, dikenal sebagai
 - A. Analgetik
 - B. Antipiretik
 - C. Diuretik
 - D. Hipoglikemik oral

- 2) Induksi demam pada hewan dapat dilakukan dengan pemberian
 - A. Parasetamol
 - B. Antalgin
 - C. Ibuprofen
 - D. Pepton 5%

- 3) Jika dosis parasetamol pada manusia adalah 500 mg, berapa dosis untuk kelinci
 - A. 35 mg
 - B. 1,3 mg
 - C. 9 mg
 - D. 10 mg

- 4) Obat berikut dapat digunakan untuk menurunkan demam, kecuali
 - A. Parasetamol
 - B. Antalgin
 - C. Ibuprofen
 - D. Pepton 5%

- 5) Untuk mengukur demam pada hewan dapat dilakukan dengan menggunakan termometer yang diletakkan pada
 - A. Di dalam Anus
 - B. Di dalam mulut
 - C. Di atas kepala
 - D. Di ketiak

Kunci Jawaban Tes

Tes 1

1. D
2. D
3. A
4. A
5. D

Tes 2

1. B
2. D
3. A
4. D
5. A

Laporan Praktikum

Laporan praktikum disusun dengan format sebagai berikut :

1. Bab I : Pendahuluan

Dalam bab ini terdiri dari 3 unsur yaitu :

I.1. Latar Belakang Praktikum

Memuat hal-hal yang mendasari pentingnya melakukan praktikum ini baik secara umum sebagai ilmu dalam kefarmasian, maupun secara khusus untuk memahami matakuliah farmakologi

I.2. Maksud dan Tujuan Praktikum

Memuat maksud dan tujuan praktikum yang dapat terdiri dari tujuan umum dan khusus

I.3. Prinsip Praktikum

Memuat prinsip dasar dalam melakukan praktikum ini

2. Bab II : Tinjauan Pustaka

Memuat dasar-dasar teori yang penting diketahui dalam melaksanakan praktikum ini, serta teori-teori yang diperlukan dalam membuat pembahasan hasil praktikum

3. Bab III : Metode Kerja

4. Bab IV : Hasil Percobaan dan Pembahasan

- a. Memuat data-data yang didapat dari hasil percobaan, dibuat sesuai dengan format lembar praktikum yang terdapat pada akhir modul praktikum
- b. Memuat gambar-gambar/tabel/grafik
- c. Untuk grafik dibuat dalam milimeter blok
- d. Perhitungan
- e. Pembahasan

Memuat pembahasan hasil praktikum yang meliputi pembahasan data, analisis hasil perhitungan, menghubungkan dengan teori dan memperkirakan penyebab terjadinya perbedaan hasil percobaan dan praktikum

5. Bab V : Kesimpulan

Berisi hal-hal yang disimpulkan dari hasil analisis percobaan dan pembahasan yang merupakan jawaban dari tujuan praktikum.

6. Daftar pustaka

Diharapkan daftar pustakan berasal dari sekurang-kurangnya 5 sumber selain modul Selain format laporan yang diatas anda juga harus menjawab setiap pertanyaan yang ada di modul praktikum untuk masing-masing judul kegiatan praktikum.

Agar laporan anda tidak tercecer maka, disarankan anda menjilid rapi laporan praktikum yang telah anda buat dan membuat kopi laporan yang telah selesai

Mudah-mudahan anda dapat melaksanakan kegiatan praktikum dengan baik dan benar serta menyelesaikan laporan dan tugas yang terdapat dalam modul ini tepat waktu

Daftar Pustaka

- Endi Ridwan (2013) Etika Pemanfaatan Hewan Percobaan dalam Penelitian Kesehatan, Journal of the Indonesian Medical Association
- Hau, J., & Hoosier Jr., G. L. (2003). Handbook of Laboratory Animal Science Second Edition. Boca Raton: CRC Press.
- Malole, Sri Utami Pramono, C. (1989) Penggunaan Hewan-hewan Percobaan di Laboratorium, Institut Pertanian Bogor
- Sulaksono, M. E. (1987). Dilema Pada Hewan Percobaan Untuk Pemeriksaan Produk Biologis. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan RI
- University of Washington Animal Use Training Session Rabbit Lab Handout, University of Washington
- W. Ritschel (1974) Laboratory Manual of Biopharmaceutics and pharmacokinetics. Drug Intelligence Pubns.
- W. Ritschel (1974) Laboratory Manual of Biopharmaceutics and pharmacokinetics. Drug Intelligence Pubns
- Departemen Kesehatan RI (1993) *Pedoman Pengujian dan Pengembangan Fitofarmaka: Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitokimia dan Pengujian Klinik*, Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phyto Medica. Jakarta

BAB IV

ANALISIS EFEK OBAT ANTIDIARE DAN DIURETIK PADA HEWAN UJI

PENDAHULUAN

Setiap hari tubuh mengeluarkan sisa dari produk metabolisme ataupun sisa dari proses pencernaan yang tidak dapat diabsorpsi melalui mekanisme yang dikenal sebagai ekskresi. Dua jalur ekskresi yang utama dari tubuh melalui ginjal dan melalui anus. Produk yang keluar melalui ginjal disebut urine dan prosesnya dikenal sebagai urinasi sedangkan produk yang dikeluarkan melalui anus dikenal sebagai feces dan prosesnya dikenal sebagai defekasi.

Proses defekasi dan urinasi adalah proses yang normal terjadi pada tubuh kita, namun dalam beberapa keadaan proses tersebut menjadi suatu masalah tersendiri bagi manusia, apakah karena proses tersebut tidak terjadi, kurang terjadi atau karena terlalu sering terjadi.

Proses defekasi atau buang air besar yang terlalu sering melewati kebiasaan dan disertai dengan bentuk feces yang encer dikenal sebagai penyakit diare. Penyakit ini bila tidak ditangani dengan cepat dan tepat dapat membahayakan nyawa penderita.

Sedangkan pada proses pengeluaran urine, terkadang dibutuhkan jumlah urine lebih banyak dikeluarkan, misalnya pada penyakit hipertensi. Obat yang digunakan untuk menyebabkan pengeluaran urine lebih banyak disebut sebagai diuretik.

Modul ini membahas tentang efek obat antidiare dan obat diuretik pada hewan coba. Setelah mempelajari modul ini dengan baik, secara umum anda diharapkan dapat menganalisis efek obat Antidiare dan Diuretik pada hewan uji. Sasaran lebih rinci dalam modul ini, disusun dalam 2 sub pokok bahasan yaitu sub pokok bahasan pertama membahas obat Antidiare dan sub pokok bahasan ke 2 membahas obat Diuretik. Dalam sub pokok bahasan pertama anda diharapkan untuk mampu

1. Menghitung dosis obat Antidiare untuk hewan uji
2. Mengetahui metode pengujian obat antidiare
3. Melakukan pengujian obat antidiare berdasarkan metode Metode transit inTesinal dan Metode proteksi terhadap diare yang disebabkan oleh oleum ricini
4. Menganalisis perbedaan efek diantara obat antidiare

Selanjutnya apabila anda telah menyelesaikan praktek ke 2 tentang efek obat diuretik, anda diharapkan mampu untuk

1. Menghitung dosis obat diuretik untuk hewan uji.
2. Melakukan uji obat diuretik pada hewan uji
3. Menganalisis perbedaan efek diantara obat diuretik

Oleh karena itu modul ini disusun menjadi 2 (dua) kegiatan praktikum yaitu :

✎ ■ Praktikum Farmakologi ■ ✎

Kegiatan Praktikum 1 : Analisis Efek Obat Diare Pada Hewan Uji

Kegiatan Praktikum 2 : Analisis Efek Obat Diuretik Pada Hewan Uji

Didalam setiap kegiatan praktikum terdiri dari uraian singkat tentang materi praktikum, kemudian anda akan mendapatkan tahapan-tahapan dalam melakukan praktikum ini. Tahapan ini akan dibagi menjadi 3 bagian yaitu (1) persiapan yang memuat alat, bahan dan hewan yang perlu anda persiapkan dalam melakukan praktikum, (2) pelaksanaan yang memuat prosedur perlakuan pada hewan coba dan (3) pelaporan yang memuat tabel yang anda harus sesuai dengan pengamatan yang anda telah lakukan pada percobaan tersebut.

Selanjutnya anda diharapkan untuk menyelesaikan soal-soal latihan yang ada dalam tiap kegiatan praktikum tersebut. Jawaban dari soal-soal tersebut anda akan sangat membantu dalam menyusun laporan untuk menganalisis efek obat yang digunakan dalam percobaan tersebut. Pada akhir setiap kegiatan praktikum akan terdapat Tes, anda diminta untuk menyelesaikan Tes tersebut sebagai bahan penilaian terhadap pemahaman anda atas isi dari praktikum tersebut

Kegiatan Praktikum 1

Efek Obat Diare Pada Hewan Uji

Diare berasal dari bahasa Yunani dan Latin; *dia* artinya melewati dan *rheein* yang berarti mengalir atau berlari, beberapa obat dapat digunakan untuk mengobati diare :

- a. *Senyawa intralumen*, obat-obat ini dapat bekerja dengan menyerap air dan meningkatkan massa feses modifikasi tekstur, yakni perubahan dalam viskositas feses dan penurunan fluiditas feses. Beberapa obat ini juga dapat mengikat toksin bakteri dan garam empedu, contoh senyawa intralumen adalah Senyawa-senyawa pembentuk massa dan bersifat hidroskopik Koloid hidrofilik seperti psilium, polikarbofil, dan karboksi metilselulosa, Kolestiramin dan Bismut
- b. *Antimotilitas dan Antisekretori*, obat-obat ini dapat bekerja dengan mengurangi motilitas usus, sekresi usus, sebagian juga memiliki kemampuan untuk melawan bakteri. Kelompok dari obat-obat golongan ini adalah Opioid, Loperamid, Difeknosilat dan difenoksin, Agonis reseptor $\alpha 2$ -adrenergik, Oktreotid, dan Obat-obat lain

Protokol penapisan terarah aktivitas antidiare ditunjukkan terbatas pada aktivitas obat yang dapat memperlambat peristaltik usus, sehingga mengurangi frekuensi defekasi dan memperbaiki konsistensi feses. Dua metode uji yang bisa digunakan, yaitu :

- a. *Metode transit inTesinal*, pada metode ini, gerakan peristaltik usus diukur dengan menggunakan suatu marker, semakin tinggi gerakan peristaltik usus, maka semakin sering pula terjadi defekasi yang ditandai dengan semakin besar pula jarak yang ditempuh oleh marker. Obat diare akan mengurangi peristaltik usus sehingga akan memperkecil rasio, sedangkan obat laksansia akan memperbesar rasio, sehingga metode ini juga digunakan pula pada protokol penapisan terarah aktivitas laksansia.
- b. *Metode proteksi terhadap diare yang disebabkan oleh oleum ricini*. Pada metode ini hewan coba diinduksi dengan ol ricini untuk menyebabkan diare, lalu diberikan suatu obat anti diare dan diamati onset defekasi, perubahan jumlah defekasi dan konsistensi feses. Oleum ricini (minyak jarak) merupakan trigliserida yang berkhasiat sebagai laksansia. Di dalam usus halus, minyak ini mengalami hidrolisis dan menghasilkan asam risinolat yang merangsang mukosa usus, sehingga mempercepat gerak peristaltik dan mengakibatkan pengeluaran isi usus dengan cepat. Dosis oleum ricini adalah 2 sampai 3 sekali makan (15 – 30 ml), diberikan sewaktu perut kosong. Efeknya timbul 1 sampai 6 jam setelah pemberian, berupa pengeluaran buang air besar berbentuk encer.

Uraian Bahan

1. Loperamide

- Nama resmi** : LOPERAMIDA HIDROKLORIDA
Nama sinonim : Loperamide Hydrochloride
Pemerian : Serbuk; putih sampai agak kuning; melebur pada suhu lebih kurang 225°C disertai peruraian.

- Kelarutan : Mudah larut dalam metanol, dalam isopropil alkohol dan kloroform; sukar larut dalam air dan dalam asam encer.
Kegunaan : Obat Diare
Dosis manusia : diare akut dimulai dengan 4 mg, selanjutnya 2 mg tiap BAB

2. **Norit**

- Nama resmi** : **Carbo Adsorbens**
Nama sinonim : Arag Jerap
Pemerian : Serbuk halus, bebas dari butiran, hitam; tidak berbau, tidak berasa..
Kelarutan : Praktis tidak larut dalam air dan dalam etanol.
Kegunaan : Marker uji obat diare

3. **Minyak Jarak**

Minyak jarak adalah minyak lemak yang diperoleh dengan perasan dingin biji *Ricinus communis* L. yang telah dikupas.

- Nama resmi** : **Oleum Ricini**
Nama sinonim : MinyakJarak
Pemerian : Cairan kental, jernih, kuning pucat atau hamper tidak berwarna, bau lemah ; rasa manis kemudian agak pedas, umumnya memualkan
Kelarutan : larut dalam 2,5 bagian etanol (90 %) P , mudah larut dalam etanol mutlak dan dalam asetat glacial P.
Kegunaan : Penginduksi Diare
Dosis manusia : 2-3 sendok makan
Farmakodinamik : Oleum ricini (minyak jarak) merupakan trigliserida yang berkhasiat sebagai laksansia. Di dalam usus halus, minyak ini mengalami hidrolisis dan menghasilkan asam risinolat yang merangsang mukosa usus, sehingga mempercepat gerak peristaltik dan mengakibatkan pengeluaran isi usus dengan cepat.

Persiapan Praktikum

A. Tujuan Percobaan

Untuk menganalisis efek obat antidiare pada mencit (*mus musculus*) dengan metode transit inTesinal dan metode proteksi terhadap diare yang disebabkan oleh oleum ricini.

B. Prinsip Percobaan

1. Pada metode proteksi terhadap induksi oleum ricini efek obat antidiare dapat diamati dengan berkurangnya frekuensi defekasi dan berubahnya konsistensi feses menjadi lebih padat.
2. Pada metode transit inTesinal efek obat antidiare diamati dengan membandingkan panjang jalur yang dilewati oleh marker norit antara pilorus dan sepanjang usus halus.

C. Alat dan Bahan yang digunakan

Alat yang digunakan

1. Batang pengaduk
2. Beaker
3. Gelas ukur
4. Hot plate
5. Mixer
6. Spoit 1 ml
7. Spoit oral
8. Timbangan berat badan

Bahan yang digunakan

1. Alkohol 70%
2. Aqua destilat,
3. Carbo Adsorben
4. Tragakan
5. Ol. Ricini
6. Tablet Diapet
7. Tablet Loperamide
8. Tablet Papaverin HCl

D. Hewan yang digunakan

Hewan yang digunakan adalah mencit jantan, galur lokal dengan berat badan 20 g- 30 g berumur antara 6 – 8 minggu

E. Pembuatan Bahan Penelitian

1. Pembuatan Tragakan 1%
 - a. Panaskan kurang lebih 200 ml air hingga mendidih
 - b. Timbang Tragakan sebanyak 1 g
 - c. Masukkan Tragakan kedalam beaker gelas 300 ml lalu tambahkan 50 ml air panas
 - d. Aduk campuran tersebut dengan mixer hingga homogen, ditandai dengan tidak nampaknya lagi serbuk berwarna coklat dan campuran berupa seperti gel.
 - e. Tambahkan air panas sedikit demi sedikit sambil diaduk hingga volume larutan tersebut menjadi 100 ml, dinginkan

2. Pembuatan suspensi Loperamid

Perhitungan Dosis oral Loperamid untuk mencit

Dosis lazim Loperamid untuk manusia = 2 mg

Konversi dosis untuk mencit BB 20 g = Dosis Lazim x Faktor Konversi
 = 2 mg x 0,0026 = 0,0052 mg

Untuk mencit dengan berat 30 g = (30 g/ 20 g) x 0,0052 mg
 = 0,0078 mg

Dosis ini diberikan dalam volume = 0,2 ml

Dibuat larutan persediaan sebanyak = 100 ml

Jumlah Loperamid yang digunakan = (100 ml / 0,2 ml) x 0,0078 mg
 = 3,9 mg ~ 4 mg

= 5 mg = 0,004 g

% kadar Loperamid = (0,004 g / 100ml) x 100%

= 0,004 %

Jika akan digunakan tablet Loperamid

Tablet Loperamid tersedia dalam kadar 2 mg per-tabletnya, dikarenakan saudara akan membuat suspensi tablet Loperamid dengan kadar 0,004 % b/v atau 4 mg per 100 ml suspensi, maka untuk mendapatkan 4 mg Loperamid anda membutuhkan Loperamid sebanyak 2 tablet.

Cara pembuatan suspensi Loperamid 0,004 % b/v

1. Ambil 2 tablet Loperamid lalu gerus hingga halus,
2. Masukkan serbuk Loperamid yang sudah halus kedalam Erlenmeyer 100 ml
3. tambahkan sekitar 50 ml larutan Tragakan, kocok hingga homogen
4. lalu cukupkan volumenya hingga 100 ml dengan larutan Tragakan 1%

Pembuatan suspensi Papaverin HCl

Perhitungan Dosis oral Papaverin HCl untuk mencit

Dosis Papaverin HCl untuk manusia = 40 mg

Konversi dosis untuk mencit BB 20 g = Dosis Lazim x Faktor Konversi
 = 40 mg x 0,0026 = 0,104 mg

Untuk mencit dengan berat 30 g = (30 g/ 20 g) x 0,104 mg
 = 0,156 mg

Dosis ini diberikan dalam volume = 0,2 ml

Dibuat larutan persediaan sebanyak = 100 ml

Jumlah Metformin HCl yang digunakan = (100 ml / 0,2 ml) x 0,156 mg
 = 78 mg ~ 80 mg

= 80 mg = 0,08g

% kadar Metformin HCl = (0,08 g / 100ml) x 100%

= 0,08%

Jika akan digunakan tablet Papaverin HCl

Tablet Loperamid tersedia dalam kadar 40 mg per-tabletnya, dikarenakan saudara akan membuat suspensi tablet Loperamid dengan kadar 0,004 % b/v atau 4 mg per 100 ml suspensi, maka untuk mendapatkan 4 mg Loperamid anda membutuhkan Loperamid sebanyak 2 tablet.

Cara pembuatan suspensi Papaverin HCl

- a. Ambil 2 tablet Papaverin HCl lalu gerus hingga halus,
- b. Masukkan serbuk Papaverin HCl yang sudah halus kedalam Erlenmeyer 100 ml
- c. tambahkan sekitar 50 ml larutan Tragakan, kocok hingga homogen
- d. lalu cukupkan volumenya hingga 100 ml dengan larutan Tragakan 1%

a. Pembuatan Suspensi Nifural

Perhitungan Dosis oral Nifural untuk mencit

Dosis lazim Nifuroxide untuk manusia	= 500 mg
Konversi dosis untuk mencit BB 20 g	= Dosis Lazim x Faktor Konversi
	= 500 mg x 0,0026 = 1,3 mg
Untuk mencit dengan berat 30 g	= (30 g/ 20 g) x 1,3 mg
	= 1,95 mg
Dosis ini diberikan dalam volume	= 0,2 ml
Dibuat larutan persediaan sebanyak	= 100 ml
Jumlah Nifuroxide yang digunakan	= (100 ml / 0,2 ml) x 1,95 mg
	= 975 mg atau 0,975 g
% kadar Nifuroxide	= (0,975 g / 100ml) x 100%
	= 0,975 %

Jika di dalam percobaan menggunakan sirup Nifural, diketahui Sirup Nifural mengandung Nifuroxide 250 mg per sendok teh (5 ml), Dikarenakan dalam percobaan ini anda membutuhkan Nifural sebanyak 975 mg :

Konsentrasi sirup Nifuroxide	= 250 mg / 5 ml
Jumlah Nifuroxide yang dibutuhkan	= 975 mg
Jadi jumlah sirup Nifural yang diambil	= (975 mg/ 250 mg) x 5 ml
	= 19,5 ml

Cara pengerjaan

Untuk membuat Suspensi Nifuroxide dengan kadar 0,975 %, dilakukan dengan mengukur sirup Nifural sebanyak 19,5 ml masukkan ke dalam labu ukur 100,0 ml lalu tambahkan air hingga 100 ml, kocok hingga homogen.

b. Pembuatan Suspensi Norit 5%

1. Ditimbang 5 gram serbuk halus norit
2. Dimasukkan dalam erlenmeyer 100 ml
3. Ditambahkan aqua dest. Lalu kocok hingga homogen
4. Cukupkan volumenya hingga 100 ml dengan aqua dest
5. Suspensi ini harus selalu dikocok sebelum digunakan

Pelaksanaan

Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit jantan sebanyak 12 ekor. Hewan percobaan dikelompokkan menjadi 4 kelompok dan masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor. Setiap kelompok dipisahkan dalam kandang yang berbeda. Sebelum percobaan dilakukan mencit diaklimatisasi selama 7 hari untuk membiasakan pada lingkungan percobaan, Mencit dipelihara dalam ruangan dengan suhu kamar, siklus cahaya terang : gelap (14:10) pemberian makan dengan pakan reguler dan air minum, sebelum perlakuan mencit dipuaskan selama 10 jam tetapi tetap diberikan air minum. Hewan dianggap sehat apabila perubahan berat badan tidak lebih dari 10% serta memperlihatkan perilaku normal.

A. Metode proteksi terhadap diare

1. Mencit dikelompokkan secara acak kedalam 4 kelompok, masing-masing terdiri dari 3 ekor.
2. Kemudian tiap kelompok diberi perlakuan dimana kelompok I sebagai kontrol, diberikan larutan Tragakan 1%, kelompok II diberi suspensi Lopermid, kelompok III diberi suspensi Papaverin dan kelompok IV diberi suspensi Nifural. semua perlakuan secara oral dengan volume pemberian adalah 0,2 ml / 30 g BB mencit.
3. Mencit ditempatkan dalam kandang khusus secara individual yang beralaskan kertas saring yang diketahui bobotnya
4. Setelah 30 menit perlakuan, mencit diberikan 0,01 ml oleum ricini tiap gram berat mencit, yang diberikan secara oral
5. Respon yang terjadi pada mencit kemudian diamati yang berupa jumlah defakasi, konsistensi feses, bobot feses (pada kertas saring), onset dan durasi diare

B. Metode transit inTesinal

1. Ditimbang berat badan tiap mencit lalu catat
2. Mencit kemudian dikelompokkan secara rawu ke dalam 4 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 3 ekor,
3. Kemudian tiap kelompok diberi perlakuan dimana kelompok I sebagai kontrol, diberikan larutan Tragakan 1%, kelompok II diberi suspensi Lopermid, kelompok III diberi suspensi Papaverin dan kelompok IV diberi suspensi Nifural. semua perlakuan secara oral dengan volume pemberian adalah 0,2 ml / 30 g BB mencit.
4. menit kemudian semua hewan diberi suspensi norit 5% sebanyak 0,2 ml/ 30 g BB mencit
5. menit setelah semua hewan di beri suspensi norit 5% , hewan coba dikorbankan secara dislokasi tulang leher
6. Usus dikeluarkan secara hati-hati, sampai teregang. Panjang usus yang dilalui marker norit mulai dari pylorus sampai ujung akhir (berwarna hitam) diukur.

Demikian pula panjang seluruh usus dari pylorus sampai rectum dari masing-masing hewan. Kemudian dari masing-masing hewan dihitung rasio normal jarak yang ditempuh marker terhadap panjang usus seluruhnya.

Pelaporan

Data yang dikumpulkan berupa frekuensi defakasi, dan konsistensi defakasi

Penentuan konsistensi feses dilakukan dengan cara melihat bentuk feses yang terjadi.

Konsistensi feses dapat dikategorikan menjadi 3 kelompok yaitu :

1. konsistensi yang berlendir atau berair, dalam kelompok ini dilakukan pengamatan lama terjadinya diare (LTD), diameter serapan air (DSA) dan berat feses (BF)
2. konsistensi lembek, Parameter yang digunakan untuk uji antidiare pada konsistensi feses lembek yaitu Lama terjadinya Diare (LTD), Diameter serapan air (DSA) dan Berat feses (BF)
3. dan konsistensi normal, Parameter yang dianalisa pada kategori konsistensi feses normal ini adalah waktu terjadinya feses normal, diameter serapan air dan berat feses

Lembar Kerja Praktek

Tabel 1. Pengamatan dengan metode proteksi

Kelompok	Hewan Uji		Vol. oral	Onset defakasi (menit)	Durasi diare (menit)	Berat kertas saring (g)	Konsistensi feses
	Kode	BB					
Tragakhan	1						
	2						
	3						
Loperamide	1						
	2						
	3						
Papaverin	1						
	2						
	3						

✂ ■ **Praktikum Farmakologi** ✂ ■

Nifural	1						
	2						
	3						

Tabel 2. Pengamatan dengan metode proteksi

Kelompok	Hewan Uji		Volume Pemberian	Panjang usus (a) (mm)	Panjang marker norit (b)	Selisih (a-b)
	Kode	BB				
Tragakhan	1					
	2					
	3					
Loperamide	1					
	2					
	3					
Papaverin	1					
	2					
	3					
Nifural	1					
	2					
	3					

Latihan

- 1) Jelaskan bagaimana proses terjadinya diare karena oleum ricini.
- 2) Jelaskan mekanisme kerja obat diare loperamide, papaverin HCl dan Sirup Nifural

Petunjuk jawaban latihan

Dalam menyelesaikan soal-soal diatas anda dapat merujuk pada buku-buku farmakologi seperti buku farmakologi ulasan bergambar, farmakologi dan terapi dan yang sejenisnya.

Ringkasan

1. Diare adalah meningkatnya buang air besar yang jauh melebihi kebiasaan dan ditandai dengan bentuk feses yang cair
2. Obat diare secara garis besar dapat dibagi menjadi *Senyawa intralumen Antimotalitas* dan *Antisekretori*
3. Metode pengujian obat diare pada hewan coba dapat dilakukan dengan metode *Metode transit inTesinal* dan *Metode proteksi terhadap diare yang disebabkan oleh oleum ricini*

Tes 1

- 1) Metode pengujian obat diare dengan metode transit inTesinal digunakan marker
 - A. Ol Ricini
 - B. Norit
 - C. Loperamid
 - D. Papaverin
- 2) Pada metode transit insTesinal, maka yang indikator penilaian efek obat anti diare adalah :
 - A. Jumlah defakasi
 - B. Konsistensi defakasi
 - C. Jarak marker mulai pilorus hingga ujung usus
 - D. Berat kertas saring
- 3) Pada metode pengujian diare dengan metode proteksi, maka bahan yang menyebabkan diare adalah :
 - A. Ol Ricini
 - B. Norit

- C. Loperamid
 - D. Papaverin
- 4) Jika konsistensi feses adalah berlendir atau berair, maka pengamatan dilakukan pada :
- A. waktu terjadinya, diameter serapan air dan berat feses.
 - B. Waktu terjadinya diare, Lama terjadinya Diare (LTD) dan Diameter serapan air (DSA)
 - C. lama terjadinya diare (LTD), diameter serapan air (DSA) dan berat feses (BF)
 - D. tidak diamati
- 5) Mematikan hewan coba pada metode transit inTesinal, dilakukan dengan cara
- A. Dislokasi leher
 - B. Gas CO₂
 - C. Suntikan Natrium luminal
 - D. Dengan eter

Laporan Praktikum

Laporan praktikum disusun dengan format sebagai berikut :

1. Bab I : Pendahuluan

Dalam bab ini terdiri dari 3 unsur yaitu :

I.1. Latar Belakang Praktikum

Memuat hal-hal yang mendasari pentingnya melakukan praktikum ini baik secara umum sebagai ilmu dalam kefarmasian, maupun secara khusus untuk memahami matakuliah farmakologi

I.2. Maksud dan Tujuan Praktikum

Memuat maksud dan tujuan praktikum yang dapat terdiri dari tujuan umum dan khusus

I.3. Prinsip Praktikum

Memuat prinsip dasar dalam melakukan praktikum ini

2. Bab II : Tinjauan Pustaka

Memuat dasar-dasar teori yang penting diketahui dalam melaksanakan praktikum ini, serta teori-teori yang diperlukan dalam membuat pembahasan hasil praktikum

3. Bab III : Metode Kerja

4. Bab IV : Hasil Percobaan dan Pembahasan

a. Memuat data-data yang didapat dari hasil percobaan, dibuat sesuai dengan format lembar praktikum yang terdapat pada akhir modul praktikum

b. Memuat gambar-gambar/tabel/grafik

c. Untuk grafik dibuat dalam milimeter blok

d. Perhitungan

e. Pembahasan

f. Memuat pembahasan hasil praktikum yang meliputi pembahasan data, analisis hasil perhitungan, menghubungkan dengan teori dan memperkirakan penyebab terjadinya perbedaan hasil percobaan dan praktikum

5. Bab V : Kesimpulan

Berisi hal-hal yang disimpulkan dari hasil analisis percobaan dan pembahasan yang merupakan jawaban dari tujuan praktikum.

6. Daftar pustaka

Diharapkan daftar pustakan berasal dari sekurang-kurangnya 5 sumber selain modul Selain format laporan yang diatas anda juga harus menjawab setiap pertanyaan yang ada di modul praktikum untuk masing-masing judul kegiatan praktikum.

Agar laporan anda tidak tercecer maka, disarankan anda menjilid rapi laporan praktikum yang telah anda buat dan membuat kopi laporan yang telah selesai

Mudah-mudahan anda dapat melaksanakan kegiatan praktikum dengan baik dan benar serta menyelesaikan laporan dan tugas yang terdapat dalam modul ini tepat waktu

Kegiatan Praktikum 2

Efek Obat Diuretik Pada Mencit

Diuretik adalah obat-obat yang meningkatkan laju aliran urin, namun secara klinik diuretik juga bermanfaat untuk meningkatkan laju ekskresi Na^+ dan anion yang menyertainya, biasanya Cl^- . (Dasar Farmakologi Terapi). Diuretik tidak hanya mengubah ekskresi Na^+ , tetapi juga memodifikasi pengaturan kation lain (misalnya K^+ , H^+ , Ca^{2+} , dan Mg^{2+}), anion lain (seperti Cl^- , HCO_3^- , dan H_2PO_4^-) dan asam urat oleh ginjal. Selain itu, diuretik juga secara tidak langsung dapat mengubah hemodinamik ginjal.

Pada banyak penyakit, jumlah natrium klorida yang direabsorpsi oleh tubulus ginjal adalah tinggi secara abnormal. Hal ini mengakibatkan retensi air, peningkatan volume darah dan ekspansi kompartemen cairan ekstravaskuler, yang mengakibatkan edema jaringan. Beberapa penyakit edema jaringan yang biasa dihadapi meliputi gagal jantung, asites hepatic dan sindrome nefrotik.

Diuretik juga diketahui digunakan secara luas dalam terapi penyakit nonedema seperti hipertensi, hiperkalsemia dan diabetes insipides.

Diuretik dapat dibedakan menjadi :

- a. Diuretik tiazid dan analog mirip tiazid
- b. Diuretik loop dan high-ceilling
- c. Diuretik hemat kalium
- d. Penghambat karbonik anhidrase

Uraian Bahan

1. Hidroklortiazide

Nama resmi	: HIDROKLORTIAZIDA HIDROKLORIDA
Nama sinonim	: Hidroklortiazide Hydrochloride
Pemerian	: Serbuk hablur, putih atau hampir putih tidak berbau, agak pahit.
Kelarutan	: Praktis tidak larut dalam air, dalam kloroform p, dan dalam eter p, larut dalam 200 bagian etanol (95%) p, dan dalam 20 bagian aseton p, larut dalam larutan alkali hidroksida.
Kegunaan	: Bahan Uji Diuretik
Dosis manusia	: 25 – 200 mg / hari
Farmakodinamik	: Meningkatkan ekskresi Na , Cl dan sejumlah air, menghambat reabsorpsi elektrolit pada tubuli distal, menurunkan tekanan darah, dengan efek langsung terhadap arteri atau vasodilatasi.
Farmakokinetik	: Absorpsi melalui saluran cerna baik sekali, didistribusi ke saluran ekskresi dan dapat melalui saluran urin dan ditimbang dalam jaringan ginjal.

2. Furosemid

Nama resmi	: FUROSEMIDUM
Nama sinonim	: Furosemid
Pemerian	: Serbuk hablur, putih atau hampir putih, tidak berbau, hampir tidak berasa.
Kelarutan	: Praktis tidak larut dalam air dan dalam kloroform p, larut dalam 75 bagian etanol (95%) p, dan dalam 850 bagian eter p, larut dalam larutan alkali hidroksida
Kegunaan	: Diuretik
Dosis manusia	: 20 mg
Farmakodinamik	: Menghambat reabsorpsi elektrolit diansa henle asendens bagian epitel tebal, tempat kerjanya dipermukaan sel epitel bagian luminal, memiliki daya hambat terhadap enzim karbonik anhidrase yang lama meningkatkan ekskresi Na, Ca, K
Farmakokinetik	: Diserap oleh saluran cerna, bioavailabilitinya 65% diserap melalui sistem transport asam organik

3. Spironolakton

Nama resmi	: SPIRONOLACTONUM
Nama sinonim	: Spironolakton
Pemerian	: Serbuk, kuning tua, tidak berbau atau berbau atau berbau asam tiosetat lemah, rasa agak pahit.
Kelarutan	: Praktis tidak larut dalam air, larut dalam 80 bagian etanol (95%) p, dalam 3 bagian kloroform P dan dalam 100 bagian eter P
Kegunaan	: Diuretik
Dosis manusia	: Sekali 50 mg, sehari 400 mg
Farmakodinamik	: Menghemat eksresi kalium, aldesteron menstimulasi reabsorpsi Na dan ekskresi K, proses ini dihambat secara kompetitif (saingan) oleh antagoni aldesteron
Farmakokinetik	: Mulai kerjanya setelah 2-3 hari dan bertahan sampai beberapa hari pula setelah pengobatan, daya diuretisnya agak lambat maka harus dikombinasikan dengan diuretik lainnya.

Persiapan Praktikum

A. Tujuan Percobaan

Untuk menganalisis efek diuretik pada mencit dengan melihat dan mengamati serta menentukan jumlah volume dan, frekuensi urin pada hewan uji mencit (*mus musculus*) setelah pemberian obat diuretik

B. Prinsip Percobaan

Efek obat diuretik dapat diamati dengan meningkatnya frekuensi urinasi dan volume urin pada hewan coba.

C. Alat dan Bahan yang digunakan

Alat yang digunakan

1. Batang pengaduk
2. Beaker
3. Gelas ukur
4. Hot plate
5. Kandang Urinasi
6. Mixer
7. Spoit 1 ml
8. Spoit oral
9. Timbangan berat badan

Bahan yang digunakan

1. Alkohol 70%
2. Aqua destilat,
3. Kertas Saring
4. Na. CMC
5. Tablet Furosemid
6. Tablet Hidroklortiazid
7. Tablet Spironolakton

D. Hewan yang digunakan

Hewan yang digunakan adalah mencit jantan, galur lokal dengan berat badan 20 g- 30 g berumur antara 6 – 8 minggu

E. Pembuatan Bahan Penelitian

1. Pembuatan Na. CMC 1%
 - a. Panaskan kurang lebih 200 ml air hingga mendidih
 - b. Timbang Na.CMC sebanyak 1 g
 - c. Masukkan Na.CMC kedalam beaker gelas 300 ml lalu tambahkan 50 ml air panas
 - d. Aduk campuran tersebut dengan mixer hingga homogen, ditandai dengan tidak nampaknya lagi serbuk berwarna putih dan campuran berupa seperti gel.

- e. Tambahkan air panas sedikit demi sedikit sambil diaduk hingga volume larutan tersebut menjadi 100 ml, dinginkan.

2. Pembuatan suspensi Hidroklortiazid

Perhitungan Dosis oral Hidroklortiazid untuk mencit

Dosis lazim Hidroklortiazid untuk manusia	= 25 mg
Konversi dosis untuk mencit BB 20 g	= Dosis Lazim x Faktor Konversi
	= 25 mg x 0,0026 = 0,065 mg
Untuk mencit dengan berat 30 g	= (30 g/ 20 g) x 0,065 mg
	= 0,0975 mg
Dosis ini diberikan dalam volume	= 0,2 ml
Dibuat larutan persediaan sebanyak	= 100 ml
Jumlah Hidroklortiazid yang digunakan	= (100 ml / 0,2 ml) x 0,0975 mg
	= 48,75 mg ~ 50 mg
	= 50 mg = 0,05 g
% kadar Hidroklortiazid	= (0,05 g / 100ml) x 100%
	= 0,05 %

Jika akan digunakan tablet Hidroklortiazid

Tablet Hidroklortiazid tersedia dalam kadar 25 mg per-tabletnya, dikarenakan saudara akan membuat suspensi tablet Hidroklortiazid dengan kadar 0,05 % b/v atau 50 mg per 100 ml suspensi, maka untuk mendapatkan 50 mg Hidroklortiazid anda membutuhkan Hidroklortiazid sebanyak 2 tablet.

Cara pembuatan suspensi Hidroklortiazid 0,05 % b/v

- Ambil 2 tablet hidroklortiazid lalu gerus hingga halus,
- Masukkan serbuk hidroklortiazid yang sudah halus kedalam erlenmeyer 100 ml
- Tambahkan sekitar 50 ml larutan na.cmc 1%, kocok hingga homogen
- Lalu cukupkan volumenya hingga 100 ml dengan larutan na.cmc 1%

3. Pembuatan suspensi Spironolakton

Perhitungan Dosis oral Spironolakton untuk mencit

Dosis lazim Spironolakton untuk manusia	= 100 mg
Konversi dosis untuk mencit BB 20 g	= Dosis Lazim x Faktor Konversi
	= 100 mg x 0,0026 = 0,26 mg
Untuk mencit dengan berat 30 g	= (30 g/ 20 g) x 0,26 mg
	= 0,39 mg
Dosis ini diberikan dalam volume	= 0,2 ml
Dibuat larutan persediaan sebanyak	= 100 ml
Jumlah Spironolakton yang digunakan	= (100 ml / 0,2 ml) x 0,39 mg
	= 195 mg ~ 200 mg
	= 200 mg = 0,2 g
% kadar Spironolakton	= (0,2 g / 100ml) x 100%

= 0,2 %

Jika akan digunakan tablet Spironolakton

Tablet Spironolakton tersedia dalam kadar 100 mg per-tabletnya, dikarenakan saudara akan membuat suspensi tablet Spironolakton dengan kadar 0,2 % b/v atau 200 mg per 100 ml suspensi, maka untuk mendapatkan 200 mg Spironolakton anda membutuhkan Spironolakton sebanyak 2 tablet.

Cara pembuatan suspensi Spironolakton 0,2 % b/v

- a. Ambil 2 tablet Spironolakton lalu gerus hingga halus,
- b. Masukkan serbuk Spironolakton yang sudah halus kedalam erlenmeyer 100 ml
- c. Tambahkan sekitar 50 ml larutan Na.CMC 1%, kocok hingga homogen
- d. Lalu cukupkan volumenya hingga 100 ml dengan larutan Na.CMC 1%

4. Pembuatan suspensi Furosemid

Perhitungan Dosis oral Furosemid untuk mencit

Dosis lazim Furosemid untuk manusia = 20 mg

Konversi dosis untuk mencit BB 20 g = Dosis Lazim x Faktor Konversi
 = 20 mg x 0,0026 = 0,052 mg

Untuk mencit dengan berat 30 g = (30 g/ 20 g) x 0,052 mg
 = 0,078 mg

Dosis ini diberikan dalam volume = 0,2 ml

Dibuat larutan persediaan sebanyak = 100 ml

Jumlah Furosemid yang digunakan = (100 ml / 0,2 ml) x 0,078 mg
 = 39 mg ~ 40 mg
 = 40 mg = 0,04 g

% kadar Furosemid = (0,04 g / 100ml) x 100%
 = 0,04 %

Jika akan digunakan tablet Furosemid

Tablet Furosemid tersedia dalam beberapa kadar yaitu 20 mg, 40 mg, dan 80 mg furosemid per-tabletnya, dikarenakan saudara akan membuat suspensi tablet Furosemid dengan kadar 0,04 % b/v atau 40 mg per 100 ml suspensi, maka untuk mendapatkan 40 mg Furosemid anda dapat menggunakan tablet furosemid dengan kadar 40 mg/ tabletnya sebanyak 1 tablet.

Cara pembuatan suspensi Furosemid 0,04 % b/v

1. Ambil 1 tablet Furosemid lalu gerus hingga halus,
2. Masukkan serbuk Furosemid yang sudah halus kedalam erlenmeyer 100 ml
3. Tambahkan sekitar 50 ml larutan Na.CMC 1%, kocok hingga homogen
4. Lalu cukupkan volumenya hingga 100 ml dengan larutan Na.CMC 1%

Pelaksanaan

Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit jantan sebanyak 12 ekor. Hewan percobaan dikelompokkan menjadi 4 kelompok dan masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor. Setiap kelompok dipisahkan dalam kandang yang berbeda. Sebelum penelitian dilakukan mencit diaklimatisasi selama 7 hari untuk membiasakan pada lingkungan percobaan, Mencit dipelihara dalam ruangan dengan suhu kamar, siklus cahaya terang : gelap (14:10) pemberian makan dengan pakan reguler dan air minum, sebelum perlakuan mencit dipuaskan selama 10 jam tetapi tetap diberikan air minum. Hewan dianggap sehat apabila perubahan berat badan tidak lebih dari 10% serta memperlihatkan perilaku normal

Perlakuan pada Hewan Coba

1. Gunakan mencit jantan sebanyak 12 ekor
2. Ditimbang berat badan tiap mencit lalu catat
3. Mencit kemudian dibagi dalam 4 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor mencit.
4. Kemudian masing-masing kelompok diberikan perlakuan dimana kelompok I adalah kontrol, diberikan Na.CMC1%, kelompok 2 diberikan suspensi HCT, kelompok 3, diberikan suspensi Spironolakton, Kelompok 4, diberikan suspensi Furosemid. Pemberian dilakukan secara intrapritoneal (ip) atau secara oral dengan volume pemberian 0,2 ml/30 g BB mencit
5. Mencit kemudian ditempatkan dalam kandang khusus yang memiliki penampungan urin
6. Urine mencit ditampung selama 2 jam, dengan pencatatan volume urine dilakukan tiap 30 menit.
7. Urine yang terkumpul kemudian ditentukan kandungan Ion Na^+ , dan K^+

Pelaporan

Data yang dikumpulkan berupa Volume urin kumulatif pada jam ke-2 diukur menggunakan gelas ukur, kadar natrium dan kalium urin hewan uji diukur menggunakan spektrofotometer autolyzer.

Tabel Pengamatan Efek Obat Diuretik pada mencit.

Bahan	Hewan Uji		Volume Pemberian	volume urine	Kadar ion			
	Kode	BB			Na		K	
					sbl	sdh	sbl	sdh
Kontrol	1							
	2							
	3							
HCT	1							
	2							
	3							
Spironolakton	1							
	2							
	3							
Furosemid	1							
	2							
	3							

Latihan

- 1) Jelaskan mekanisme terjadinya urinasi
- 2) Gambarkan letak kerja obat diuretik pada nefron
- 3) Jelaskan mekanisme obat diuretik HCT, Furosemid dan Spironolakton

Petunjuk jawaban latihan

Untuk dapat menyelesaikan soal diatas anda dapat merujuk pada buku farmakologi at glance, farmakologi ulasan bergambar dan buku fisiologi kedokteran.

Ringkasan

1. Diuretik adalah obat-obat yang meningkatkan laju aliran urin, namun secara klinik diuretik juga bermanfaat untuk meningkatkan laju ekskresi Na^+ dan anion yang menyertainya, biasanya Cl^-
2. Indikator efek diuretik dapat diamati pada jumlah urine yang dihasilkan dan komposisi ion dalam urine tersebut terutama ion Na dan Cl

Tes 2

- 1) Diuretik adalah obat yang digunakan untuk
 - A. Meningkatkan laju urine
 - B. Meningkatkan laju urine dan ekskresi Na^+
 - C. Meningkatkan laju urine, dan ekskresi Cl^-
 - D. Meningkatkan laju urine dan ekskresi Na^+ dan Cl^-
- 2) Pada percobaan diuretik diatas pengamatan dilakukan pada...
 - A. Volume urine
 - B. Frekuensi miksi mencit
 - C. Volume urin dan Kadar K dan Na
 - D. Frekuensi miksi dan Kadar K dan Na
- 3) Alat yang digunakan untuk mengukur kadar ion dalam urine pada percobaan diatas adalah...
 - A. pH meter
 - B. Gelas ukur
 - C. spektrofotometer autolyzer
 - D. Kandang Urinasi

- 4) Obat diuretik pada percobaan diatas yang dapat meningkatkan jumlah urine yang dikeluarkan tanpa menyebabkan kadar Kalium darah berkurang adalah
- A. Furosemid
 - B. Spironolakton
 - C. HCT
 - D. Na.CMC
- 5) Pada percoaban diatas, kelompok kontrol diberi perlakuan dengan ...
- A. Furosemid
 - B. Spironolakton
 - C. HCT
 - D. Na.CMC

Kunci Jawaban Tes

Tes 1

1. B
2. C
3. A
4. C
5. A

Tes 2

1. D
2. D
3. C
4. B
5. D

LAPORAN PRAKTIUM

Laporan praktikum disusun dengan format sebagai berikut :

1. Bab I : Pendahuluan

Dalam bab ini terdiri dari 3 unsur yaitu :

I.1. Latar Belakang Praktikum

Memuat hal-hal yang mendasari pentingnya melakukan praktikum ini baik secara umum sebagai ilmu dalam kefarmasian, maupun secara khusus untuk memahami matakuliah farmakologi

I.2. Maksud dan Tujuan Praktikum

Memuat maksud dan tujuan praktikum yang dapat terdiri dari tujuan umum dan khusus

I.3. Prinsip Praktikum

Memuat prinsip dasar dalam melakukan praktikum ini

2. Bab II : Tinjauan Pustaka

Memuat dasar-dasar teori yang penting diketahui dalam melaksanakan praktikum ini, serta teori-teori yang diperlukan dalam membuat pembahasan hasil praktikum

3. Bab III : Metode Kerja

4. Bab IV : Hasil Percobaan dan Pembahasan

a. Memuat data-data yang didapat dari hasil percobaan, dibuat sesuai dengan format lembar praktikum yang terdapat pada akhir modul praktikum

b. Memuat gambar-gambar/tabel/grafik

c. Untuk grafik dibuat dalam milimeter blok

d. Perhitungan

e. Pembahasan

f. Memuat pembahasan hasil praktikum yang meliputi pembahasan data, analisis hasil perhitungan, menghubungkan dengan teori dan memperkirakan penyebab terjadinya perbedaan hasil percobaan dan praktikum

5. Bab V : Kesimpulan

Berisi hal-hal yang disimpulkan dari hasil analisis percobaan dan pembahasan yang merupakan jawaban dari tujuan praktikum.

6. Daftar pustaka

Diharapkan daftar pustakan berasal dari sekurang-kurangnya 5 sumber selain modul Selain format laporan yang diatas anda juga harus menjawab setiap pertanyaan yang ada di modul praktikum untuk masing-masing judul kegiatan praktikum.

Agar laporan anda tidak tercecer maka, disarankan anda menjilid rapi laporan praktikum yang telah anda buat dan membuat kopi laporan yang telah selesai

Mudah-mudahan anda dapat melaksanakan kegiatan praktikum dengan baik dan benar serta menyelesaikan laporan dan tugas yang terdapat dalam modul ini tepat waktu

Daftar Pustaka

- Goodman & Gilman, 2007, *Dasar Farmakologi Terapi*, Editor Joel G Hardman, Lee E. Limbird, Konsultan Editor Alfred Goodman Gilman, Alih bahasa Tim Alih Bahasa Sekolah Farmasi ITB, Edisi 10, Volume 1, EGC, Jakarta
- Krinke, G.J. 2000. *The laboratory rat*. Academic Press. U.K
- Awouters F, Neimegeers CJE, Lenaert FM, Janssen 1978. *Delay of castor oil diarrhoea in rats; A new way to evaluate inhibitors of prostaglandin's biosynthesis*. J Pharm Pharmacol 30: 41-45,
- Polyana Cristina Barros Silva dkk, 2011. *Antidiarrheal activity of Solanum asterophorum in mice*. Rev. bras. farmacogn. vol.22 no.1 Curitiba Jan./Feb. 2012 Epub Sep 30 2011,
- Masuhisa Nakamura, dkk. 1988, *Diuretic Effects of a Novel Uricosuric Antihypertensive S-8666 in Rats, Mice, Monkeys, and Dogs: Comparison With Furosemide and Trichlormethiazide*. Drug Development Research 12:41-51.
- Wubshet Hailu dan Ephrem Engidawork, 2014, *Evaluation of the diuretic activity of the aqueous and 80% methanol extracts of Ajuga remota Benth (Lamiaceae) leaves in mice*. BMC Complementary and Alternative Medicine 2014 14:135.
- Bhabani shankar nayak, dkk. 2013. *Evaluation of diuretic activity of gmelina arborea roxb. Fruit extracts*. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research Vol 6, Suppl 1, 2013

BAB V

ANALISIS EFEK OBAT HIPOGLIKEMIK ORAL DAN HIPOKOLESTEROLEMIA PADA HEWAN UJI

PENDAHULUAN

Pada modul ini anda akan mempelajari tentang analisis efek obat hipoglikemik oral dan hipokolesterolemia pada hewan uji. Obat hipoglikemik oral adalah obat yang biasa digunakan untuk mengatasi diabetes melitus (DM) dan obat hipokolesterolemia biasa digunakan untuk mengatasi penyakit arteriosklerosis yang biasanya menyebabkan gangguan pada fungsi jantung dan dapat menyebabkan kematian mendadak karena serangan jantung. Beberapa tahun terakhir anda mungkin sudah sering mendengar tentang penyakit kedua tersebut. Penyakit diabetes melitus disebabkan oleh kadar glukosa darah pasien yang lebih tinggi dari normalnya (> 200 mg/dL) dan bersifat menetap sedangkan penyakit arteriosklerosis disebabkan oleh kadar kolesterol yang tinggi selalu tinggi sehingga menimbulkan plak pada pembuluh koroner pada jantung, sehingga pemberian obat hipoglikemik orala diharapkan dapat menurunkan kadar gula pasien DM dan obat hipokolesterolemia diharapkan dapat menurunkan kadar kolesterol pada pasien.

Dalam modul ini anda akan dijelaskan bagaimana cara melakukan percobaan untuk menganalisis efek obat hipoglikemik dan hipokolesterol pada mencit, oleh karena itu modul ini disusun menjadi 2 (dua) kegiatan praktikum yaitu :

Kegiatan Praktikum 1 : Efek Obat Hipoglikemik Oral pada Hewan uji

Kegiatan Praktikum 2 : Efek Obat Hipokolesterolemia pada Hewan uji

Apabila Anda telah selesai mempelajari materi di sub pokok bahasan pertama maka diharapkan anda dapat :

1. Mengetahui cara mengkonversi dosis beberapa obat hipoglikemik oral manusia ke dosis pada mencit
2. Membuat sediaan suspensi obat hipoglikemik oral yang sesuai dengan hewan coba mencit yang digunakan
3. Melakukan induksi glukosa darah pada hewan coba baik dengan induksi glukosa maupun dengan bahan kimia lainnya.
4. Mengukur kadar glukosa darah mencit dengan menggunakan glukometer
5. Menganalisis perbedaan penurunan kadar glukosa darah mencit antar perlakuan

Selanjutnya apabila Anda telah selesai mempelajari materi di sub pokok bahasan kedua maka diharapkan anda dapat :

1. Mengetahui cara mengkonversi dosis beberapa obat hipokolesterolemia manusia ke dosis pada mencit
2. Membuat sediaan suspensi obat hipokolesterolemia oral yang sesuai dengan hewan coba mencit yang digunakan
3. Melakukan induksi untuk menaikkan kadar kolesterol darah hewan
4. Mengukur kadar kolesterol darah mencit dengan menggunakan kolesterol kit
5. Menganalisis perbedaan penurunan kadar kolesterol darah mencit antar perlakuan

Untuk mempermudah anda mempelajari modul ini, maka Modul ini akan dibagi menjadi dua kegiatan praktikum, kegiatan praktikum pertama membahas cara menganalisis efek obat hipoglikemik oral dan kegiatan praktikum dua akan membahas cara menganalisis efek obat hipokolesterolemia. Semua pengamatan pada kegiatan praktikum ini akan dilakukan pada hewan coba.

Didalam setiap kegiatan praktikum terdiri dari uraian singkat tentang materi praktikum, kemudian anda akan mendapatkan tahapan-tahapan dalam melakukan praktikum ini. Tahapan ini akan dibagi menjadi 3 bagian yaitu (1) persiapan yang memuat alat, bahan dan hewan yang perlu anda persiapkan dalam melakukan praktikum, (2) pelaksanaan yang memuat prosedur perlakuan pada hewan coba dan (3) pelaporan yang memuat tabel yang anda harus sesuai dengan pengamatan yang anda telah lakukan pada percobaan tersebut.

Selanjutnya anda diharapkan untuk menyelesaikan soal-soal latihan yang ada dalam tiap kegiatan praktikum tersebut. Jawaban dari soal-soal tersebut anda akan sangat membantu dalam menyusun laporan untuk menganalisis efek obat yang digunakan dalam percobaan tersebut. Pada akhir setiap kegiatan praktikum akan terdapat Tes, anda diminta untuk menyelesaikan Tes tersebut sebagai bahan penilaian terhadap pemahaman anda atas isi dari praktikum tersebut

Kegiatan Praktikum 1

Efek Obat Hipoglikemik Oral Pada Hewan Uji

Pada kegiatan belajar ini anda akan belajar menganalisa berbagai efek obat hipoglikemik oral yang diberikan kepada mencit. dengan mengamati penurunan kadar glukosa darah pada mencit.

Obat hipoglikemik oral adalah obat yang sering digunakan untuk mengatasi diabetes melitus (DM) tipe 2 pada pasien. Menurut Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), terdapat sekitar 160.000 penderita diabetes di dunia, yang jumlah penderita diabetes memiliki peluang untuk meningkat dua kali lipat dalam beberapa tahun terakhir. Karena prevalensi yang tinggi dan potensi efek merusak pada fisik pasien dan keadaan psikologis, diabetes adalah masalah medis utama yang perlu diperhatikan. Keberadaan penelitian yang melibatkan hewan coba untuk pengobatan Penyakit sangat membantu tidak hanya untuk memahami tentang patofisiologi penyakit tersebut, tetapi juga pengembangan obat untuk pengobatannya.

Pankreas merupakan kelenjar endokrin yang menghasilkan hormon-hormon peptida insulin, glukagon dan somatosatin; selain itu, pankreas juga merupakan kelenjar eksokrin yang menghasilkan enzim-enzim pencernaan.

Salah satu hormon yang memainkan peranan penting dalam mengatur aktivitas metabolik tubuh adalah insulin. Kekurangan atau ketiadaan insulin dapat menyebabkan penyakit diabetes melitus yang ditandai dengan hiperglikemia berat yang dapat menyebabkan retinopati, nefropati, neuropati dan komplikasi kardiovaskular jika tidak ditangani. Pemberian preparat insulin atau agen-agen hipoglikemik oral dapat mencegah morbiditas dan menurunkan mortalitas akibat diabetes

Senyawa-senyawa hipoglikemik oral terdiri dari golongan :

- a. sulfonilurea
- b. Short-acting insulin secretagogues
- c. Golongan biguanid
- d. Thiazolidindione
- e. Golongan α -glukosidase-inhibitors

Hewan Coba pada Penelitian Diabetes

Hewan coba sering digunakan dalam penelitian untuk menemukan atau untuk menguji efek dari obat diabetes melitus. Obat diabetes melitus secara garis besarnya dapat dibagi menjadi 2, yaitu diabetes melitus tipe 1 dan tipe 2, oleh karena itu perlakuan pada hewan coba yang digunakan juga dapat dibedakan atas hewan coba dengan diabetes tipe 1 atau diabetes tipe 2.

Dalam penelitian obat diabetes melitus, hewan coba yang sering digunakan adalah golongan tikus (mencit atau tikus). Tikus dapat dibuat mengidap penyakit diabetes tipe 1 dan

tipe 2, baik secara alami, perubahan genetik atau dengan induksi kimia maupun dengan virus.

Bahan kimia yang sering digunakan untuk menyebabkan hewan uji menderita diabetes adalah aloxan, streptozotocin atau dengan pembebanan glukosa.

Induksi dengan bahan kimia

Induksi kimia pada hewan akan menyebabkan hewan coba menderita diabetes tipe satu dimana banyaknya sel beta yang hancur dengan demikian, jumlah insulin endogen yang diproduksi menjadi sedikit, yang mengarah ke hiperglikemia dan penurunan berat badan. Diabetes dengan diinduksi secara kimia tidak hanya menyediakan model sederhana dan relatif murah tetapi juga dapat digunakan pada hewan yang lebih tinggi (Dufrane et al., 2006). Dua senyawa utama yang digunakan untuk menginduksi diabetes adalah streptozotocin (STZ) atau aloxan. Karena kesamaan mereka dalam struktur dengan glukosa (Bansal et al., 1980), aloxan dan STZ dapat bersaing dengan glukosa, sehingga hewan yang sedang puasa cenderung lebih rentan terhadap kedua bahan tersebut. Salah satu kelemahan induksi diabetes tipe 1 dengan bahan kimia adalah bahan tersebut dapat menjadi racun pada organ tubuh yang lain. Perlu juga dicatat bahwa terjadi perubahan pada isoenzim P450 di hati, ginjal, paru-paru, usus, Tesis dan otak setelah pemberian STZ atau aloxan, dan dengan demikian, hal ini harus dipertimbangkan ketika obat sedang diuji dengan cara ini (Lee et al., 2010).

1. Streptozotocin (STZ).

STZ [2-deoksi-2-(3-(metil-3-nitrosoureido)-D-glucopyranose] disintesis oleh *Streptomyces achromogenes*. Setelah pemberian i.p. atau i.v. obat akan memasuki sel beta pankreas melalui Glut-2 transporter dan menyebabkan alkilasi dari DNA (Szkudelski, 2001). Aktivasi berikutnya PARP menyebabkan deplesi NAD⁺, pengurangan ATP seluler dan hasilnya penghambatan produksi insulin (Sandler dan Swenne, 1983). Selain itu, STZ merupakan sumber radikal bebas yang juga dapat berkontribusi terhadap kerusakan DNA dan akhirnya kematian pada sel. STZ dapat digunakan dengan sekali pemberian dengan dosis tinggi atau diberikan berulang dengan dosis rendah.

a. Dosis tinggi STZ.

Dosis tinggi pada sekali penyuntikan pada tikus berkisar 100-200 mg /kg BB (Srinivasan dan Ramarao 2007;. Dekel et al, 2009), tergantung pada strain tikus (Hayashi et al., 2006), dan pada mencit berkisar 35-65 mg/kg BB mencit (Srinivasandan Ramarao, 2007). Perlu dicatat, setelah pemberian STZ dapat terjadi perbaikan pada pankreas dengan demikian diperlukan kontrol yang cukup untuk memastikan bahwa setiap perbaikan glikemia bukan karena regenerasi spontan dari sel beta (Grossman et al., 2010).

b. STZ dosis rendah

STZ dapat diberikan dalam beberapa dosis rendah selama 5 hari untuk menginduksi insulinitis pada mencit (Like dan Rossini, 1976; Wang dan Gleichmann, 1998) atau tikus (Lukic et al., 1998). Jarak dosis yang diberikan antara 20 sampai 40 mg/kg per hari, tergantung pada spesies dan strain. Penurunan dalam volume dan jumlah pulau langerhans tampak jelas yang bersamaan dengan berkurangnya kapasitas sekresi insulin (Bonnievie-Nielsen et al., 1981).

2. Aloksan.

Efek diabetes aloksan (2,4,5,6-tetraoxypyrimidine; 5,6-dioxyuracil) terutama disebabkan ambilan cepat oleh sel beta dan pembentukan radikal bebas, dimana sel beta memiliki mekanisme pertahanan yang buruk untuk radikal bebas tersebut (Nerup et al., 1994). Aloksan direduksi menjadi asam dialuric dan kemudian teroksidasi kembali menjadi aloksan, menciptakan siklus redoks untuk regenerasi radikal superoksida yang mengalami dismutasi untuk membentuk hidrogen peroksida dan selanjutnya membentuk radikal hidroksil yang sangat reaktif dan menyebabkan fragmentasi DNA sel beta (Szkudelski, 2001).

Aloksan juga diambil oleh hati, tetapi hati memiliki perlindungan yang lebih baik untuk oksigen reaktif (Malaisse et al, 1982;. Mathews dan Leiter, 1999) dan oleh karena itu hati tidak rentan terhadap kerusakan. Mekanisme lain kerusakan sel beta oleh aloksan termasuk oksidasi gugus SH yang esensial, terutama dari glukokinase (Walde et al., 2002) dan gangguan dalam homeostasis kalsium intraseluler (Kim et al., 1994).

Dosis pada tikus berkisar dari 50 sampai 200 mg/kg dan pada mencit dari 40 hingga 200 mg/kg BB, tergantung pada strain dan rute pemberian dimana pemberian ip dan s.c membutuhkan hingga tiga kali lebih besar dari dosis dengan rute i.v. (Szkudelski, 2001). Dosis 100 mg/kg BB telah digunakan untuk membuat diabetes jangka panjang pada kelinci (Wang et al., 2010). Perlu dicatat bahwa aloksan memiliki indeks dosis diabetogenik yang sempit, sehingga overdosis ringan bisa menyebabkan toksisitas umum, terutama untuk ginjal (Szkudelski, 2001).

3. Dengan induksi glukosa

Pada cara ini mencit yang digunakan adalah mencit normal yang dibebani sukrosa tanpa merusak pankreasnya, karena berdasarkan teori bahwa dengan pembebanan sukrosa akan menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah (hiperglikemik) secara cepat. Sukrosa di dalam tubuh dapat terurai menjadi glukosa dan fruktosa. Kadar glukosa yang tinggi dalam darah dapat diturunkan oleh zat-zat berefek antihiperglikemik

Metode pengukuran kadar glukosa darah

a. Dengan spektrofotometer

Darah mencit diambil melalui ekor sebanyak 0,5-1 ml ke dalam tabung ependorf. Darah disentrifusa selama 10 menit untuk diambil serumnya sebanyak 50 μ l dan kemudian ditambahkan uranil asetat 500 μ l dan disentrifusa kembali. Supernatan sebanyak 50 μ l diambil dan ditambahkan pereaksi enzim kit glukosa 500 μ l, kemudian diinkubasi selama 10 menit dan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 546 nm untuk mendapatkan nilai kadar glukosa darah. Hal yang sama dilakukan untuk blanko dan standar glukosa

b. Dengan Glukometer

Terdiri dari alat glukometer dan strip glukosa Glucometer yang sesuai dengan nomor pada alat. Alat ini secara otomatis akan hidup ketika glucose Tes strip dimasukkan dan akan mati setelah glucose Tes strip dicabut. masukkan strip kedalam alat glukometer, sehingga glucometer ini akan hidup secara otomatis, kemudian dicocokkan kode nomor yang muncul pada layar dengan yang ada pada vial Check glucose Tes strip. Tes strip yang dimasukkan pada glucometer pada bagian layar yang tertera angka yang harus sesuai dengan kode vial Check glucose Tes strip, kemudian pada layar monitor glukometer muncul tanda siap untuk diteteskan darah. Setuhkan tetesan darah yang keluar langsung dari pembuluh darah ke Tes strip dan ditarik sendirinya melalui aksi kapiler. Ketika wadah terisi penuh oleh darah, alat mulai mengukur kadar glukosa darah. Hasil pengukuran diperoleh selama 10 detik.

Persiapan Praktikum

A. Tujuan Percobaan

Menganalisis efek obat hipoglikemik oral dengan melihat dan mengamati serta menentukan jumlah penurunan kadar glukosa pada hewan uji mencit (*mus musculus*) setelah pemberian obat antihiperqliemik oral

B. Prinsip Percobaan

Efek obat hipoglikemik oral dapat diamati dengan membandingkan kadar glukosa darah mencit sebelum pemberian dan setelah pemberian obat hipoglikemik oral.

C. Alat dan Bahan yang digunakan

Alat yang digunakan

1. Batang pengaduk
2. Beaker
3. Gelas ukur
4. Gunting
5. Hot plate
6. Mixer
7. Spoit 1 cc
8. Spoit oral

9. Timbangan berat badan,
Bahan yang digunakan

1. Alkohol 70%
2. Aqua destilat,
3. Kapas
4. Natrium CMC.
5. Tablet Akarbose
6. Tablet Glibenklamid
7. Tablet Metformin

D. Hewan yang digunakan

Hewan yang digunakan adalah mencit jantan, galur lokal dengan berat badan 20 g- 30 g berumur antara 6 – 8 minggu

E. Pembuatan Bahan Penelitian

1. Pembuatan Natrium CMC 1%

- a. Panaskan kurang lebih 200 ml air hingga mendidih
- b. Timbang Na.CMC sebanyak 1 g
- c. Masukkan Na.CMC kedalam beaker gelas 300 ml lalu tambahkan 50 ml air panas
- d. Aduk campuran tersebut dengan mixer hingga homogen, ditandai dengan tidak nampaknya lagi serbuk berwarna putih dan campuran berupa seperti gel.
- e. Tambahkan air panas sedikit demi sedikit sambil diaduk hingga volume larutan tersebut menjadi 100 ml, dinginkan

2. Pembuatan Glukosa 5% b/v

- a. Timbang Glukosa sebanyak sebanyak 5 g
- b. Masukkan kedalam labu ukur 100 ml lalu tambahkan 50 ml air suling
- c. Aduk campuran hingga larut
- d. Lalu cukupkan volumenya hingga 100 ml dengan air suling.

3. Pembuatan suspensi Glibenklamid dan akarbose

Perhitungan Dosis oral Glibenklamid untuk mencit

Dosis lazim Glibenklamid untuk manusia	= 5 mg
Konversi dosis untuk mencit BB 20 g	= Dosis Lazim x Faktor Konversi
	= 5 mg x 0,0026 = 0,013 mg
Untuk mencit dengan berat 30 g	= (30 g/ 20 g) x 0,013 mg
	= 0,0195 mg
Dosis ini diberikan dalam volume	= 0,2 ml
Dibuat larutan persediaan sebanyak	= 100 ml
Jumlah Glibenklamid yang digunakan	= (100 ml / 0,2 ml) x 0,0195
	mg
	= 9,75 mg ~ 10 mg
	= 10 mg = 0,01g

$$\begin{aligned} \% \text{ kadar Glibeklamid} &= (0,01 \text{ g} / 100\text{ml}) \times 100\% \\ &= 0,01\% \end{aligned}$$

Jika akan digunakan tablet Glibenklamid

Tablet Glibenklamid tersedia dalam kadar 5 mg per-tabletnya, dikarenakan saudara akan membuat suspensi tablet glibenklamid dengan kadar 0,01% b/v atau 10 mg per 100 ml suspensi, maka untuk mendapatkan 10 mg glibenklamid anda membutuhkan glibenklamid setidaknya 2 tablet.

Cara pembuatan suspensi Glibenklamid 0,01 % b/v

1. Ambil 2 tablet Glibenklamid lalu gerus hingga halus,
2. Masukkan serbuk Glibenklamid yang sudah halus kedalam Erlenmeyer 100 ml
3. tambahkan sekitar 50 ml larutan Natrium CMC, kocok hingga homogen
4. lalu cukupkan volumenya hingga 100 ml dengan larutan Na.CMC 1%

4. Pembuatan suspensi Metformin HCl

Perhitungan Dosis oral Metformin HCl untuk mencit

Dosis lazim Metformin HCl untuk manusia	= 500 mg
Konversi dosis untuk mencit BB 20 g	= Dosis Lazim x Faktor Konversi
	= 5 mg x 0,0026 = 1,3 mg
Untuk mencit dengan berat 30 g	= (30 g/ 20 g) x 1,3 mg
	= 1,95 mg
Dosis ini diberikan dalam volume	= 0,2 ml
Dibuat larutan persediaan sebanyak	= 100 ml
Jumlah Metformin HCl yang digunakan	= (100 ml / 0,2 ml) x 1,95 mg
	= 975 mg ~ 1000 mg
	= 1000 mg = 1 g
% kadar Metformin HCl	= (1 g / 100ml) x 100%
	= 1%

Jika akan digunakan tablet Metformin HCl

Tablet Metformin HCl tersedia dalam kadar 500 mg per-tabletnya, dikarenakan saudara akan membuat suspensi tablet Metformin HCl dengan kadar 1% b/v atau 1g per 100 ml suspensi, maka untuk mendapatkan 1 g Metformin HCl anda membutuhkan tablet Metformin HCl sebanyak 2 tablet.

Cara pembuatan suspensi Metformin HCl 1 % b/v

1. Ambil 2 tablet Metformin HCl lalu gerus hingga halus,
2. Masukkan serbuk Metformin HCl yang sudah halus kedalam Erlenmeyer 100 ml
3. tambahkan sekitar 50 ml larutan Natrium CMC, kocok hingga homogen
4. lalu cukupkan volumenya hingga 100 ml dengan larutan Na.CMC 1%

5. Pembuatan suspensi Acarbose

Perhitungan Dosis oral Acarbose untuk mencit

Dosis lazim Acarbose untuk manusia	= 25 mg
Konversi dosis untuk mencit BB 20 g	= Dosis Lazim x Faktor Konversi
	= 25 mg x 0,0026 = 0,065 mg
Untuk mencit dengan berat 30 g	= (30 g/ 20 g) x 0.065 mg
	= 0,0975 mg
Dosis ini diberikan dalam volume	= 0,2 ml
Dibuat larutan persediaan sebanyak	= 100 ml
Jumlah Acarbose yang digunakan	= (100 ml / 0,2 ml) x 0,0975 mg
	= 48,75 mg = 0,04875
% kadar Acarbose	= (0,04875 g / 100ml) x 100%
	= 0,04875 %

Jika akan digunakan tablet Acarbose

Tablet Acarbose tersedia dalam beberapa konsentrasi yaitu 25 mg, 50 mg dan 100 mg per tabletnya, untuk membuat suspensi Acarbose dengan konsentrasi 0,04875%, mula-mula tentukan dahulu tablet Acarbose dengan kandungan berapa yang saudara akan gunakan lalu timbang berat tablet tersebut. Misalkan tablet Acarbose yang anda akan gunakan adalah tablet Acarbose dengan kadar 25 mg/ tablet. Dikarenakan untuk membuat suspensi Acarbose 0,04975% anda membutuhkan Acarbose sebanyak 48,75 mg, Maka saudara membutuhkan setidaknya 2 tablet Acarbose dengan kadar per tabletnya 25 mg.

Timbanglah 2 tablet Acarbose tersebut lalu hitung beratnya. Misalnya berat 2 tablet Acarbose tersebut adalah 240 mg, maka serbuk tablet Acarbose yang anda butuhkan sebanyak

Berat 2 tablet Acarbose @ 25 mg/tablet	= 240 mg
2 tablet Acarbose @ 25 mg/tablet mengandung	= 2 x 25 mg acarbose
	= 50 mg acarbose
Berat serbuk tablet Acarbose yang timbang	= 48,75 mg / 50 mg x 240 mg
	= 234 mg

Cara pembuatan suspensi Acarbose 0,04875 % b/v

1. Ambil 2 tablet Acarbose lalu gerus hingga halus, dan timbang sebanyak yang dibutuhkan sesuai perhitungan.
2. Masukkan serbuk Acarbose yang sudah ditimbang lumpang, tambahkan sekitar 50 ml larutan Natrium CMC, aduk hingga homogen
3. Pindahkan ke suspensi Acarbose tersebut ke dalam erlenmeyer lalu cukupkan volumenya hingga 100 ml dengan larutan Na.CMC 1%

Pelaksanaan

Hewan percobaan dikelompokkan menjadi 4 kelompok dan masing–masing kelompok terdiri dari 3 ekor. Setiap kelompok dipisahkan dalam kandang yang berbeda. Sebelum penelitian dilakukan mencit diaklimatisasi selama 7 hari untuk membiasakan pada

lingkungan percobaan, dipelihara dalam ruangan dengan suhu kamar, siklus cahaya terang : gelap (14:10) pemberian makan dengan pakan reguler dan air minum, sebelum perlakuan mencit dipuaskan selama 10 jam tetapi tetap diberikan air minum dan diberi makanan standar. Hewan dianggap sehat apabila perubahan berat badan tidak lebih dari 10% serta memperlihatkan perilaku normal

Metode Induksi Kimia

A. Pembebanan Glukosa (Toleransi Glukosa)

1. Gunakan mencit jantan sebanyak 12 ekor
2. Ditimbang berat badan tiap mencit lalu catat
3. Mencit kemudian dikelompokkan secara rawu ke dalam 4 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 3 ekor, dimana kelompok I sebagai kontrol, diberikan larutan Na.CMC 1%, kelompok II diberi suspensi glibenklamid, kelompok III diberi suspensi akarbose dan kelompok IV diberi suspensi metformin HCL
4. Sebelum perlakuan mencit diambil darahnya melalui pembuluh darah yang ada di vena ekor dengan cara di potong ekor mencit tersebut $\pm 0,5$ cm dari ujung ekor dengan menggunakan gunting yang telah di usap dengan alkohol 70%.
5. Darah yang keluar di teteskan pada strip glukometer yang terpasang pada alat. Kadar glukosa darah yang muncul pada alat kemudian dicatat sebagai kadar glukosa puasa
6. Setelah penentuan kadar glukosa puasa pada mencit, kemudian semua mencit diberikan larutan glukosa 5% dengan dosis 1-2,5g/Kg BB mencit secara oral
7. menit kemudian diukur kadar glukosa darahnya sebagai kadar glukosa setelah pembebanan,
8. pada menit ke 10 (atau 5 menit setelah kadar glukosa di ukur) setiap mencit diberikan perlakuan, kelompok I diberi larutan Na.CMC 1%, kelompok II diberi suspensi glibenklamid, kelompok III diberi suspensi akarbose dan kelompok IV diberi suspensi metformin HCL, semua perlakuan secara oral dengan volume pemberian adalah 0,2 ml / 30 g BB mencit.
9. Mencit kemudian dibiarkan dan diukur kadar gula darahnya tiap 20 menit selama 60 menit.

B. Aloxan

1. Gunakan mencit jantan sebanyak 12 ekor
2. Ditimbang berat badan tiap mencit lalu catat
3. Sebelum perlakuan mencit diambil darahnya melalui pembuluh darah yang ada di vena ekor dengan cara di potong ekor mencit tersebut $\pm 0,5$ cm dari ujung ekor dengan menggunakan gunting yang telah di usap dengan alkohol 70%.
4. Darah yang keluar di teteskan pada strip glukometer yang terpasang pada alat. Kadar glukosa darah yang muncul pada alat kemudian dicatat sebagai kadar glukosa puasa

5. Setelah penentuan kadar glukosa puasa pada mencit, kemudian semua mencit diberikan injeksi aloxan yang dilarutkan dalam infus NaCl 0,9% dengan dosis 100 mg/Kg BB mencit secara intraperitoneal
6. Setelah 2 minggu mencit yang memiliki kadar gula > 250 mg/dL (dicatat sebagai kadar gula diabetik) dipisahkan dan digunakan dalam penelitian.
7. Mencit kemudian dikelompokkan secara rawu ke dalam 4 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 3 ekor, dimana kelompok I sebagai kontrol, diberikan larutan Na.CMC 1%, kelompok II diberi suspensi glibenklamid, kelompok III diberi suspensi akarbose dan kelompok IV diberi suspensi metformin HCL.
8. kemudian setiap mencit diberikan perlakuan, kelompok I diberi larutan Na.CMC 1%, kelompok II diberi suspensi glibenklamid, kelompok III diberi suspensi akarbose dan kelompok IV diberi suspensi metformin HCL, semua perlakuan secara oral dengan volume pemberian adalah 0,2 ml / 30 g BB mencit.
9. Mencit kemudian dibiarkan dan diukur kadar gula darahnya tiap 20 menit selama 60 menit.

C. Streptozozin

1. Gunakan mencit jantan sebanyak 12 ekor
2. Ditimbang berat badan tiap mencit lalu catat
3. Sebelum perlakuan mencit diambil darahnya melalui pembuluh darah yang ada di vena ekor dengan cara di potong ekor mencit tersebut \pm 0,5 cm dari ujung ekor dengan menggunakan gunting yang telah di usap dengan alkohol 70%.
4. Darah yang keluar di teteskan pada strip glukometer yang terpasang pada alat. Kadar glukosa darah yang muncul pada alat kemudian dicatat sebagai kadar glukosa puasa
5. Setelah penentuan kadar glukosa puasa pada mencit, kemudian semua mencit diberikan injeksi streptozozin yang dilarutkan dalam buffer sitrat (0.1 M, pH 4.5) dengan dosis 65 mg/Kg BB mencit secara intraperitoneal
6. Setelah 7 hari mencit yang memiliki kadar gula > 250 mg/dL (dicatat sebagai kadar gula diabetik) dipisahkan dan digunakan dalam percobaan.
7. Mencit kemudian dikelompokkan secara rawu ke dalam 4 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 3 ekor, dimana kelompok I sebagai kontrol, diberikan larutan Na.CMC 1%, kelompok II diberi suspensi glibenklamid, kelompok III diberi suspensi akarbose dan kelompok IV diberi suspensi metformin HCL.
8. kemudian setiap mencit diberikan perlakuan, kelompok I diberi larutan Na.CMC 1%, kelompok II diberi suspensi glibenklamid, kelompok III diberi suspensi akarbose dan kelompok IV diberi suspensi metformin HCL, semua perlakuan secara oral dengan volume pemberian adalah 0,2 ml / 30 g BB mencit.
9. Mencit kemudian dibiarkan dan diukur kadar gula darahnya tiap 20 menit selama 60 menit.

Pelaporan

Data yang dikumpulkan berupa kadar glukosa darah puasa, setelah pembebanan, dan tiap 10 menit setelah diberikan perlakuan. Penentuan kadar glukosa darah dapat dilakukan dengan menggunakan glukometer atau spektrofotometer.

Tabel 1. Pelaporan kadar Glukosa darah Mencit dengan metode pembebanan Glukosa

kelompok	mencit	Kadar glukosa darah mencit		
		Puasa	Kadar Gula Diabetik	menit
				20 40 60
Kontrol	I			
	II			
	III			
Glibenklamid	I			
	II			
	III			
Akarbose	I			
	II			
	III			
Metformin HCl	I			
	II			
	III			

Tabel 2. Pelaporan kadar Glukosa darah Mencit dengan metode Induksi Aloxan

kelompok	mencit	Kadar glukosa darah mencit				
		Puasa	Kadar Gula Diabetik	menit		
				20	40	60
Kontrol	I					
	II					
	III					
Glibenklamid	I					
	II					
	III					
Akarbose	I					
	II					
	III					
Metformin HCl	I					
	II					
	III					

Tabel 3. Pelaporan kadar Glukosa darah Mencit dengan metode Induksi Aloxan

kelompok	mencit	Kadar glukosa darah mencit				
		Puasa	Kadar Gula Diabetik	menit		
				20	40	60
Kontrol	I					
	II					
	III					
Glibenklamid	I					
	II					
	III					
Akarbose	I					

//

///

/

Metformin HCl //

///

Latihan

- 1) Jelaskan secara singkat patofisiologi dari penyakit diabetes tipe 1 dan 2 !
- 2) Jelaskan mekanisme kerja obat hipoglikemik oral yang anda gunakan dalam percobaan diatas !

Petunjuk jawaban latihan

Dalam menyelesaikan soal-soal diatas anda dapat merujuk kepada buku patologi dan patofisiologi serta buku-buku farmakologi

Ringkasan

1. Obat hipoglikemik oral adalah obat yang sering digunakan untuk mengatasi diabetes melitus (DM).
2. Metode yang digunakan untuk mendapatkan hewan uji yang diabetes dapat dengan menggunakan hewan yang secara alami dan secara genetik menderita diabetes atau menggunakan induksi bahan kimia seperti aloxa, streptozosin, dan glukosa
3. Penggunaan bahan kimia untuk menginduksi terjadinya diabetes melitus pada hewan bergantung pada jenis hewan coba dan dosis yang diberikan

Tes 1

- 1) Penggunaan Bahan kimia aloxan pada hewan uji akan menyebabkan hewan uji menderita diabetes jenis
 - A. Dabetes tipe 1
 - B. Diabetes tipe 2
 - C. Diabetes gestational
 - D. Diabetes tipe lain
- 2) Induksi diabetes melitus dengan streptozocin dapat dilakukan dengan
 - A. Dosis tinggi dengan 40 hingga 200 mg/kg BB
 - B. Dosis rendah dengan 40 hingga 200 mg/kg BB

- C. Dosis tinggi dengan 35-65 mg/kg BB mencit
 - D. Dosis tinggi dengan 20 sampai 40 mg/kg
- 3) Bahan kimia berikut dapat menginduksi naiknya kadar gula tanpa menyebabkan hewan menjadi diabetes adalah
- A. Streptozocin
 - B. Aloxan
 - C. Glukosa
 - D. Na.CMC
- 4) Dosis glukosa yang digunakan untuk menginduksi naiknya kadar glukosa darah mencit adalah
- A. 0,5 – 1 kg/BB mencit
 - B. 1 – 2,5 kg/BB mencit
 - C. 2,5 – 3,5 kg/BB mencit
 - D. 3,5 – 4,5 kg/BB mencit
- 5) Pada percobaan dengan menggunakan streptozocin sebagai peng-induksi Diabetes melitus diperlukan kontrol karena
- A. Indeks dosis streptozocin yang kecil
 - B. Terjadi perbaikan pada pankreas
 - C. Streptozocin dapat menyebabkan kerusakan hati
 - D. Kadar gula mencit bisa meningkat

LAPORAN PRAKTIUM

Laporan praktikum disusun dengan format sebagai berikut :

1. Bab I : Pendahuluan

Dalam bab ini terdiri dari 3 unsur yaitu :

I.1. Latar Belakang Praktikum

Memuat hal-hal yang mendasari pentingnya malakukan praktikum ini baik secara umum sebagai ilmu dalam kefarmasian, maupun secara khusus untuk memahami matakuliah farmakologi

I.2. Maksud dan Tujuan Praktikum

Memuat maksud dan tujuan praktikum yang dapat terdiri dari tujuan umum dan khusus

I.3. Prinsip Praktikum

Memuat prinsip dasar dalam melakukan praktikum ini

2. Bab II : Tinjauan Pustaka

Memuat dasar-dasar teori yang penting diketahui dalam melaksanakan praktikum ini, serta teori-teori yang diperlukan dalam membuat pembahasan hasil praktikum

3. Bab III : Metode Kerja

4. Bab IV : Hasil Percobaan dan Pembahasan

a. Memuat data-data yang didapat dari hasil percobaan, dibuat sesuai dengan format lembar praktikum yang terdapat pada akhir modul praktikum

b. Memuat gambar-gambar/tabel/grafik

c. Untuk grafik dibuat dalam milimeter blok

d. Perhitungan

e. Pembahasan

f. Memuat pembahasan hasil praktikum yang meliputi pembahasan data, analisis hasil perhitungan, menghubungkan dengan teori dan memperkirakan penyebab terjadinya perbedaan hasil percobaan dan praktikum

5. Bab V : Kesimpulan

Berisi hal-hal yang disimpulkan dari hasil analisis percobaan dan pembahasan yang merupakan jawaban dari tujuan praktikum.

6. Daftar pustaka

Diharapkan daftar pustakan berasal dari sekurang-kurangnya 5 sumber selain modul Selain format laporan yang diatas anda juga harus menjawab setiap pertanyaan yang ada di modul praktikum untuk masing-masing judul kegiatan praktikum.

Agar laporan anda tidak tercecer maka, disarankan anda menjilid rapi laporan praktikum yang telah anda buat dan membuat kopi laporan yang telah selesai

Mudah-mudahan anda dapat melaksanakan kegiatan praktikum dengan baik dan benar serta menyelesaikan laporan dan tugas yang terdapat dalam modul ini tepat waktu

Kegiatan Praktikum 2

Efek Obat Hipokolestroemia Pada Hewan Coba

Kita telah ketahui bersama bahwa penyakit jantung koroner telah menjadi pembunuh nomor 1 di hampir seluruh dunia terutama di negara yang sedang berkembang. Seseorang mengalami penyakit jantung koroner jika aliran darah ke jantungnya terhambat oleh lemak. Penimbunan lemak atau hiperlipidemia di dalam arteri jantung ini dikenal dengan istilah aterosklerosis dan merupakan penyebab utama penyakit jantung koroner.

Hiperlipidemia/hiperkolesterolemia adalah penyakit kelainan metabolik yang ditandai dengan peningkatan kadar kolesterol/lipid dalam darah. Penyakit ini dapat disebabkan oleh banyak faktor terutama pola hidup dengan diet tinggi kolesterol.

Penelitian yang berkaitan dengan penyakit hiperlipidemia telah banyak dilakukan baik secara langsung pada manusia atau melalui hewan uji. Penelitian pada hewan uji dilakukan untuk mengetahui penyebab penyakit hiperlipidemia, mekanisme penyakit atau untuk menemukan obat baru yang dapat mengatasi hiperlipidemia. Salah satu hewan yang sering digunakan untuk penelitian tersebut adalah tikus. Namun perlu diketahui bahwa tikus yang tidak mengalami modifikasi genetik memiliki tingkat kolesterol HDL yang tinggi dan tingkat kolesterol LDL yang rendah, sedangkan manusia memiliki tingkat kolesterol LDL dan rendahnya tingkat kolesterol HDL. Perbedaan profil lipid antara tikus dan manusia karena tidak adanya protein pemindah ester kolesterol (cholesterol ester transfer protein (CETP) pada tikus. CETP adalah enzim yang mengubah ester kolesterol dari HDL ke VLDL dan LDL dalam pertukarannya untuk trigliserida. Pada tikus normal yang kekurangan CETP, lebih dari 80% dari kolesterol plasma diubah menjadi HDL, sehingga tikus dengan kadar kolesterol HDL tinggi tahan terhadap hiperkolesterolemia dan aterosklerosis. Untuk mengatasi masalah penggunaan tikus sebagai model penelitian yang bertujuan untuk memahami metabolisme kolesterol pada manusia, beberapa strain rekayasa genetika tikus telah dikembangkan dengan mempengaruhi perubahan distribusi kolesterol plasma dari HDL ke VLDL dan LDL. Tikus yang dimodifikasi secara genetik termasuk CETP transgenik, apoE Knockout dan LDL tikus knockout reseptor

Untuk mendapatkan hewan coba yang mengalami hiperlipidemia dapat dilakukan dengan berbagai cara

1. Dengan menggunakan hewan coba yang secara genetik telah mengalami perubahan dimana hewan coba tersebut memiliki kadar lipid yang lebih tinggi
2. Dengan menggunakan diet tinggi kolesterol, hewan diberikan pakan tinggi kolesterol untuk jangka waktu tertentu, cara ini akan memakan waktu yang lebih lama.
3. Menggunakan induksi bahan kimia, bahan kimia dapat menyebabkan kenaikan kadar kolesterol dengan cara meningkatkan sintesa kolesterol atau dengan menghambat penghilangan kolesterol dalam darah. Bahan kimia yang sering digunakan adalah, triton WR 1339, poloxamer 407 (P-407), Propiltiourasil (PTU).

4. Menggunakan kombinasi pakan tinggi lemak dan induksi bahan kimia, cara ini akan mempercepat kenaikan kadar kolesterol total dalam darah dibandingkan bila hanya menggunakan pakan tinggi lemak saja, bahan kimia yang cocok untuk cara ini yaitu dengan PTU, tetapi bila menggunakan Triton WR 1339, maka tidak perlu dengan menggunakan pakan khusus tinggi kolesterol.

PERSIAPAN PRAKTIKUM

A. Tujuan Percobaan

Menganalisis efek obat hipokolesterolemia dengan mengamati serta menentukan penurunan kadar Kolesterol total pada hewan uji mencit (*mus musculus*) setelah pemberian obat hipokolesterolemia oral

B. Prinsip Percobaan

Efek obat hipokolesterolemia oral dapat diamati dengan membandingkan kadar kolesterol darah mencit sebelum pemberian dan setelah pemberian obat hipokolesterolemia oral.

C. Alat dan Bahan yang digunakan

Alat yang digunakan

1. Batang pengaduk
2. Beaker
3. Gelas ukur
4. Hot plate
5. Kolesterol tetster
6. Mixer
7. Spoit 1 ml
8. Spoit oral
9. Timbangan berat badan

Bahan yang digunakan

1. Alkohol 70%
2. Aqua destilat,
3. Lemak Sapi
4. Natrium CMC.
5. Ol. Cocos
6. Propiltiourasil
7. Tablet Fenofibrate
8. Tablet Gemfibrozil
9. Tablet Simvastatin
10. Triton WR 1339

D. Hewan yang digunakan

Hewan yang digunakan adalah mencit jantan, galur lokal dengan berat badan 20 g- 30 g berumur antara 6 – 8 minggu

E. Pembuatan Bahan Penelitian

1. Pembuatan Natrium CMC 1%

- a. Panaskan kurang lebih 200 ml air hingga mendidih
- b. Timbang Na.CMC sebanyak 1 g
- c. Masukkan Na.CMC kedalam beaker gelas 300 ml lalu tambahkan 50 ml air panas
- d. Aduk campuran tersebut dengan mixer hingga homogen, ditandai dengan tidak nampaknya lagi serbuk berwarna putih dan campuran berupa seperti gel.
- e. Tambahkan air panas sedikit demi sedikit sambil diaduk hingga volume larutan tersebut menjadi 100 ml, dinginkan

2. Pembuatan suspensi Simvastatin

Perhitungan Dosis oral Simvastatin untuk mencit

Dosis lazim Simvastatin untuk manusia	= 5 mg
Konversi dosis untuk mencit BB 20 g	= Dosis Lazim x Faktor Konversi
	= 5 mg x 0,0026 = 0,013 mg
Untuk mencit dengan berat 30 g	= (30 g / 20 g) x 0,013 mg
	= 0,0195 mg
Dosis ini diberikan dalam volume	= 0,2 ml
Dibuat larutan persediaan sebanyak	= 100 ml
Jumlah Simvastatin yang digunakan	= (100 ml / 0,2 ml) x 0,0195 mg
	= 9,75 mg ~ 10 mg
	= 10 mg = 0,01g
% kadar Simvastatin	= (0,01 g / 100ml) x 100%
	= 0,01%

Jika akan digunakan tablet Simvastatin

Tablet Simvastatin tersedia dalam kadar 5 mg per-tabletnya, dikarenakan saudara akan membuat suspensi tablet Simvastatin dengan kadar 0,01% b/v atau 10 mg per 100 ml suspensi, maka untuk mendapatkan 10 mg Simvastatin anda membutuhkan Simvastatin setidaknya 2 tablet.

Cara pembuatan suspensi Simvastatin 0,01 % b/v

- a. Ambil 2 tablet Simvastatin lalu gerus hingga halus,
- b. Masukkan serbuk Simvastatin yang sudah halus kedalam Erlenmeyer 100 ml
- c. tambahkan sekitar 50 ml larutan Natrium CMC, kocok hingga homogen
- d. lalu cukupkan volumenya hingga 100 ml dengan larutan Na.CMC 1%

3. Pembuatan suspensi Gemfibrozil

Perhitungan Dosis oral Gemfibrozil untuk mencit

Dosis lazim Gemfibrozil untuk manusia	= 600 mg
Konversi dosis untuk mencit BB 20 g	= Dosis Lazim x Faktor Konversi = 600 mg x 0,0026 = 1,56 mg
Untuk mencit dengan berat 30 g	= (30 g/ 20 g) x 1,56 mg = 2,34 mg
Dosis ini diberikan dalam volume	= 0,2 ml
Dibuat larutan persediaan sebanyak	= 100 ml
Jumlah Metformin HCl yang digunakan	= (100 ml / 0,2 ml) x 2,34 mg = 1170 mg = 1,17 g
% kadar Metformin HCl	= (1,17 g / 100ml) x 100% = 1,17%

Jika akan digunakan tablet Gemfibrozil

Tablet Gemfibrozil tersedia dalam kadar 600 mg per-tabletnya, dikarenakan saudara akan membuat suspensi tablet Gemfibrozil dengan kadar 1,17% b/v atau 1,17g per 100 ml suspensi, maka untuk mendapatkan 1,17 g Gemfibrozil anda membutuhkan tablet Gemfibrozil sebanyak 2 tablet.

Timbanglah 2 tablet Gemfibrozil tersebut lalu hitung beratnya. Misalnya berat 2 tablet Gemfibrozil tersebut adalah 1500 mg, maka serbuk tablet Gemfibrozil yang anda butuhkan sebanyak

Berat 2 tablet Gemfibrozil	= 1500 mg
Tiap Tablet Gemfibrozil mengandung	= 600 mg Gemfibrozil
2 tablet Gemfibrozil mengandung	= 2 x 600 mg Gemfibrozil = 1200 mg Gemfibrozil

Berat serbuk tablet Gemfibrozil yang timbang =

$$\frac{\text{berat Gemfibrozil yang diminta}}{\text{kadar Gemfibrozil dalam 2 tablet}} \times \text{berat 2 tablet Gemfibrozil}$$

Berat serbuk tablet Gemfibrozil yang timbang = $\frac{1170 \text{ mg}}{1200 \text{ mg}} \times 1500 \text{ mg}$

Berat serbuk tablet Gemfibrozil yang timbang = 1462,5 mg

Cara pembuatan suspensi Gemfibrozil

- Ambil 2 tablet Gemfibrozil lalu gerus hingga halus,
- Masukkan serbuk Gemfibrozil yang sudah halus kedalam Erlenmeyer 100 ml
- tambahkan sekitar 50 ml larutan Natrium CMC, kocok hingga homogen
- lalu cukupkan volumenya hingga 100 ml dengan larutan Na.CMC 1%

4. Pembuatan suspensi Fenofibrate

Perhitungan Dosis oral Fenofibrate untuk mencit

Dosis lazim Fenofibrate untuk manusia	= 54 mg
Konversi dosis untuk mencit BB 20 g	= Dosis Lazim x Faktor Konversi

Untuk mencit dengan berat 30 g	= 54 mg x 0,0026 = 0,1404 mg
	= (30 g/ 20 g) x 0,1404 mg
	= 0,2106 mg
Dosis ini diberikan dalam volume	= 0,2 ml
Dibuat larutan persediaan sebanyak	= 100 ml
Jumlah Fenofibrate yang digunakan	= (100 ml / 0,2 ml) x 0,2106 mg
	= 105,3 mg = 0,1053 g
% kadar Fenofibrate	= (0,1053 g / 100ml) x 100%
	= 0,1053 %

Jika akan digunakan tablet Fenofibrate

Tablet Fenofibrate tersedia dalam 2 konsentrasi yaitu 54 mg, dan 160 mg per tabletnya, untuk membuat suspensi Fenofibrate dengan konsentrasi 0,1053%, mula-mula tentukan dahulu tablet Fenofibrate dengan kandungan berapa yang saudara akan gunakan lalu timbang berat tablet tersebut. Misalkan tablet Fenofibrate yang anda akan gunakan adalah tablet Fenofibrate dengan kadar 54 mg/ tablet. Dikarenakan untuk membuat suspensi Fenofibrate 0,1053% anda membutuhkan Fenofibrate sebanyak 0,1053 g, Maka saudara membutuhkan setidaknya 3 tablet Fenofibrate dengan kadar per tabletnya 54 mg.

Timbanglah 3 tablet Fenofibrate tersebut lalu hitung beratnya. Misalnya berat 3 tablet Fenofibrate tersebut adalah 450 mg, maka serbuk tablet Fenofibrate yang anda butuhkan sebanyak

Berat 3 tablet Fenofibrate	= 450 mg
Tiap Tablet Fenofibrate mengandung	= 54 mg Fenofibrate
3 tablet Gemfibrozil mengandung	= 3 x 54 mg Fenofibrate
	= 162 mg Fenofibrate

Berat serbuk tablet Fenofibrate yang timbang =

$$\frac{\text{berat Fenofibrate yang diminta}}{\text{kadar Fenofibrate dalam 3 tablet}} \times \text{berat 3 tablet Gemfibrozil}$$

Berat serbuk tablet Fenofibrate yang timbang = $\frac{105,3 \text{ mg}}{162 \text{ mg}} \times 450 \text{ mg}$

Berat serbuk tablet Fenofibrate yang timbang = 292,5 mg

Cara pembuatan suspensi Fenofibrate

1. Ambil 3 tablet Fenofibrate lalu gerus hingga halus, dan timbang sebanyak yang dibutuhkan sesuai perhitungan.
2. Masukkan serbuk Fenofibrate yang sudah ditimbang lumpang, tambahkan sekitar 50 ml larutan Natrium CMC, aduk hingga homogen
3. Pindahkan serbuk Fenofibrate tersebut ke dalam erlenmeyer lalu cukupkan volumenya hingga 100 ml dengan larutan Na.CMC 1%

5. Pembuatan Makanan Diet Lemak Tinggi (MDLT)
Makanan Diet Lemak Tinggi (MDLT) yang terdiri dari campuran lemak sapi dan minyak goreng (1:5) dibuat dengan cara : lemak sesuai dengan yang dibutuhkan dicampurkan dengan minyak dengan bantuan pemanasan aduk hingga homogen lalu dinginkan.
6. Pembuatan minuman propiltiourasil 0,01% untuk mencit
 - a. Ambil 1 tablet propiltiourasil lalu gerus hingga halus
 - b. Masukkan dalam erlenmeyer, dan tambahkan 250 ml aqua dest.
 - c. Kocok larutan tersebut hingga larut, lalu saring masuk ke dalam labu ukur 1 liter
 - d. Cukupkan volumenya hingga 1 liter

Pelaksanaan

Hewan percobaan dikelompokkan menjadi 4 kelompok dan masing–masing kelompok terdiri dari 4 ekor. Setiap kelompok dipisahkan dalam kandang yang berbeda. Sebelum penelitian dilakukan mencit diaklimatisasi selama 7 hari untuk membiasakan pada lingkungan percobaan, dan diberi makanan standar. Hewan dianggap sehat apabila perubahan berat badan tidak lebih dari 10% serta memperlihatkan perilaku normal

Metode Induksi Kimia

A. Triton Cara I

Metode ini digunakan untuk menguji efek obat hipokolesterol dalam mencegah sintesis kolesterol dalam tubuh yang dapat menyebabkan kenaikan kolesterol dalam darah

1. Gunakan mencit jantan sebanyak 12 ekor
2. Mencit dipuasakan semalaman (12 jam) sebelum perlakuan
3. Ditimbang berat badan tiap mencit lalu catat
4. Sebelum perlakuan mencit diambil darahnya melalui pembuluh darah yang ada di vena ekor dengan cara di potong ekor mencit tersebut \pm 0,5 cm dari ujung ekor dengan menggunakan gunting yang telah di usap dengan alkohol 70%.
5. Darah yang keluar di teteskan pada strip Kolesterol yang terpasang pada alat. Kadar Kolesterol darah yang muncul pada alat kemudian dicatat sebagai kadar Kolesterol awal
6. Setelah penentuan kadar Kolesterol awal pada mencit, kemudian semua mencit diberikan injeksi triton WR 1339 yang dilarutkan dalam infus NaCl 0,9% dengan dosis 400 mg/Kg BB mencit secara intraperitoneal
7. Mencit kemudian dikelompokkan secara rawu ke dalam 4 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 3 ekor, dimana kelompok I sebagai kontrol, diberikan larutan Na.CMC 1%, kelompok II diberi suspensi Simvastatin, kelompok III diberi suspensi Gembifrozil dan kelompok IV diberi suspensi Fenofibrate.

8. Setelah 30 menit pemberian injeksi triton, setiap mencit diberikan perlakuan, kelompok I diberi larutan Na.CMC 1%, kelompok II diberi suspensi Simvastatin, kelompok III diberi suspensi Gembifrozil dan kelompok IV diberi suspensi Fenofibrate, semua perlakuan secara oral dengan volume pemberian adalah 0,2 ml / 30 g BB mencit.
9. Mencit kemudian dibiarkan selama 8 jam dan setelah 8 jam diukur kadar kolesterol

B. Triton Cara II

Metode ini digunakan untuk menguji kemampuan obat hipokolesterol dalam mempercepat penghilangan kolesterol dalam tubuh yang dapat mencegah kenaikan kolesterol dalam darah

1. Gunakan mencit jantan sebanyak 12 ekor
2. Mencit dipuasakan semalaman (12 jam) sebelum perlakuan
3. Mencit ditimbang berat badan tiap lalu dicatat
4. Sebelum perlakuan mencit diambil darahnya melalui pembuluh darah yang ada di vena ekor dengan cara di potong ekor mencit tersebut \pm 0,5 cm dari ujung ekor dengan menggunakan gunting yang telah di usap dengan alkohol 70%.
5. Darah yang keluar di teteskan pada strip Kolesterol yang terpasang pada alat. Kadar Kolesterol darah yang muncul pada alat kemudian dicatat sebagai kadar Kolesterol awal
6. Setelah penentuan kadar Kolesterol awal pada mencit, kemudian semua mencit diberikan injeksi triton WR 1339 yang dilarutkan dalam infus NaCl 0,9% dengan dosis 400 mg/Kg BB mencit secara intraperitoneal
7. Mencit kemudian dikelompokkan secara rawu ke dalam 4 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 3 ekor, dimana kelompok I sebagai kontrol, diberikan larutan Na.CMC 1%, kelompok II diberi suspensi Simvastatin, kelompok III diberi suspensi Gembifrozil dan kelompok IV diberi suspensi Fenofibrate.
8. Setelah 22 – 24 jam setelah pemberian injeksi Triton, setiap mencit diberikan perlakuan, kelompok I diberi larutan Na.CMC 1%, kelompok II diberi suspensi Simvastatin, kelompok III diberi suspensi Gembifrozil dan kelompok IV diberi suspensi Fenofibrate, semua perlakuan secara oral dengan volume pemberian adalah 0,2 ml / 30 g BB mencit.
9. Mencit kemudian dibiarkan selama 8 jam dan setelah 8 jam diukur kadar kolesterol

C. Kombinasi Makanan Tinggi Lemak dan PTU

1. Gunakan mencit jantan sebanyak 12 ekor
2. Mencit ditimbang berat badan tiap lalu dicatat
3. Sebelum perlakuan mencit diambil darahnya melalui pembuluh darah yang ada di vena ekor dengan cara di potong ekor mencit tersebut \pm 0,5 cm dari ujung ekor dengan menggunakan gunting yang telah di usap dengan alkohol 70%.

4. Darah yang keluar di teteskan pada strip Kolesterol yang terpasang pada alat. Kadar Kolesterol darah yang muncul pada alat kemudian dicatat sebagai kadar Kolesterol awal
5. Setelah penentuan kadar Kolesterol awal pada mencit, semua tikus dibuat hiperlipidemia dengan cara diberi pakan tinggi lemak, dan PTU 0,01 % yang dilarutkan dalam air minum ad libitum selama 4 minggu
6. Setelah 4 minggu semua mencit diukur kadar kolesterolnya dan makanan tinggi kolesterol kemudian diganti dengan pakan standart dan air minum yang diberikan adalah aqua dest tanpa PTU
7. Mencit kemudian dikelompokkan secara rawu ke dalam 4 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 3 ekor, dimana kelompok I sebagai kontrol, diberikan larutan Na.CMC 1%, kelompok II diberi suspensi Simvastatin, kelompok III diberi suspensi Gembifrozil dan kelompok IV diberi suspensi Fenofibrate.
8. Selama 3 minggu mencit diberi perlakuan dimana kelompok I diberi larutan Na.CMC 1%, kelompok II diberi suspensi Simvastatin, kelompok III diberi suspensi Gembifrozil dan kelompok IV diberi suspensi Fenofibrate, semua perlakuan secara oral 1 kali sehari dengan volume pemberian adalah 0,2 ml / 30 g BB mencit
9. Mencit tetap diberi pakan standart dengan minum aqua dest tanpa ptu ad libitum
10. Pengambilan darah dilakukan sebanyak 3 kali yaitu pada waktu: minggu ke-5 minggu ke-6 dan minggu ke-7

PELAPORAN

Data yang dikumpulkan adalah kadar kolesterol darah mencit sebelum dan setelah diinduksi dan setelah pemberian obat anti kolesterol.

Tabel 1. Pelaporan kadar Kolesterol darah Mencit dengan Induksi Triton Cara 1

<i>kelompok</i>	<i>mencit</i>	<i>Kadar kolesterol mencit (mg/dL)</i>		
		<i>Sebelum induksi</i>	<i>Setelah induksi</i>	<i>Setelah 8 jam</i>
<i>Kontrol</i>	<i>I</i>			
	<i>II</i>			
	<i>III</i>			
<i>Glibenklamid</i>	<i>I</i>			
	<i>II</i>			

✍ ■ **Praktikum Farmakologi** ✍ ■

	III
	I
Akarbose	II
	III
	I
Metformin HCl	II
	III

Tabel 2. Pelaporan kadar Kolesterol darah Mencit dengan Induksi Triton Cara 2

kelompok	mencit	Kadar kolesterol mencit (mg/dL)		
		Sebelum induksi	Setelah induksi	Setelah 8 jam
Kontrol	I			
	II			
	III			
Glibenklamid	I			
	II			
	III			
Akarbose	I			
	II			
	III			
Metformin HCl	I			
	II			
	III			

Tabel 3. Pelaporan kadar Kolesterol darah Mencit dengan Induksi PTU dan Pakan Tinggi Lemak

kelompok	mencit	Kadar kolesterol mencit (mg/dL)				
		Sebelum induksi	Setelah induksi	minggu		
				5	6	7
Kontrol	I					
	II					
	III					
Glibenklamid	I					
	II					
	III					
Akarbose	I					
	II					
	III					
Metformin HCl	I					
	II					
	III					

Latihan

- 1) Jelaskan mekanisme sintesa kolesterol dari dalam tubuh
- 2) Jelaskan mekanisme PTU dan Triton dalam menginduksi hiperkolesterol
- 3) Jelaskan Mekanisme efek obat Hipokolesterol yang anda gunakan dalam percobaan

Petunjuk jawaban latihan

Dalam menyelesaikan soal-soal diatas anda dapat membuka buku-buku fisiologi kedokteran dan buku farmakologi dan farmakologi dan terapi.

Ringkasan

- 1) Hiperlipidemia/hiperkolesterolemia adalah penyakit kelainan metabolik yang ditandai dengan peningkatan kadar kolesterol/lipid dalam darah
- 2) Untuk mendapatkan hewan coba yang mengalami hiperlipidemia dapat dilakukan dengan menggunakan hewan coba hiperkolesterol secara genetik, dengan diet tinggi kolesterol, induksi dengan bahan kimia dan kombinasi pakan tinggi kolesterol dan bahan kimia
- 3) Bahan kimia yang sering digunakan untuk menginduksi hiperkolesterol adalah, triton WR 1339, poloxamer 407 (P-407), Propiltiourasil (PTU).

Tes 2

- 1) Bahan kimia yang dapat digunakan untuk menginduksi hiperkolesterol pada hewan coba adalah
 - A. Triton WR 1339
 - B. Na.CMC
 - C. Fenofibrate
 - D. Simvastatin
- 2) Bahan kimia yang sering digunakan untuk menginduksi hiperkolesterol dengan cara dicampur pada minuman hewan uji adalah
 - A. PTU
 - B. Triton WR 1339
 - C. poloxamer 407 (P-407)
 - D. Simvastatin
- 3) Jika Triton digunakan dalam waktu yang hampir bersamaan dengan pemberian obat yang akan diuji efek hipokolesterolemia-nya, maka tujuan percobaan ini adalah
 - A. Menguji kemampuan obat untuk mencegah sistesis lemak dalam tubuh
 - B. Menguji kemampuan obat untuk mempercepat penghilangan lemak dari dalam tubuh
 - B. Menguji kemampuan triton untuk menaikkan kadar kolesterol dalam tubuh
 - C. Menguji kemampuan triton dalam menurunkan kadar kolesterol dari dalam tubuh
- 4) Jika ingin menguji kemampuan obat untuk mempercepat penghilangan lemak dari dalam tubuh, maka triton diberikan pada saat
 - A. Hampir bersamaan dengan obat
 - B. 10 jam setelah pemberian obat

- C. 22 jam setelah pemberian obat
 - D. 24 jam sebelum pemberian obat
- 5) Kadar PTU yang dicampurkan dalam air minum hewan uji untuk menginduksi hiperkolesterol adalah
- A. 1 %
 - B. 0,1 %
 - C. 0,01 %
 - D. 0,001%

LAPORAN PRAKTIUM

Laporan praktikum disusun dengan format sebagai berikut :

1. Bab I : Pendahuluan

Dalam bab ini terdiri dari 3 unsur yaitu :

I.1. Latar Belakang Praktikum

Memuat hal-hal yang mendasari pentingnya malakukan praktikum ini baik secara umum sebagai ilmu dalam kefarmasian, maupun secara khusus untuk memahami matakuliah farmakologi

I.2. Maksud dan Tujuan Praktikum

Memuat maksud dan tujuan praktikum yang dapat terdiri dari tujuan umum dan khusus

I.3. Prinsip Praktikum

Memuat prinsip dasar dalam melakukan praktikum ini

2. Bab II : Tinjauan Pustaka

Memuat dasar-dasar teori yang penting diketahui dalam melaksanakan praktikum ini, serta teori-teori yang diperlukan dalam membuat pembahasan hasil praktikum

3. Bab III : Metode Kerja

4. Bab IV : Hasil Percobaan dan Pembahasan

a. Memuat data-data yang didapat dari hasil percobaan, dibuat sesuai dengan format lembar praktikum yang terdapat pada akhir modul praktikum

b. Memuat gambar-gambar/tabel/grafik

c. Untuk grafik dibuat dalam milimeter blok

d. Perhitungan

e. Pembahasan

f. Memuat pembahasan hasil praktikum yang meliputi pembahasan data, analisis hasil perhitungan, menghubungkan dengan teori dan memperkirakan penyebab terjadinya perbedaan hasil percobaan dan praktikum

5. Bab V : Kesimpulan

Berisi hal-hal yang disimpulkan dari hasil analisis percobaan dan pembahasan yang merupakan jawaban dari tujuan praktikum.

6. Daftar pustaka

Diharapkan daftar pustakan berasal dari sekurang-kurangnya 5 sumber selain modul Selain format laporan yang diatas anda juga harus menjawab setiap pertanyaan yang ada di modul praktikum untuk masing-masing judul kegiatan praktikum.

Agar laporan anda tidak tercecer maka, disarankan anda menjilid rapi laporan praktikum yang telah anda buat dan membuat kopi laporan yang telah selesai

Mudah-mudahan anda dapat melaksanakan kegiatan praktikum dengan baik dan benar serta menyelesaikan laporan dan tugas yang terdapat dalam modul ini tepat waktu

Kunci Jawaban Tes

Tes 1

1. A
2. C
3. C
4. B
5. B

Tes 2

1. A
2. A
3. A
4. C
5. C

Daftar Pustaka

- Sedigheh Asgary,dkk.2012. Antidiabetic effect of hydroalcoholic extract of *Carthamus tinctorius* L. in alloxan-induced diabetic rats. *J Res Med Sci.* 2012 Apr; 17(4): 386–392.
- Cherng Jong-Yuh; Shih Mei-Fen. Potential hypoglycemic effects of *Chlorella* in streptozotocin-induced diabetic mice. *J.Life Sciences.*2005 Volume:77,Issue:9 First page:0 Last page:990
- Palaniselvam Kuppusamy,dkk.2015. Evaluation of antihypercholesterolemic effect using *Memecylon edule* Roxb. ethanolic extract in cholesterol-induced Swiss albino mice, *Journal of Acut medicine*; doi:10.1016/j.jacme.2015.09.001.
- P. Hasimun, E.Y. Sukandar, I.K. Adnyana and D.H. Tjahjono, 2011. A Simple Method for Screening Antihyperlipidemic Agents. *International Journal of Pharmacology*, 7: 74-78.
- Micheli Stéfani, dkk,2014, Hypolipidemic action of chrysin on Triton WR-1339-induced hyperlipidemia in female C57BL/6 mice, *Toxicology Reports* 1 (2014) 200–208
- Bidkar, dkk.(2012) Anti-hyperlipidemic Activity of *Cucumis Melo* Fruit Peel Extracts in High Cholesterol Diet Induced Hyperlipidemia in Rats,*Journal of Complementary and Integrative Medicine* :Vol. 9: Iss. 1, Article 22.DOI: 10.1515/1553-3840.1580

BAB VI

ANALISIS EFEK TOKSIK OBAT

PENDAHULUAN

Obat adalah bahan atau campuran bahan-bahan yang pada dosis terapi memiliki efek yang diinginkan dalam pengobatan. Selain memiliki efek yang diinginkan obat juga memiliki efek yang tidak diinginkan, efek yang tidak diinginkan biasa dikenal sebagai efek samping yang sering kali tidak dapat dihindari. Namun selain efek samping, obat juga memiliki efek toksik, dimana efek ini harus dihindari dalam penggunaan obat.

Modul ini akan membantu anda untuk dapat mengenali tanda-tanda terjadinya toksisitas dan membantu anda dalam menghitung LD50 serta menentukan tingkat dosis toksisitas suatu obat.

Apabila Anda telah selesai mempelajari materi dalam modul ini maka diharapkan anda dapat :

1. Menentukan dosis awal suatu obat yang diuji toksisitasnya
2. Membuat suspensi luminal yang sesuai dengan hewan coba mencit yang digunakan
3. Melakukan pengujian toksisitas pada hewan uji
4. Menentukan gejala-gejala toksisitas pada mencit
5. Menentukan LD 50 dari Luminal
6. Menentukan tingkat dosis dari luminal

Modul ini hanya terdiri dari satu Kegiatan Praktikum yaitu
Kegiatan Praktikum 1 : Analisis Efek Toksik akut Obat pada Hewan uji

Didalam kegiatan praktikum tersebut terdiri dari uraian singkat tentang materi praktikum, kemudian anda akan mendapatkan tahapan-tahapan dalam melakukan praktikum ini. Tahapan ini akan dibagi menjadi 3 bagian yaitu (1) persiapan yang memuat alat, bahan dan hewan yang perlu anda persiapkan dalam melakukan praktikum, (2) pelaksanaan yang memuat prosedur perlakuan pada hewan coba dan (3) pelaporan yang memuat tabel yang anda harus sesuai dengan pengamatan yang anda telah lakukan pada percobaan tersebut.

Selanjutnya anda diharapkan untuk menyelesaikan soal-soal latihan yang ada dalam tiap kegiatan praktikum tersebut. Jawaban dari soal-soal tersebut anda akan sangat membantu dalam menyusun laporan untuk menganalisis efek obat yang digunakan dalam percobaan tersebut. Pada akhir setiap kegiatan praktikum akan terdapat Tes, anda diminta untuk menyelesaikan Tes tersebut sebagai bahan penilaian terhadap pemahaman anda atas isi dari praktikum tersebut

Kegiatan Praktikum 1

Analisis Efek Toksisitas akut Obat pada Hewan uji

Toksisitas adalah kemampuan suatu bahan atau senyawa kimia untuk menimbulkan kerusakan pada saat mengenai bagian dalam atau permukaan tubuh yang peka. Untuk dapat mengetahui informasi efek toksik dari suatu obat atau bahan tertentu, maka dapat diperoleh dari percobaan menggunakan hewan uji sebagai model yang dirancang pada serangkaian uji toksisitas yang meliputi uji toksisitas akut oral, toksisitas subkronis oral, toksisitas kronis oral, teratogenesis, sensitisasi kulit, iritasi mata, iritasi akut dermal, iritasi mukosa vagina, toksisitas akut dermal, dan toksisitas subkronis dermal. Pemilihan uji tersebut, tergantung dari tujuan penggunaan suatu zat dan kemungkinan terjadinya risiko akibat pemaparan pada manusia.

Banyak faktor dapat mempengaruhi validitas hasil uji toksisitas diantaranya faktor dari sediaan uji, penyiapan sediaan uji, hewan uji, dosis, teknik dan prosedur pengujian, serta kemampuan SDM sehingga sangat diperlukan pemahaman terhadap bermacam-macam faktor tersebut.

Macam-macam Uji toksisitas

KETENTUAN-KETENTUAN UMUM PADA UJI TOKSISITAS

Informasi awal terhadap bahan yang akan diuji toksisitasnya akan sangat mempengaruhi hasil uji toksisitas, oleh karena ini penting untuk menyediakan informasi yang akurat terhadap sampel uji toksisitas. Informasi itu dapat berupa :

1. Sediaan uji yang berupa zat kimia memerlukan informasi berikut:
 - a. Identitas bahan
 - b. Sifat fisiko- kimia
 - c. Kemurnian
 - d. Kadar cemaran
2. Sediaan uji yang berupa simplisia tanaman obat memerlukan informasi berikut:
 - a. Nama latin dan nama daerah tanaman
 - b. Deskripsi daerah penanaman
 - c. Bagian tanaman yang digunakan
 - d. Pemerian simplisia
 - e. Cara pembuatan dan penanganan simplisia
 - f. Kandungan kimia simplisia

Beberapa Faktor yang perlu diperhatikan dalam melakukan Uji Toksisitas

1. Dosis Uji

Dosis uji harus disesuaikan dengan dosis penggunaan yang lazim pada manusia. Dosis lain meliputi dosis dengan faktor perkalian tetap yang mencakup dosis yang setara dengan dosis penggunaan lazim pada manusia sampai mencapai dosis yang dipersyaratkan untuk tujuan pengujian atau sampai batas dosis tertinggi yang masih dapat diberikan pada hewan uji.

2. Kelompok Kontrol

Pada setiap percobaan digunakan kelompok kontrol yang diberi pelarut/pembawa sediaan uji tanpa sampel uji dan dapat juga digunakan kelompok kontrol tanpa perlakuan tergantung dari jenis uji toksisitas.

3. Cara Pemberian Sediaan Uji

Pada dasarnya pemberian sediaan uji harus sesuai dengan cara pemberian atau pemaparan yang diterapkan pada manusia misalnya peroral (PO), topikal, injeksi intravena (IV), injeksi intraperitoneal (IP), injeksi subkutan (SK), injeksi intrakutan (IK), inhalasi, melalui rektal dll.

4. Hewan Uji

Pada dasarnya pemilihan jenis hewan yang digunakan untuk uji toksisitas harus dipertimbangkan beberapa faktor seperti sensitivitas, cara metabolisme sediaan uji yang serupa dengan manusia, kecepatan tumbuh serta mudah tidaknya cara penanganan sewaktu dilakukan percobaan.

Hewan pengerat seperti tikus dan mencit merupakan jenis hewan yang memenuhi persyaratan tersebut diatas, sehingga paling banyak digunakan pada uji toksisitas. Hewan yang digunakan harus sehat; asal, jenis dan galur, jenis kelamin, usia serta berat badan harus jelas. Biasanya digunakan hewan muda dewasa, dengan variasi bobot tidak lebih dari 20%. Adapun kriteria hewan yang digunakan dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Kriteria hewan uji yang digunakan dalam uji toksisitas

<i>No</i>	<i>Jenis hewan</i>	<i>Bobot Minimal</i>	<i>Rentang umur</i>
1	<i>Mencit</i>	<i>20 g</i>	<i>6 – 8 minggu</i>
2	<i>Tikus</i>	<i>120 g</i>	<i>6 – 8 minggu</i>
3	<i>Marmut</i>	<i>250 g</i>	<i>4 – 5 minggu</i>
4	<i>Kelinci</i>	<i>1800 g</i>	<i>8 – 9 bulan</i>

TOKSISITAS AKUT

Pengujian toksisitas akut dengan menggunakan hewan percobaan diperlukan untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian suatu zat dalam dosis tunggal atau dosis berulang yang diberikan secara dalam waktu tidak lebih dari

24 jam; apabila pemberian dilakukan secara berulang, maka interval waktu tidak kurang dari 3 jam. Hasil toksisitas akut dievaluasi berdasarkan kriteria bahaya dari GHS (Globally Harmonised Classification System for Chemical Substances and Mixtures) yang tercantum dalam Thirteenth Addendum to The OECD Guidelines for The Testing of Chemicals (2001), Kriteria penggolongan menurut OECD (2001) digunakan untuk penentuan kategori toksisitas akut bahan kimia seperti pestisida serta untuk pelabelannya.

Tabel 2. Kriteria penggolongan sediaan uji menurut OECD (pada tikus)

Dosis (mg/kg BB)	Kematian	Kategori
5	≥ 2 dari 5 ekor mati	1
5	≥1 ekor menunjukkan gejala toksisitas dan tidak ada kematian	2
50	≥ 2 dari 5 ekor mati	2
50	≥1 ekor dengan gejala toksisitas dan tidak ada kematian	3
300	≥ 2 dari 5 ekor mati	3
300	≥1 ekor dengan gejala toksisitas dan atau <1 mati	4
2000	≥ 2 dari 5 ekor mati	4
2000	≥1 ekor dengan gejala toksisitas dan atau tidak ada kematian	5
	Tidak ada gejala toksisitas	5
		/unclassified

Sedangkan untuk obat, obat tradisional dan bahan lainnya (Generally Recognized As Safe/GRAS) seperti bahan pangan, penentuan kategori toksisitas akut digunakan penggolongan klasifikasi seperti pada tabel berikut

Tabel 3. Kriteria penggolongan sediaan uji

Tingkat Toksisitas	LD50 oral (pada tikus)	Klasifikasi
1	≤ 1 mg/kg	Sangat toksik
2	1-50 mg	Toksik
3	50-500 mg	Toksik sedang
4	500-5000 mg	Toksik ringan
5	5-15 g	Praktis tidak toksik
6	≥ 15 g	Relatif tidak membahayakan

Sumber (Hodge dan Sterner, 1995)

METODE UJI TOKSISITAS AKUT

Pada awalnya toksistas akut diuji menggunakan metode konvensional, namun metode ini mempunyai kelemahan yaitu hewan uji yang dibutuhkan dalam menentukan parameter akhir cukup banyak, dimana bertentangan dengan animal welfare. Oleh karena itu pada tahun 1984 telah dibuat metode alternatif dimana hewan yang digunakan jumlahnya lebih sedikit yaitu metode Up and Down Procedure, Fixed Dose Method dan Toxic Class Method.

Metode Alternatif ini merupakan revisi metode OECD tahun 1984 untuk mendapatkan jalan pintas dalam mengklasifikasikan senyawa kimia. Pada metode alternatif, hanya menggunakan satu jenis kelamin hewan uji. Hal ini disebabkan karena dari literatur tidak ada perbedaan nilai LD50 yang signifikan akibat perbedaan jenis kelamin, tetapi pada keadaan yang berbeda nilai LD50 umumnya jenis kelamin betina lebih sensitif, maka pada uji alternatif hanya menggunakan hewan betina. Jumlah hewan yang digunakan pada uji alternatif lebih sedikit dibandingkan dengan metode konvensional. Dalam pedoman ini hanya dibahas uji toksisitas akut metode konvensional dan Fixed Dose Method

METODE KONVENSIONAL

PROSEDUR

Hewan Uji dan Jumlah

Hewan yang digunakan adalah rodensia tikus putih (strain Sprague Dawley atau Wistar) atau mencit (strain ddY atau BALB/c dan lain-lainnya). Syarat hewan uji adalah sehat, umur 5-6 minggu untuk mencit, 8-12 minggu untuk tikus. Sekurang-kurangnya 3 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri atas 5 ekor dengan jenis kelamin sama (jantan atau betina). Hewan dikelompokkan secara acak sedemikian rupa sehingga penyebaran berat badan merata untuk semua kelompok dengan variasi berat badan tidak melebihi 20% dari rata-rata berat badan. Jika digunakan hewan uji berkelamin betina, maka hewan uji tersebut harus nullipara dan tidak sedang bunting.

Dosis Uji

Sekurang-kurangnya digunakan 3 dosis berbeda. Dosis dapat diperoleh dari literatur resmi. Dosis terendah adalah dosis tertinggi yang sama sekali tidak menimbulkan kematian, sedangkan dosis tertinggi adalah dosis terendah yang menimbulkan kematian 100 %. Dengan

interval dosis yang mampu menghasilkan rentang toksisitas dan angka kematian. Dari data ini akan diperoleh suatu kurva dosis-respon yang dapat digunakan untuk menghitung nilai LD50.

Batas Uji

Bila hingga dosis 5000 mg/kg BB (pada tikus) tidak menimbulkan kematian, maka uji tidak perlu dilanjutkan dengan menggunakan dosis bahan uji yang lebih tinggi

Pengumpulan dan Analisis Data

Pengumpulan Data

Data masing-masing hewan harus tersedia dan semua data harus diringkas dalam bentuk tabel yang menunjukkan dosis uji yang digunakan; jumlah hewan yang menunjukkan gejala toksisitas; jumlah hewan yang ditemukan mati selama uji dan yang mati karena sekarat (keadaan moribound)

Analisis Data

Nilai LD50 dihitung dengan metode Thompson & Weil, Litchfield & Wilcoxon, Miller & Tainter, regresi linear/probit atau metode statistik lainnya. Semua hewan yang mati, baik yang mati dengan sendirinya atau yang mati dalam keadaan moribound digabungkan jumlahnya untuk penghitungan nilai LD50

FIXED DOSE METHOD

Metode ini digunakan untuk bahan uji dengan derajat toksisitas sedang dan dosis yang dipilih adalah yang tidak menimbulkan kematian, nyeri hebat atau iritatif/ korosif

PRINSIP

Sekelompok hewan uji dengan jenis kelamin yang sama diberikan dosis bertingkat menggunakan metode fixed doses antara lain: 5, 50, 300 dan 2000 mg/kg (dosis dapat ditambah hingga 5000 mg/kg). Dosis awal dipilih berdasarkan uji pendahuluan sebagai dosis yang dapat menimbulkan gejala toksisitas ringan tetapi tidak menimbulkan efek toksik yang berat atau kematian. Prosedur ini dilanjutkan hingga mencapai dosis yang menimbulkan efek toksik atau ditemukan tidak lebih dari 1 kematian, atau tidak tampak efek toksik hingga dosis yang tertinggi atau adanya kematian pada dosis yang lebih rendah.

PROSEDUR

Penyiapan Hewan Uji

Hewan yang digunakan adalah rodensia tikus putih (strain Sprague Dawley atau Wistar) atau mencit (strain ddY atau BALB/c dan lain-lainnya). Umumnya digunakan tikus betina karena sedikit lebih sensitif dibandingkan tikus jantan. Namun bila bahan uji (menurut literatur) secara toksikologi atau toksikokinetik menunjukkan bahwa tikus jantan lebih sensitif, maka jenis kelamin jantan harus digunakan untuk uji. Secara prinsip jika hewan jantan digunakan maka diperlukan alasan yang kuat.

Kriteria hewan uji meliputi:

- a. Hewan sehat dan dewasa
- b. Hewan betina harus yang belum pernah beranak dan tidak sedang bunting.
- c. Pada permulaan uji, setiap hewan harus berumur 8-12 minggu dengan variasi berat badan tidak boleh melebihi 20% dari rata-rata berat badan.

Hewan diseleksi secara acak, diberi tanda untuk identifikasi tiap-tiap hewan, dan dilakukan aklimatisasi sekurang-kurangnya 5 hari sebelum diberi perlakuan.

Penyiapan Sediaan Uji

Sediaan uji dilarutkan dengan bahan pembawa yang sesuai (misalnya aquadestilata, minyak nabati). Tergantung dari formulasi bahan uji, pemilihan cairan untuk suspensi/emulsi yang aqueous lebih dianjurkan dari pada larutan suspensi/emulsi yang larut dalam minyak (minyak jagung) dan apabila menggunakan pelarut non aqueous maka karakteristik toksisitas cairan pembawa sudah harus diketahui

Pemberian Sediaan uji dan Volume Pemberian

Hewan uji harus dipuasakan sebelum diberikan perlakuan (tikus dipuasakan selama 14-18 jam, namun air minum boleh diberikan; mencit dipuasakan selama 3-4 jam, air minum boleh diberikan). Setelah dipuasakan, hewan ditimbang dan diberikan sediaan uji. Sediaan uji diberikan dalam dosis tunggal dengan menggunakan sonde. Pada keadaan yang tidak memungkinkan untuk diberikan dosis dengan satu kali pemberian, sediaan uji dapat diberikan beberapa kali dalam jangka waktu pemberian zat tidak boleh melampaui 24 jam. Setelah diberikan perlakuan, pakan boleh diberikan kembali setelah 3-4 jam untuk tikus dan 1-2 jam untuk mencit. Bila sediaan uji diberikan beberapa kali, maka pakan boleh diberikan setelah perlakuan tergantung pada lama periode pemberian sediaan uji tersebut. Volume cairan maksimal yang dapat diberikan tergantung pada ukuran hewan uji. Pada rodensia, jumlah normalnya tidak melampaui 1 mL/100 g. berat badan, namun bila pelarutnya air (aqueous) dapat diberikan hingga 2 mL/100 g berat badan. Umumnya sediaan uji diberikan dalam volume yang tetap selama pengujian (konsentrasi berbeda), akan tetapi jika bahan uji berupa cairan atau campuran cairan, sebaiknya digunakan dalam bentuk tidak diencerkan (konsentrasi tetap).

Uji Pendahuluan

Tujuan dari uji pendahuluan adalah mencari dosis awal yang sesuai untuk uji utama. Dosis awal pada uji pendahuluan dapat dipilih dari tingkatan fixed dose: 5, 50, 200 dan 2000 mg/kg BB sebagai dosis yang diharapkan dapat menimbulkan efek toksik (Lampiran 1, 2). Pemeriksaan menggunakan dosis 5000 mg/kg hanya dilakukan bila benar-benar diperlukan. Diperlukan informasi tambahan yaitu data-data toksisitas in vivo dan in vitro dari zat-zat yang mempunyai kesamaan secara kimiawi dan struktur. Jika informasi tersebut tidak ada,

maka dosis awalnya ditentukan sebesar 300 mg/kg BB. Interval waktu pengamatan sekurang-kurangnya

24 jam pada setiap dosis dan semua hewan harus diamati sekurangnya selama 14 hari. Bila kematian terjadi pada dosis 5 mg/kg BB, sehingga nilai cutt-off LD50 adalah 5 mg/kg BB (masuk kategori 1 GHS) maka penelitian sudah harus dihentikan tanpa perlu melakukan uji utama. Namun, jika diperlukan penegasan nilai LD50 maka prosedur tambahan dapat dilakukan sbb: Pada hewan uji kedua diberikan dosis 5 mg/kg. Jika hewan kedua ini mati, maka kategori 1 GHS terkonfirmasi dan percobaan dihentikan. Jika hewan ini hidup, maka pemberian bahan uji dosis 5 mg/kg BB secara berurutan dilanjutkan kepada 3 hewan uji lainnya. Interval waktu pemberian antara satu hewan dengan hewan berikutnya harus cukup agar dapat dilakukan penilaian apakah hewan tersebut akan tetap hidup atau tidak. Jika hewan ke-3 mati (jika dihitung dari awal merupakan kematian kedua hewan uji), maka pemberian bahan uji dihentikan dan tidak diteruskan kepada hewan ke-4 dan ke-5. Berdasarkan Lampiran 2, maka bahan uji masuk kelompok A (kematian 2 atau lebih), dan berlaku klasifikasi pada dosis 5 mg/kgBB (Kategori 1 jika ada 2 atau lebih kematian atau Kategori 2 jika hanya ada 1 kematian).

Uji Utama

Uji utama dilakukan dengan memperhatikan tingkat dosis dimana terjadi kematian pada uji pendahuluan. Penentuan dosis antara setiap tingkatan didasarkan pada waktu terjadinya gejala toksik. Pengujian tidak diteruskan pada dosis selanjutnya sampai diketahui apakah hewan masih bertahan hidup atau mati (Lampiran 3, 4). Secara umum terdapat 3 pilihan yang akan diambil: menghentikan uji, melanjutkan uji dengan dosis yang lebih tinggi atau melanjutkan uji dengan dosis yang lebih rendah. Pada umumnya, klasifikasi bahan uji sudah dapat ditentukan pada dosis awal dan uji selanjutnya tidak diperlukan. Pada uji ini diperlukan sejumlah 5 ekor hewan uji untuk tiap tahapan dosis uji. Kelima ekor hewan tersebut terdiri atas 1 ekor hewan dari uji pendahuluan dan 4 ekor hewan tambahan. Interval waktu antara dosis uji ditentukan oleh onset, lama dan beratnya toksisitas. Peralihan pemberian bahan uji pada tahap dosis berikutnya harus ditunda sampai diperoleh petunjuk bahwa hewan uji tersebut bertahan hidup. Umumnya diperlukan interval waktu peralihan selama 3-4 hari, namun dapat diperpanjang bila hasilnya tampak meragukan. Sehubungan dengan animal welfare, bila akan menggunakan dosis diatas 5000 mg/kg, dipertimbangkan bahwa dosis tersebut sangat relevan dengan kepentingan untuk melindungi manusia, hewan atau lingkungan.

Uji Batas

Jika pada uji pendahuluan tidak ada kematian pada tingkat dosis 2000 mg/kg dan pada uji utama hanya 1 ekor atau tidak ada hewan yang mati pada tingkat dosis 2000 mg/kg, maka tidak perlu diberikan dosis melampaui 2000 mg/kg.

Pengamatan

Hewan uji diobservasi secara individual sekurang-kurangnya pada 30 menit pertama setelah pemberian sediaan uji, dan secara periodik setiap 4 jam selama 24 jam pertama dan sehari sekali setelah itu selama 14 hari. Namun durasi pengamatan dapat bervariasi dan diperpanjang tergantung dari reaksi toksik dan waktu onset serta lama waktu kesembuhan. Waktu timbul dan hilangnya gejala toksisitas (khususnya jika ada kecenderungan tanda-tanda toksik yang tertunda) harus dicatat secara sistematis dalam catatan individual yang dilakukan untuk setiap hewan. Pengamatan tambahan perlu dilakukan jika hewan menunjukkan gejala toksisitas secara terus-menerus. Pengamatan yang dilakukan termasuk pada: kulit, bulu, mata, membran mukosa dan juga sistem pernafasan, sistem syaraf otonom, sistem syaraf pusat, aktivitas somatomotor serta tingkah laku. Selain itu, perlu juga pengamatan pada kondisi: gemetar, kejang, salivasi, diare, lemas, tidur dan koma. Hewan dalam kondisi sekarat dan hewan yang menunjukkan gejala nyeri yang berat atau tampak menderita harus dikorbankan. Hewan uji yang dikorbankan atau ditemukan mati, waktu kematiannya harus dicatat. Hal-hal yang harus diamati dalam periode observasi adalah:

- a. Tingkah laku hewan seperti jalan mundur, jalan menggunakan perut
- b. Berat Badan
Berat badan masing-masing hewan harus dimonitor pada saat sebelum diberikan sediaan uji dan sekurang-kurangnya seminggu setelahnya. Perubahan berat badan harus dianalisis. Pada akhir penelitian, hewan yang masih bertahan hidup ditimbang dan kemudian dikorbankan.
- c. Pemeriksaan Patologi
Seluruh hewan (termasuk yang mati selama penelitian maupun yang dimatikan) harus dinekropsi. Semua perubahan gross patologi dicatat untuk setiap hewan uji. Pemeriksaan mikroskopik dari organ yang menunjukkan adanya perubahan secara gross patologi pada hewan yang bertahan hidup selama 24 jam atau lebih setelah pemberian dosis awal dapat dilakukan untuk mendapatkan informasi yang berguna.

Pengumpulan dan Analisis Data

Data masing-masing hewan harus tersedia dan semua data harus diringkas dalam bentuk tabel yang menunjukkan dosis uji yang digunakan; jumlah hewan yang menunjukkan gejala toksisitas; jumlah hewan yang ditemukan mati selama uji dan yang mati karena dikorbankan; waktu kematian masing-masing hewan; gambaran dampak toksik dan waktu dampak toksik; waktu terjadinya reaksi kesembuhan; dan penemuan nekropsi.

Luminal

Luminal

- Nama resmi : PHENOBARBITALUM
Nama lain : Luminal
Pemerian : Hablur atau serbuk hablur, putih tidak berbau, rasa agak pahit.
Kelarutan : Sangat sukar larut dalam air; agak sukar larut dalam kloroform; larut dalam etanol.
Kegunaan : Sebagai sampel.
Farmakologi : Efek utama barbiturate ialah depresi SSP. Semua tingkat depresi dapat dicapai, mulai dari sedasi, hipnosik, koma sampai dengan kematian. Efek antisietas barbiturate berhubungan dengan tingkat sedasi yang dihasilkan. Efek hipnotik barbiturate dapat dicapai dalam waktu 20-60 menit dengan dosis hipnotik. Tidurnya menyerupai tidur fisiologis, tidak disertai mimpi yang mengganggu. Untuk efek antikonvulsi umumnya diberikan oleh barbiturate yang mengandung substitusi 5- fenil misalnya fenobarbital.
Farmakokinetik : Barbiturat secara oral diabsorpsi cepat dan sempurna dari lambung dan usus halus ke dalam darah. Secara IV barbiturate digunakan untuk mengatasi status epilepsy dan menginduksi serta mempertahankan anestesi umum. Barbiturate didistribusi secara luas dan dapat melewati plasenta, ikatan dengan protein plasma sesuai dengan kelarutan dalam lemak.
Dosis : 30 mg sebagai hipnotik
Gejala toksisitas : Keracunan akibat overdosis fenobarbital ditandai dengan sedasi sistem saraf pusat dan penurunan fungsi pernapasan. Gejala ringan ditandai dengan *ataksia* (pudarnya kemampuan koordinasi atas gerakan otot), *nistagmus* (gerakan ritmik tanpa kontrol pada mata yang terdiri dari tremor kecil yang cepat ke satu arah dan yang lebih besar, lebih lambat, berulang-ulang ke arah yang berlawanan), kelelahan, atau kehilangan perhatian, Kematian biasanya terjadi karena serangan pernapasan ketika dukungan paru tidak diberikan secara manual

Persiapan Praktikum

A. Tujuan Percobaan

Untuk menganalisis efek toksisitas akut luminal yang diberikan secara oral kepada mencit jantan (*mus musculus*)

B. Prinsip Percobaan

Efek toksik suatu obat ditentukan dengan mengamati gejala-gejala toksisitas yang muncul dan dengan menentukan LD 50 dari luminal

C. Alat dan Bahan yang digunakan

Alat yang digunakan

1. Batang pengaduk
2. Beaker
3. Gelas ukur
4. Hot plate
5. Mixer
6. Spoit 1 ml
7. Spoit oral
8. Stop watch
9. Timbangan berat badan

Bahan yang digunakan

1. Alkohol 70%
2. Aqua destilat,
3. Natrium CMC
4. Luminal

D. Hewan yang digunakan

Hewan yang digunakan adalah mencit jantan, galur lokal dengan berat badan 20 g- 30 g berumur antara 6 – 8 minggu

E. Pembuatan Bahan Penelitian

1. Pembuatan Natrium CMC 1%
 - a. Panaskan kurang lebih 200 ml air hingga mendidih
 - b. Timbang Na.CMC sebanyak 1 g
 - c. Masukkan Na.CMC kedalam beaker gelas 300 ml lalu tambahkan 50 ml air panas
 - d. Aduk campuran tersebut dengan mixer hingga homogen, ditandai dengan tidak nampaknya lagi serbuk berwarna putih dan campuran berupa seperti gel.
 - e. Tambahkan air panas sedikit demi sedikit sambil diaduk hingga volume larutan tersebut menjadi 100 ml, dinginkan

2. Pembuatan suspensi Luminal

Perhitungan Dosis oral Luminal untuk mencit

Dosis Maksimal Luminal untuk manusia = 200 mg sekali pakai dan seharusnya 600 mg

Akan dibuat seri dosis luminal dengan kelipatan 2 dimulai dengan dosis maksimalnya yaitu 200 mg kemudian 400 mg (2 x 200 mg), 800 mg (2 x 400 mg) dan 1600 mg (2 x 800 mg)

Dosis yang dipilih untuk membuat sediaan yaitu suspensi luminal dengan dosis 400 mg/ 0,2 ml

Konversi dosis untuk mencit BB 20 g	= Dosis Lazim x Faktor Konversi = 400 mg x 0,0026 = 1,04 mg
Untuk mencit dengan berat 30 g	= (30 g/ 20 g) x 1,04 mg = 1,56 mg
Dosis ini diberikan dalam volume	= 0,2 ml
Dibuat larutan persediaan sebanyak	= 100 ml
Jumlah Luminal yang digunakan	= (100 ml / 0,2 ml) x 1,56 mg = 780 mg = 780 mg = 0,78 g
% kadar Luminal	= (0,78 g / 100ml) x 100% = 0,78 %

Jika akan digunakan tablet Luminal

Tablet Luminal tersedia dalam kadar 30 mg per-tabletnya, dikarenakan saudara akan membuat suspensi tablet Loperamid dengan kadar 0,78 % b/v atau 780 mg per 100 ml suspensi, maka untuk mendapatkan 780 mg Luminal anda membutuhkan Tablet Luminal sebanyak 780 mg / 30 mg = 26 tablet.

Cara pembuatan suspensi Luminal 1,56 % b/v

1. Ambil 26 tablet luminal lalu gerus hingga halus,
2. Masukkan serbuk luminal yang sudah halus kedalam erlenmeyer 100 ml
3. Tambahkan sekitar 50 ml larutan Na.CMC, kocok hingga homogen
4. Lalu cukupkan volumenya hingga 100 ml dengan larutan Na.CMC 1%

Tabel Volume Pemberian Pada mencit

Kelompok	Dosis Luminal untuk manusia	Volume pemberian untuk mencit berat 30 g
1	200 mg	0,1 ml
2	400 mg	0,2 ml
3	800 mg	0,4 ml
4	1600 mg	0,8 ml
Kontrol	---	0,2 ml

PELAKSANAAN

Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit jantan sebanyak 20 ekor. Hewan percobaan dikelompokkan menjadi 5 kelompok dan masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor. Setiap kelompok dipisahkan dalam kandang yang berbeda. Sebelum penelitian dilakukan mencit diaklimatisasi selama 7 hari untuk membiasakan pada lingkungan percobaan, Mencit dipelihara dalam ruangan dengan suhu kamar, siklus cahaya terang : gelap (14:10) pemberian makan dengan pakan reguler dan air minum, sebelum perlakuan mencit dipuaskan selama 14 jam tetapi tetap diberikan air minum. Hewan dianggap sehat apabila perubahan berat badan tidak lebih dari 10% serta memperlihatkan perilaku normal

Metode Uji Toksisitas Konvensional

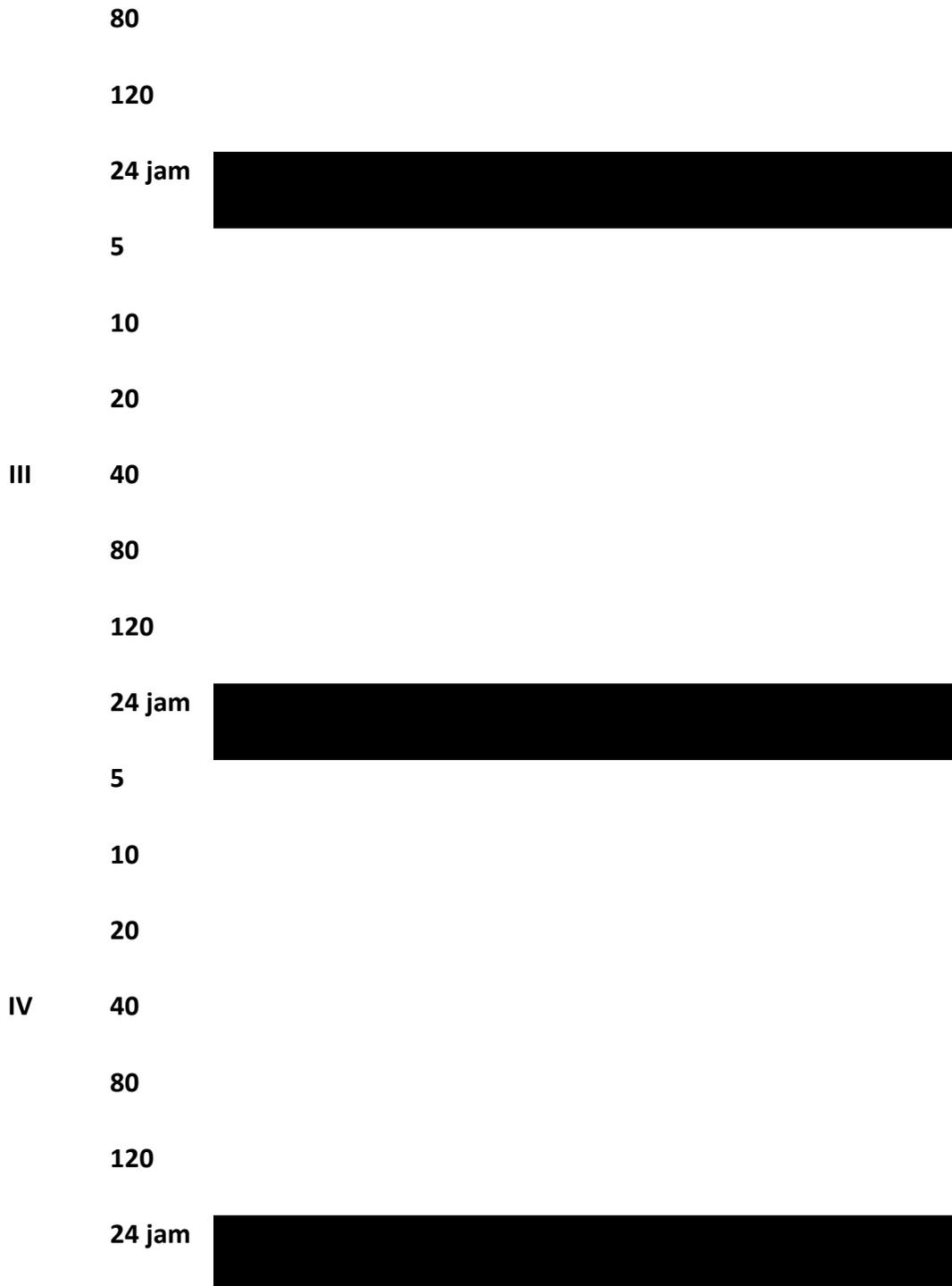
1. Mencit dikelompokkan secara acak kedalam 5 kelompok, masing-masing terdiri dari 4 ekor.
2. Kemudian tiap kelompok diberi perlakuan dimana
 - a. Kelompok I sebagai kelompok kontrol diberikan Suspensi Luminal sebanyak 0,1 ml/30 g BB Mencit,
 - b. Kelompok II diberi suspensi luminal sebanyak 0,2 ml/30 g BB Mencit,
 - c. Kelompok III diberi suspensi Luminal sebanyak 0,4 ml/30 g BB Mencit
 - d. Kelompok IV diberi suspensi Luminal sebanyak 0,8 ml/30 g BB Mencit.
 - e. Dan kelompok V yaitu kelompok kontrol yang hanya diberikan Na.CMC 1% sebanyak 0,2 ml / 30 g BB mencit
3. semua perlakuan secara oral
4. Mencit kemudian ditempatkan dan diamati efek toksisitas yang dapat terjadi pada kulit, bulu, mata, membran mukosa dan juga sistem pernafasan, sistem syaraf otonom, sistem syaraf pusat, aktivitas somatomotor serta tingkah laku. Selain itu, perlu juga pengamatan pada kondisi: gemetar, kejang, salivasi, diare, lemas, tidur dan koma
5. Pengamatan dilakukan selama 2 jam untuk tanda-tanda toksisitas dan diamati selama 24 untuk jumlah mencit yang mati
6. Hasil pengamatan kemudian dicatat dan di hitung LD 50 untuk luminal

PELAPORAN

Data yang dikumpulkan berupa gejala-gejala toksisitas pada mencit, dan jumlah mencit yang mati. Data tersebut kemudian digunakan untuk menentukan LD 50 untuk luminal. LD 50 dapat dihitung dengan cara sebagai berikut :

Data pengamatan gejala toksisitas Luminal

Kelompok	Waktu	Gejala Toksisitas Luminal					Jumlah Hewan Mati
		pernapasan	ataksia	nistagmus	Diare	urinasi saliva	
Kontrol	5						
	10						
	20						
	40						
	80						
	120						
I	24 jam	[Redacted]					
	5						
	10						
	20						
	40						
	80						
II	120						
	24 jam	[Redacted]					
	5						
	10						
	20						
	40						



Menghitung LD 50

1. Dengan Cara Weil, untuk menggunakan cara ini ada harus menggunakan tabel yang terdapat dalam lampiran

Rumus Cara Weil =

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

Dimana :

m = LD50

D = Dosis terkecil yang diberikan

d = log kelipatan dosis

f = Faktor dari tabel Weil yang nilainya disesuaikan dengan urutan kematian hewan coba

Contoh Soal

Klp	Jumlah hewan tiap kelompok	Dosis obat yang diberikan (mg/kg)	Log Dosis	Kematian	Persen kematian
1	4	10	1	0	0
2	4	20	1,30	1	33,3
3	4	40	1,60	2	66,67
4	4	80	1,90	3	100%

Penyelesaian

Diketahui

D (Dosis terkecil yang diberikan) = 10 mg/Kg

d (log kelipatan dosis) = dosis diberikan dengan kelipatan 2x, jadi log 2 = 0,301

r (urutan kematian per kelompok) = karena hewan yang mati, pada kelompok 1 = 0, kelompok 2 = 1, kelompok 3 = 2, kelompok 4=3, maka urutannya = 0,1,2,3

f (faktor kematian dari tabel weil) = menurut tabel Weil urutan 0,1,2,3 faktor f = 1

semua nilai tersebut kemudian dimasukkan dalam rumus menghasilkan :

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

$$\text{Log } m = \text{Log } 10 + 0,301 (1+1)$$

$$\text{Log } m = 1 + (0,301 \times 2)$$

$$\text{Log } m = 1 + 0,602$$

$$\text{Log } m = 1,602$$

$$m = \text{anti log } 1,602 = 39,994 \text{ mg/kg}$$

jadi LD 50 obat tersebut = 39,994 mg/Kg

Latihan

- 1) Jelaskan secara singkat macam-macam uji toksisitas
- 2) Jelaskan bagaimana proses terjadinya gejala toksisitas luminal
- 3) Hitunglah LD 50 dan derajat toksik obat dari data berikut :

Klp	Jumlah hewan tiap kelompok	Dosis obat yang diberikan (mg/kg)	Kematian
1	4	30	1
2	4	60	1
3	4	120	2
4	4	240	3

Petunjuk jawaban latihan

Dalam menyelesaikan soal-soal diatas anda dapat merujuk pada buku-buku farmakologi seperti buku farmakologi ulasan bergambar dan yang sejenisnya serta cara perhitungan yang ada dalam modul ini.

Ringkasan

1. Toksisitas adalah kemampuan suatu bahan atau senyawa kimia untuk menimbulkan kerusakan pada saat mengenai bagian dalam atau permukaan tubuh yang peka
2. Uji toksisitas yang meliputi uji toksisitas akut oral, toksisitas subkronis oral, toksisitas kronis oral, teratogenesis, sensitisasi kulit, iritasi mata, iritasi akut dermal, iritasi mukosa vagina, toksisitas akut dermal, dan toksisitas subkronis dermal
3. Pengujian toksisitas akut dengan menggunakan hewan percobaan diperlukan untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian suatu zat

dalam dosis tunggal atau dosis berulang yang diberikan dalam waktu tidak lebih dari 24 jam; apabila pemberian dilakukan secara berulang, maka interval waktu tidak kurang dari 3 jam

4. Hasil toksisitas akut dievaluasi berdasarkan kriteria bahaya dari GHS (*Globally Harmonised Classification System for Chemical Substances and Mixtures*) yang tercantum dalam *Thirteenth Addendum to The OECD Guidelines for The Testing of Chemicals (2001)*, Kriteria penggolongan menurut OECD (2001) digunakan untuk penentuan kategori toksisitas akut bahan kimia seperti pestisida serta untuk pelabelannya

Tes 1

- 1) Toksisitas akut adalah toksisitas yang terjadi dalam waktu...
 - A. 24 jam
 - B. 12 Jam
 - C. 6 jam
 - D. 1 jam

- 2) Dosis luminal yang diberikan pada percobaan di atas didasarkan pada dosis
 - A. Dosis Lazim
 - B. Dosis Maksimal
 - C. Dosis efektif
 - D. Dosis toksik

Berikut data kematian mencit setelah pemberian obat A

Klp	Jumlah hewan tiap kelompok	Dosis obat yang diberikan (mg/kg)	Log Dosis	Kematian	Persen kematian
1	4	10	1.00	0	0
2	4	30	1.48	2	50
3	4	90	1.95	3	75
4	4	270	2.43	4	100%

- 3) Dari data diatas nilai f berdasarkan tabel weil adalah
 - A. 0,625
 - B. 0,725

- C. 0,825
- D. 0,925

4) Dari data diatas LD 50 untuk obat A tersebut adalah

- A. 20
- B. 40
- C. 60
- D. 80

5. Dari data diatas Obat A memiliki tingkat toksik ...

- A. Sangat toksik
- B. Toksik
- C. Toksik sedang
- D. Toksik ringan

Kunci Jawaban Tes

Tes 1

1. A
2. B
3. A
4. C
5. C

LAPORAN PRAKTIUM

Laporan praktikum disusun dengan format sebagai berikut :

1. Bab I : Pendahuluan

Dalam bab ini terdiri dari 3 unsur yaitu :

I.1. Latar Belakang Praktikum

Memuat hal-hal yang mendasari pentingnya malakukan praktikum ini baik secara umum sebagai ilmu dalam kefarmasian, maupun secara khusus untuk memahami matakuliah farmakologi

I.2. Maksud dan Tujuan Praktikum

Memuat maksud dan tujuan praktikum yang dapat terdiri dari tujuan umum dan khusus

I.3. Prinsip Praktikum

Memuat prinsip dasar dalam melakukan praktikum ini

2. Bab II : Tinjauan Pustaka

Memuat dasar-dasar teori yang penting diketahui dalam melaksanakan praktikum ini, serta teori-teori yang diperlukan dalam membuat pembahasan hasil praktikum

3. Bab III : Metode Kerja

4. Bab IV : Hasil Percobaan dan Pembahasan

a. Memuat data-data yang didapat dari hasil percobaan, dibuat sesuai dengan format lembar praktikum yang terdapat pada akhir modul praktikum

b. Memuat gambar-gambar/tabel/grafik

c. Untuk grafik dibuat dalam milimeter blok

d. Perhitungan

e. Pembahasan

f. Memuat pembahasan hasil praktikum yang meliputi pembahasan data, analisis hasil perhitungan, menghubungkan dengan teori dan memperkirakan penyebab terjadinya perbedaan hasil percobaan dan praktikum

5. Bab V : Kesimpulan

Berisi hal-hal yang disimpulkan dari hasil analisis percobaan dan pembahasan yang merupakan jawaban dari tujuan praktikum.

6. Daftar pustaka

Diharapkan daftar pustakan berasal dari sekurang-kurangnya 5 sumber selain modul Selain format laporan yang diatas anda juga harus menjawab setiap pertanyaan yang ada di modul praktikum untuk masing-masing judul kegiatan praktikum.

Agar laporan anda tidak tercecer maka, disarankan anda menjilid rapi laporan praktikum yang telah anda buat dan membuat kopi laporan yang telah selesai

Mudah-mudahan anda dapat melaksanakan kegiatan praktikum dengan baik dan benar serta menyelesaikan laporan dan tugas yang terdapat dalam modul ini tepat waktu

Daftar Lampiran

Lampiran 1. Tabel perhitungan Toksisitas menurut Weil

Harga r	f	δf	Harga r	f	δf
0,0,3,5	0,90000	0,24493	0,3,4,5	0,10000	0,31623
0,0,4,5	0,70000	0,20000	1,0,3,5	0,87500	0,30778
0,0,5,5	0,50000	0,00000	0,3,4,4	0,12500	0,39652
0,1,2,5	0,90000	0,31623	1,0,4,4	0,83333	0,43744
0,1,3,5	0,70000	0,31623	1,0,5,4	0,50000	0,2370
0,1,4,5	0,50000	0,28284	1,1,3,4	0,83333	0,59835
1,0,5,5	0,30000	0,20000	1,1,4,4	0,50000	0,52705
1,0,4,5	0,62500	0,26700	1,1,5,4	0,16667	0,43744
1,0,5,5	0,37500	0,15625	1,2,2,1	0,83333	0,64310
1,1,2,5	0,87500	0,39652	1,2,3,4	0,50000	0,62361
1,1,3,5	0,62500	0,40625	1,2,4,4	0,16667	0,59834
1,1,4,5	0,37500	0,38654	1,3,3,4	0,16667	0,64310
1,1,5,5	0,12500	0,33219	2,0,4,4	0,75000	0,64348
1,2,2,5	0,62500	0,44304	2,0,5,4	0,25000	0,45798
1,2,3,5	0,37500	0,46034	2,1,3,4	0,75000	0,88829
1,2,4,5	0,12500	0,45178	2,1,4,4	0,25000	0,85239
1,3,3,5	0,12500	0,48513	2,2,2,4	0,75000	0,95607
2,0,3,5	0,83333	0,41388	2,2,3,4	0,25000	0,98821
2,0,4,5	0,50000	0,39087	0,0,5,3	0,83333	0,34021
2,0,5,5	0,16667	0,34021	0,1,4,3	0,83333	0,58134
2,1,2,5	0,83333	0,53142	0,1,5,3	0,50000	0,39087
2,1,3,5	0,50000	0,56519	0,2,3,3	0,83333	0,67013
2,1,4,5	0,16667	0,58134	0,2,4,3	0,50000	0,56519
2,2,2,5	0,50000	0,61237	0,2,5,3	0,16667	0,41388
2,2,3,5	0,16667	0,67013	0,3,3,3	0,50000	0,61237
0,0,4,4	0,87500	0,33219	0,3,4,3	0,16667	0,53142
0,0,5,4	0,62500	0,15625	1,0,5,3	0,75000	0,47593
0,1,3,4	0,87500	0,45178	1,1,4,3	0,75000	0,85239
0,1,4,4	0,62500	0,38654	1,1,5,3	0,25000	0,64348
0,1,5,4	0,37500	0,26700	1,2,3,3	0,75000	0,98821
0,2,2,4	0,87500	0,48513	1,3,3,3	0,25000	0,95607
0,2,3,4	0,62500	0,46034	2,0,5,3	0,50000	0,86602
0,2,4,4	0,37500	0,40625	0,1,5,2	0,75000	0,67892
0,2,5,4	0,12500	0,30778	0,2,4,2	0,25000	0,91430
0,3,3,4	0,37500	0,44304	0,2,5,2	0,75000	0,63122
1,2,4,5	0,25000	0,58829	0,3,3,2	0,25000	0,98028
0,2,2,5	0,70000	0,3461	0,3,4,2	0,50000	0,80526
0,2,3,5	0,50000	0,3461	1,1,5,2	0,50000	1,27475
0,2,4,5	0,30000	0,31623	1,2,4,2	0,50000	1,76777
0,2,5,5	0,10000	0,24495	1,3,3,2	0,50000	1,90394
0,3,3,5	0,30000	0,34641	0,2,5,1	0,50000	1,65831

Harga r	f	delta f	Harga r	f	df
0,024	1,00000	028868	0,133	0,66667	0,52116
0,034	0,75000	025000	0,143	0,33333	0,35136
0,044	0,50000	000000	0,223	0,66667	0,56794
0,114	1,00000	035225	0,233	0,33333	0,52116
0,124	0,75000	038180	0,243	0,00000	0,38490
0,134	0,50000	035000	0,333	0,00000	0,47140
0,144	0,25000	025000	1,033	1,00000	0,70711
0,224	0,50000	040825	1,043	0,50000	0,35355
0,234	0,25000	036180	1,123	1,00000	0,91287
0,244	0,00000	038863	1,133	0,50000	0,79057
0,334	0,00000	028868	1,142	0,00000	0,70711
1,024	0,00000	035355	1,223	0,50000	0,88976
1,034	1,00000	038490	1,233	0,00000	0,91287
1,044	0,66667	035136	2,033	1,00000	1,41421
1,114	0,33333	022222	2,043	0,00000	1,15470
1,124	1,00000	047140	2,132	1,00000	1,82574
1,144	0,66667	05116	3,223	0,00000	1,82574
1,224	0,33333	062116	0,132	0,00000	2,00000
1,234	0,00000	046140	0,142	1,00000	0,57735
2,024	0,33333	050731	0,222	1,00000	0,91267
2,034	0,00000	056734	0,232	0,50000	0,57786
2,044	1,00000	060558	0,242	1,00000	1,00000
2,114	0,50000	057735	1,032	0,50000	0,81650
2,124	0,00000	057735	1,042	0,00000	0,57735
2,134	1,00000	057735	1,132	0,00000	0,70711
3,024	0,50000	070711	1,142	1,00000	1,15470
3,034	0,00000	081650	1,222	1,00000	1,62574
3,114	1,00000	091267	1,232	0,00000	1,41421
3,124	0,00000	100000	0,231	1,00000	2,00000
0,033	1,00000	115470	0,241	0,00000	1,82574
0,043	0,66667	124421	0,331	0,00000	1,15470
0,123	1,00000	06853	0,141	1,00000	1,41421