

PETUNJUK PRAKTIKUM FARMAKOLOGI

Universitas
Esa Unggul

Universitas
Esa Unggul

Universitas
Esa Unggul

Universitas
Esa Unggul



Universitas
Esa Unggul

Universitas
Esa Unggul



Universitas
Esa Unggul

Universitas
Esa Unggul

**PROGRAM STUDI ILMU FARMASI
FAKULTAS ILMU-ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ESA UNGGUL
2015**



Universitas
Esa Unggul

Universitas
Esa Unggul

Universitas
Esa Unggul

Universitas
Esa Unggul

KATA PENGANTAR

Kegiatan di laboratorium merupakan komponen yang sangat penting dalam proses belajar di Fakultas Farmasi . Di samping sebagai eksperimental sains , kegiatan laboratorium dapat dipakai untuk mengembangkan ketrampilan-ketrampilan proses membangkitkan minat belajar serta memberikan bukti-bukti bagi kebenaran teori yang telah didapat . Oleh karena itu mutu kegiatan laboratorium perlu ditingkatkan demi meningkatkan mutu pendidikan sehingga dapat dihasilkan lulusan yang dapat mengantisipasi perkembangan teknologi, khususnya pada pengembangan dan pengujian aktivitas obat.

Buku penuntun praktikum farmakologi ini merupakan revisi dari buku sebelumnya , disusun sedemikian rupa agar dapat membantu mahasiswa dalam melakukan praktikum di laboratorium. Penulis menyadari bahwa buku penuntun praktikum ini masih banyak kekurangan. Untuk itu kritik dan saran sangat penulis harapkan demi perbaikan berikutnya.

Akhir kata semoga buku ini bermanfaat bagi semua yang menggunakannya.

Tim farmakologi dan Farmasi Klinik

Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Esa Unggul

- Dr. Aprilita Rina Yanti Eff., M.Biomed., Apt.
- Irvani Rakhmawati, M.Farm.Apt.
- Nissa Anggastya Fentami, M.Farm., Apt.

September 2016

PETUNJUK KERJA LABORATORIUM

1. Sebelum mulai melakukan praktikum, mahasiswa perlu mempelajari serta memahami petunjuk dan prosedur percobaan.
2. Hal yang harus diperhatikan selama praktikum:
 - a. Kebersihan : selama bekerja , laboratorium perlu dijaga kebersihannya. Jas laboratorium. Setelah melakukan percobaan, bersihkan dan cuci alat, cuci wadah binatang dan kembalikan ke tempat semula. Kertas-kertas atau benda lain yang tidak berguna dimasukkan ke dalam keranjang sampah. Pada saat meninggalkan ruangan. Laboratorium harus dalam keadaan bersih dan rapi . Sampah biologis seperti sisa jaringan, atau hewan mati perlu dibungkusu plastik untuk selanjutnya dikubur atau diabukan.
 - b. Ketepatan : ketepatan yang perlu diperhatikan adalah, ketepatan dalam menimbang, ketepatan dalam mengukur volume larutan, suspensi atau sediaan obat lain yang akan diberikan, ketepatan dalam menentukan dosis obat yang akan diberikan, dan ketepatan cara pemberian obat.
 - c. Pengamatan: percobaan akan memberikan hasil yang baik , jika pengamatan dilakukan secara benar, setiap perubahan yang terjadi harus segera dicatat
3. Peserta praktikum harus datang tepat pada waktunya. Bagi yang berhalangan hadir, wajib memberikan keterangan yang jelas.
4. Tidak diadakan praktikum ulang. Dua kali tidak mengikuti praktikum, dinaytakan gugur dan tidak diizinkan untuk mengikuti ujian akhir, peserta dipersilahkan untuk mengikuti praktikum tahun berikutnya.
5. Peserta praktikum tidak boleh meninggalkan ruang laboratorium selama praktikum berlangsung
6. Peserta praktikum akan dibagi menjadi beberapa kelompok , setiap kelompok bertanggungjawab atas peralatan yang dipakai dan percobaan yang dilakukan.
7. Laporan praktikum harus diserahkan sebelum melakukan percobaan berikutnya .

8. Beberapa percobaan hanya diperlukan hasil tiap kelompok, lainnya memerlukan hasil dari kelompok lain untuk dihitung secara statistik.
9. Setiap kerusakan atau gangguan harus dilaporkan
10. Sebelum memulai percobaan, alat-alat yang diperlukan dicek.
11. Binatang percobaan diperlakukan secara layak. Hal ini akan membantu praktikum dalam melakukan percobaan, dan mengurangi pangaruh yang tidak dikehendaki.
12. Pada akhir praktikum akan diadakan diskusi dan presentasi yang merupakan bagian dari penilaian akhir.

Universitas
Esa Unggul

Universitas
Esa Unggul

Universitas
Esa Unggul

Universitas
Esa Unggul

Universitas
Esa Unggul

Universitas
Esa Unggul

Universitas
Esa Unggul

Universitas
Esa Unggul

Universitas
Esa Unggul

Universitas
Esa Unggul

Universitas
Esa Unggul

Universitas
Esa Unggul

PENDAHULUAN

1. Pada praktikum farmakologi, percobaan dilakukan pada hewan coba. Perlu diingat bahwa dalam percobaan yang menggunakan hewan coba tidak selalu diperoleh hasil yang tepat. Pelaksanaan yang tidak wajar terhadap hewan coba dapat memperbesar penyimpangan hasil percobaan. Perlakukanlah hewan coba secara manusiawi.

2. Penanganan hewan coba :
Hewan coba yang banyak digunakan adalah mencit , tikus, marmot dan kelinci. Penanganan terhadap hewan coba adalah cara memperlakukan hewan dengan baik selama masa pemeliharaan maupun selama percobaan/praktikum

Mencit :

Mencit bersifat penakut, fotofobik , cenderung berkumpul sesamanya, lebih aktif pada malam hari dibandingkan siang hari .

Pengambilan dan penanganan mencit :

Buka kandang hati-hati, masukkan tangan, angkat mencit dengan cara memegang ekor (3-4 cm dari ujung). Letakkan pada lembaran kawat atau alas kasar lainnya. Dengan tangan kiri jepit tengkuk diantara telunjuk dan ibu jari. Pindahkan ekor dari tangan kanan ke antara jari manis dan jari kelingking tangan kiri. Mencit siap mendapat perlakuan.

Tikus

Tenang, mudah ditangani, tidak begitu fotofobik seperti halnya mencit. Aktivasnya tidak demikian terganggu dengan adanya manusia. Jika diperlakukan kasar tikus menjadi galak.

Pengambilan dan pemegangan tikus

Buka kandang, angkat tikus pada pangkal ekornya dengan tangan kanan.

Letakkan di atas permukaan kasar/kawat. Luncurkan tangan kiri dari belakang tubuh/punggung ke arah kepala. Selipkan kepala antara ibu jari

dan jari tengah, sedangkan ibu jari, jari manis dan kelingking diselipkan di sekitar perut sehingga kaki depan, kiri dan kanan terselip di antara jari-jari. Tikus juga dapat dipegang dengan menjepit kulit pada tengkuknya.

Kelinci

Kelinci harus diperlakukan dengan halus namun sigap karena ia cenderung berontak .

Pengambilan dan pemegangan kelinci

Jangan memegang telinga karena dapat mengganggu pembuluh darah dan syaraf. Pegang kulit pada leher kelinci dengan tangan kiri dan angkat belakangnya dengan tangan kanan.

Marmot

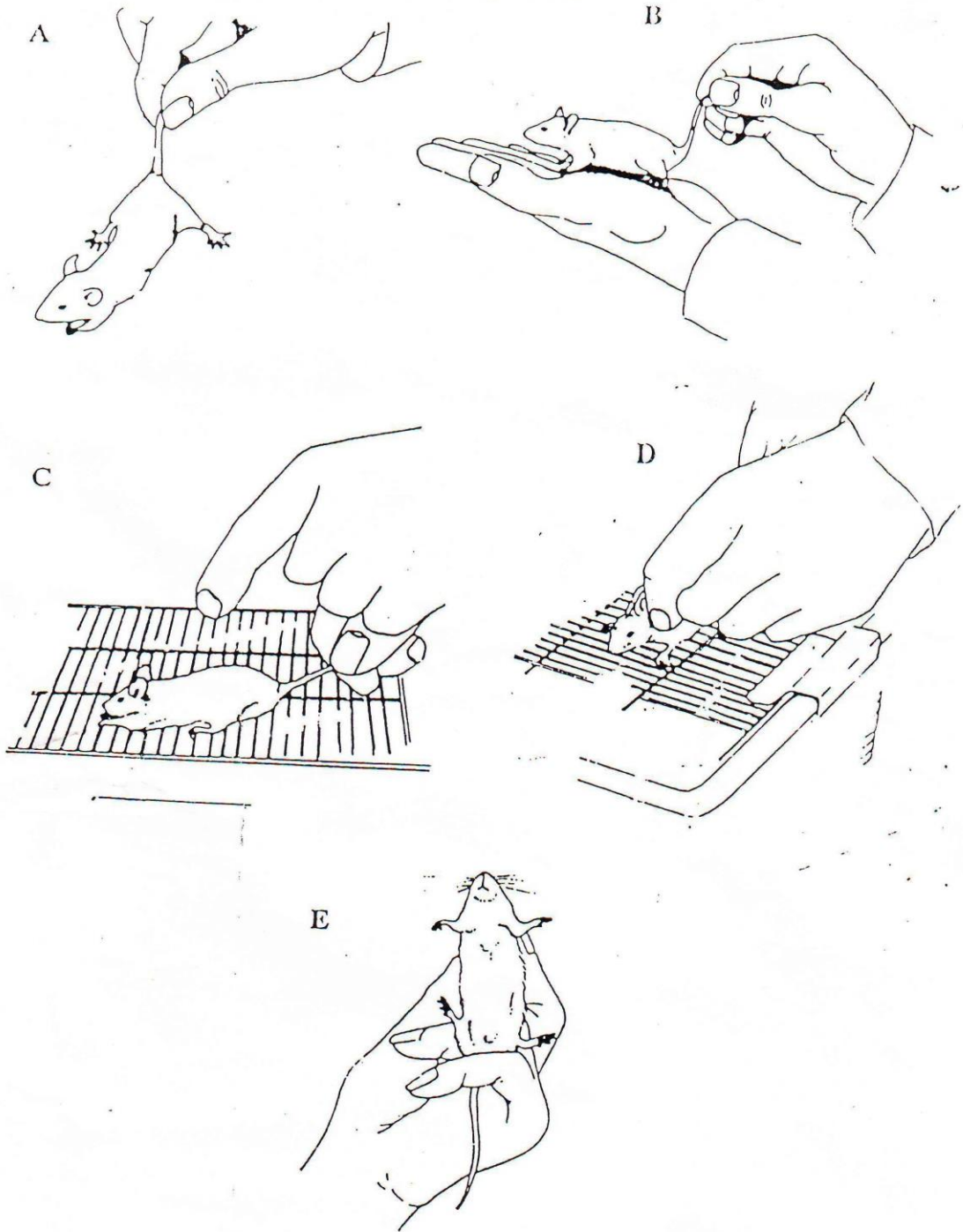
Marmot amat jinak dan jarang menggigit.

Pengambilan dan pemegangan marmot

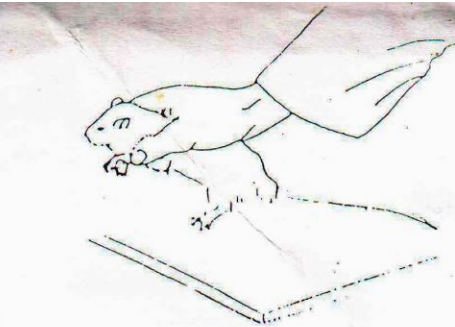
Pegang badan bagian atas dengan tangan yang satu dan pegang badan bagian belakang dengan tangan yang lainnya.

3. Cara pemberian obat

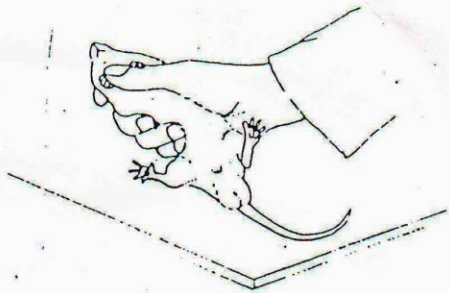
Ukuran jarum kateter yang digunakan untuk pemberian obat disesuaikan dengan hewan coba yang digunakan. Ukuran jarum kateter yang sesuai untuk pemberian obat pada berbagai hewan coba dapat dilihat pada table I



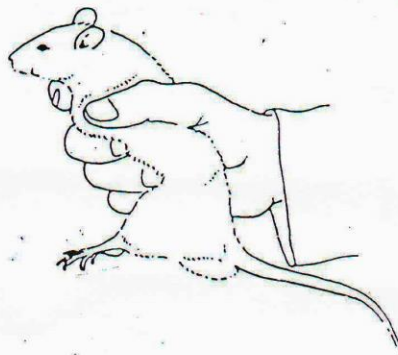
Gambar .1. Urutan tata cara mengambil mencit dari kandang (A) sampai memegangnya untuk siap diberi perlakuan (B, C, D, E)



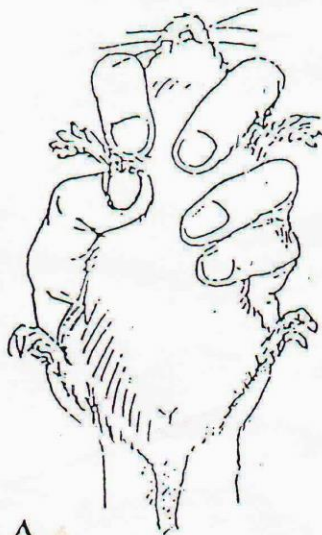
A



B



Gambar 2 Tata cara pengambilan tikus, A (menangkap pada bagian bahu), B (kepala dan bahu sedikit bebas).



A



B

Gambar 3 Tata cara pemegangan tikus

KARAKTERISTIK BINATANG PERCOBAAN

Karakteristik	Mencit (<i>Mus musculus</i>)	Tikus (<i>Rattus rattus</i>)	Marmot (<i>Cavia porcellus</i>)	Kelinci (<i>Oryzotolagus cuniculus</i>)	Anjing (<i>Canis familiaris</i>)
1. Pubertas	35 hari	40 - 60 hari	60 - 70 hari	4 bulan	7 - 9 bulan
2. Masa beranak	Sepanjang tahun	Sepanjang tahun	Mei-September	-	-
3. Lama hamil	19 - 20 hari	21 - 23 hari	63 hari	28 - 36 hari	62 - 63 hari
4. Jumlah sekali lahir	4 - 12 ekor 6 - 8 biasanya	6 - 8 ekor	2 - 5 ekor	5 - 6 ekor	1 - 18 ekor
5. Lama hidup	2 - 3 tahun	2 - 3 tahun	7 - 8 tahun	8 tahun	12 - 16 tahun
6. Masa tumbuh	6 bulan	4 - 5 bulan	15 bulan	4 - 6 bulan	12 - 15 bulan
7. Masa laktasi	21 hari	21 hari	21 hari	40 - 60 hari	6 - 8 minggu
8. Frekuensi kelahiran/tahun	4	7	4	3 - 4	1 - 2
9. Suhu tubuh	37,9 - 39,2°C	37,7 - 38,8°C	37,8 - 39,5°C	38,5 - 39,5°C	37,5 - 39,0°C
10. Kecepatan respirasi	136 - 216/menit	100 - 150/menit	100 - 150/menit	50 - 60/menit	15 - 28/menit
11. Tekanan darah	147/106 S/D	130/95 S/D	-	110/80 S/D	148/100 S/D
12. Volume darah	7,5 % bb	7,5 % bb	6 % bb	5 % bb	7,2 - 9,5 % bb
13. Luas permukaan tubuh	$\emptyset = K \sqrt{g^2}$ K = 11,4 g = berat badan	$\emptyset = K \sqrt{g^2}$ K = 9,13 g = berat badan	$\emptyset = K \sqrt{g^2}$ K = 8,88 g = berat badan	$\emptyset = K \sqrt{g^2}$ K = 12,88 g = berat badan	$\emptyset = K \sqrt{g^2}$ K = 12,322 g = berat badan

Tabel I : Ukuran dan alat yang dipergunakan untuk pemberian obat pada hewan coba

	IV	IP	SC	IM	PO
Mencit	Jarum 27,5 g ½ inch	Jarum 25 g ¾ inch	Jarum SC 25 g ¾ inch	Jarum 18 g ¾ inch	Ujung tumpul 15 g/16 g 2 inch
Tikus	Jarum 25 g	Jarum 25 g 1 inch	Jarum 25 g 1 inch	Jarum 25 g 1 inch	Ujung tumpul 15 g/16 g 1 inch
Kelinci	Jarum 25 g 1 inch	Jarum 21 g 1,5 inch	Jarum 25 g 1 inch	Jarum 25 g 1 inch	Kateter karet No. 9
Marmot	-	Jarum 25 g 1 inch	Jarum 25 g 1 inch	Jarum 25 g 1 inch	-
	Kucing-	Jarum 21 g 1,5 inch	Jarum 25 g 1 inch	Jarum 25 g 1 inch	-

Pemberian obat pada hewan coba dapat menggunakan :

1. Alat suntik

- Tabung dan jarum suntik harus steril jika akan digunakan pada kelinci, marmut, dan anjing. Tetapi tidak perlu steril melainkan sangat bersih untuk tikus dan mencit
- Setelah penyuntikan, cuci tabung dan jarum suntik tersebut , semprotkan cairan ke dalam gelas beker, dan jarum suntik dipegang erat-erat . Ulangi cara ini 3 kali.

2. Heparinisasi

- a. Untuk heparinisasi (mencegah darah menggumpal) dipakai 10 unit heparin per 1 ml darah
- b. Untuk mencegah penggumpalan darah , sebelum dipakai, tabung dan jarum suntik dicuci terlebih dahulu dengan larutan jenuh natrium oksalat steril.

VOLUME MAKSIMUM LARUTAN OBAT YANG DIBERIKAN PADA BINATANG

Binatang	Volume maksimum (ml)				
	Cara pemberian				
	i.v.	i.m.	i.p.	s.c.	p.o.
1. Mencit (20-30 g)	0,5	0,05	1,0	0,5-1,0*	1,0
2. Tikus (100 g)	1,0	0,1	2,0-5,0	2,0-5,0*	5,0
3. Hamster (50 g)	-	0,1	1,0-5,0	2,5	2,5
4. Marmot (250 g)	-	0,25	2,0-5,0	5,0	10,0
5. Merpati (300 g)	2,0	0,5	2,0	2,0	10,0
6. Kelinci (2,5 kg)	5,0-10,0	0,5	10,0-20,0	5,0-10,0	20,0
7. Kucing (3 kg)	5,0-10,0	1,0	10,0-20,0	5,0-10,0	50,0
8. Anjing (5 kg)	10,0-20,0	5,0	20,0-50,0	10,0	100,0

* Didistribusikan ke daerah yang lebih luas

Pemberian peroral:

Mencit dan tikus

Diberikan dengan alat suntik yang dilengkapi dengan jarum/kanula berujung tumpul atau berbentuk bola. Jarum/kanula dimaukan ke dalam mulut perlahan-lahan, diluncurkan melalui tepi langit-langit ke belakang sampai oesofagus. Pemberian oral pada kelinci dilakukan dengan pertolongan mouth block (alat penahan rahang) berupa pipa kayu/plastik yang berlubang, panjang 12 cm, diameter 3 cm dan diameter lubang 7 mm. Letakkan mouth block di antara gigi depan dengan cara menahan rahang dengan ibu jari dan telunjuk. Masukkan kateter melalui lubang pada mouth block sekitar 20-25 cm. Untuk memeriksa apakah kateter benar masuk ke oesofagus bukan ke trakea, celupkan ujung luar kateter masuk ke trakea. Pemberian oral pada marmot dapat dilakukan seperti pada tikus dan kelinci.

Pemberian intravena

Mencit

Penyuntikan dilakukan pada vena ekor (ada 4 vena pada ekor). Letakkan hewan pada wadah tertutup sedemikian rupa sehingga mencit tak leluasa untuk bergerak-gerak dengan ekor menjulur keluar. Hangatkan ekor dengan mencelupkan pada air hangat (40 –50 °C). Pegang ujung ekor dengan tangan satu dan suntik dengan tangan lainnya.

Tikus

Pada tikus yang tidak dianestesi, penyuntikan dapat dilakukan pada ekor seperti pada mencit, pada vena penis (khusus untuk tikus jantan) atau vena di permukaan dorsal kaki. Pada tikus yang dianestesi penyuntikan dapat dilakukan pada vena femoralis.

Kelinci dan marmot

Dapat dilakukan pada vena marginalis baik untuk marmot besar maupun marmot yang dianestesi.

Pemberian subkutan

Pada tikus dan mencit dilakukan di bawah kulit di daerah tengkuk atau sisi pinggang . Angkat sebagian kulit dan tusukkan jarum menembus kulit , sejajar dengan otot di bawahnya (untuk marmot dan kelinci)

Pemberian intramuskuler

Untuk mencit dan tikus dilakukan pada otot gluteus maksimus atau bisep femoris atau semi tendinosus paha belakang.

Pemberian intraperitoneal

Untuk semua hewan coba, penyuntikan dilakukan pada perut sebelah kanan garis tengah, jangan terlalu tinggi agar tidak mengenai hati dan kandung kemih . Hewan dipegang pada punggung supaya kulit abdomen menjadi

tegang . Pada saat penyuntikan posisi kepala lebih rendah dari abdomen. Suntikan jarum membentuk sudut 10° menembus kulit dan otot masuk ke rongga peritoneal.

4. Menggunakan kembali hewan yang telah dipakai

Untuk menghemat biaya, jika mungkin diperbolehkan memakai suatu binatang percobaan lebih dari satu kali. Walaupun demikian jika binatang tersebut telah dipergunakan dalam suatu periode dan obat yang digunakan pada percobaan sebelumnya masih berada di dalam tubuh binatang , kemungkinan hasil percobaan berikutnya akan memberikan data yang tidak benar. Hal ini terutama terdapat pada kasus pemberian inductor dan inhibitor enzim . Dengan dalih ini, maka binatang tersebut baru boleh digunakan lagi untuk percobaan berikutnya setelah selang waktu minimal 14 hari.



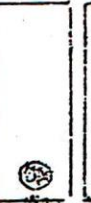






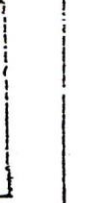
5. Cara memberi kode hewan percobaan

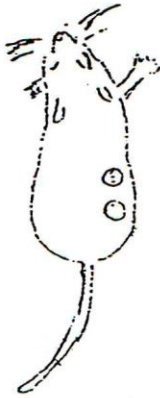
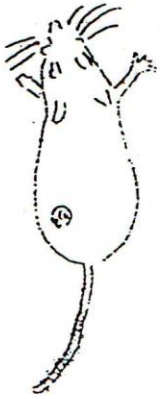
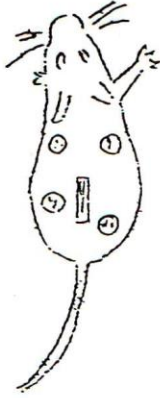
Seringkali diperlukan untuk mengidentifikasi hewan yang terdapat dalam suatu kelompok atau kandang. Oleh karena itu hewan perlu diberi kode. Gunakanlah larutan 10% asam pikrat dalam air dan sebuah sikat atau kuas

Punggung binatang dibagi menjadi 3 bagian :

1. Bagian kanan menunjukkan angka satuan
2. Bagian tengah menunjukkan angka puluhan
3. Bagian kiri menunjukkan angka ratusan

Untuk jelasnya dapat dilihat pada gambar berikut :

									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	0

 <p>Mencit No. 6</p>	 <p>Mencit No. 300</p>	 <p>Mencit No. 485</p>
--	--	--

6. Memberi makan hewan coba untuk menghindari variasi biologis

1. Hewan coba biasanya memberikan hasil dengan deviasi yang lebih besar dibandingkan dengan percobaan in vitro, karena adanya variasi biologis. Maka untuk menjaga supaya variasi tersebut minimal, hewan coba yang mempunyai spesies dan strain yang sama, usia yang sama, jenis kelamin yang sama, dipelihara pada kondisi yang sama pula.
2. Hewan coba harus diberi makan sesuai dengan makanan standar untuknya dan diberi minum ad libitum
3. Lebih lanjut, untuk mengurangi variasi biologis, hewan harus dipuaskan semalam sebelum percobaan dimulai. Dalam periode itu hewan hanya diperbolehkan minum air ad libitum.

7. Luka gigitan hewan

Luka yang bersifat abrasif atau luka yang agak dalam karena gigitan hewan ataupun karena alat-alat yang telah digunakan pada percobaan, harus diobati secepatnya menurut cara-cara pertolongan pertama pada kecelakaan. Apabila belum pernah mendapat kekebalan terhadap tetanus, ia harus mendapatkan imunisasi sebagai profilaksis.

8. Memusnahkan hewan

1. Cara terbaik untuk membunuh hewan ialah dengan memberikan suatu anestesi over dosis. Injeksi barbiturat (natrium pentobarbital 300 mg/ml) secara intravena untuk anjing dan kelinci, secara intraperitoneal atau intra toraks untuk marmut, tikus dan mencit atau dengan inhalasi menggunakan kloroform, CO₂, nitrogen dan lain-lain di dalam wadah tertutup untuk kesemua hewan.
2. Binatang disembelih, kemudian dimasukkan ke dalam kantong plastik dan dibungkus lagi dengan kertas, diletakkan di dalam tas plastik, ditutup dan disimpan dalam lemari pendingin atau langsung diabukan (insinerasi).

Tabel 2 : data anestesi umum pada hewan coba

Hewan coba	Anestesi	Kepekaan larutan & pelarut	Dosis	Rute pemberian
Mencit & tikus	Eter			inhalasi
	Kloralose	2% dalam NaCl fisiologis	300 mg/kg BB	intraperitoneal
	Uretan	10-25% dalam NaCl fisiologis	1-1,25 g/kg	intraperitoneal
	Nembutal	65 mg/ml	40-60 mg/kg (kerja singkat) 80-100 mg/kg (kerja lama)	Intraperitoneal atau intravena
	Pentobarbital Na	4,5 - 6 % dalam NaCl fisiologis	45-60 mg/kg 35 mg/kg	intraperitoneal intravena
	Heksobarbital	7,5% dalam NaCl fisiologis 4,7% dalam NaCl	75 mg/kg 47 mg/kg	Intraperitoneal intravena
Kelinci	Eter			inhalasi
	Uretan	10% dalam NaCl fisiologis	19 mg/kg BB	i.p atau i.v
	Kloralose + Nembutal	1% dalam NaCl fisiologis 65mg/ml	100 mg/kg 10 mg/kg	intravena
	Pentobarbital	5% dalam NaCl fisiologis	22 mg/kg (kerja lama) 11 mg/kg (kerja singkat)	Intravena intravena
	Pentotal	5 % dalam aquades	10-20 mg/kg (menurut jangka waktu kerja)	intravena
	Morfin	5% dalam aquadest	100 mg/kg	subkutan
Marmut	Eter			Inhalasi
	Kloroform			inhalasi
	Uretan	10-25% dalam NaCl fisiologis hangat	19 mg/kg BB	intraperitoneal
	Kloralose	2% dalam NaCl fisiologis	150 mg/kg	intraperitoneal
	Pentobarbital		28 mg/kg	

	Nembutal	Seperti pada tikus		
Kera	Eter			Inhalasi
	Kloralose	1-2% dalam NaCl fisiologis	100-200 mg/kg	intravena
	Pentotal	1% dalam aquadest	20-25 mg/kg	intravena
Anjing	Kloralose		100-200 mg/kg	intravena



CONTOH PEMBUATAN LAPORAN PRAKTIKUM

Judul Percobaan :

I. Pendahuluan

1.1. Tujuan Percobaan

1.2. Latar belakang serta teori yang terkait

II. Cara Percobaan

II.1. Alat dan Bahan

II.2. Cara Kerja

III. Hasil Percobaan

IV. Pembahasan

V. Kesimpulan

VI. Daftar Pustaka

PENGARUH CARA PEMBERIAN DAN DOSIS TERHADAP EFEK OBAT

I. Tujuan percobaan:

1. Mahasiswa mampu memberikan obat dengan berbagai rute pemberian dengan berbagai dosis yang berbeda pada mencit atau tikus.
2. Mahasiswa mampu menerangkan perbedaan efek pentotal Na pada mencit atau tikus akibat pemberian secara oral iv, i.p, im, sc dan rektal
3. Mahasiswa mampu menerangkan pengaruh besarnya dosis terhadap efek obat.

II. Bahan dan alat

- Mencit atau tikus
- Alat suntik, sonde
- Larutan pentotal Na atau obat hipnotik sedatif (diazepam) lainnya
- Timbangan hewan
- Wadah tempat pengamatan
- Stopwatch

III. Cara kerja

1. Siapkan 3 ekor mencit atau tikus untuk tiap cara pemberian . gunakan tiga dosis pemberian masing-masing dengan dosis 10 mg/kg BB, 20 mg/kg BB dan 35 mg/kg BB.
2. Berikan larutan pentotal Na atau obat lainnya secara peroral, intravena, ip, im, subkutan , rektal dan catat waktu pemberiannya
3. Tempatkan hewan dalam wadah pengamatan . Amati dan catat onset of action dan durasi hilangnya reflek badan (hilangnya kemampuan hewan untuk membalikkan badan jika ditelentangkan selama 30 menit)
4. Hitung mulai dan lamanya waktu tidur masing-masing kelompok. Bandingkan hasilnya.

PENGARUH VARIASI BIOLOGIK TERHADAP EFEK OBAT

1. Tujuan Percobaan

- a. Mahasiswa mampu memberikan larutan Tiopental Na secara intraperitoneal dengan dosis yang sesuai pada hewan coba
- b. Mahasiswa mampu menerangkan terjadinya perbedaan efek abntar hewan coba yang berkelamin sama dan antar hewan coba jantan dan betina sebagai dasar pertimbangan percobaan dengan memakai hewan percobaan

II. Alat dan Bahan

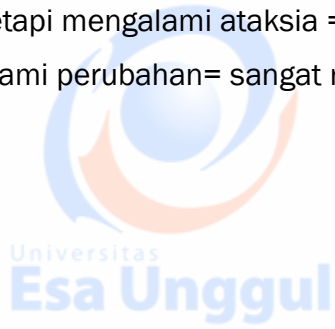
- Tikus / mencit jantan dan betina
- Alat suntik
- Larutan tiopental-Na , larutan NaCl fisiologis
- Timbangan hewan
- Wadah tempat pengamatan

III. Cara Kerja

1. Siapkan hewan coba jantan dan betina, masing-masing 3 ekor. Hitung dosis dan volume pemberian untuk masing-masing hewan sesuai dengan berat badan
2. Suntikkan secara peritoneal larutan Tiopenthal-Na (35 mg/kg BB) . Sebagai p[embanding gunakan larutan NaCl fisiologis pada masing-masing 1 ekor hewan coba jantan dan betina. Catat waktu pemberian dan mulai terjadinya efek
3. Tempatkan hewan dalam wadah pengamatan . Amati efek selama 45 menit . Efek yang diharapkan adalah hewan tertidur, tetapi masih memberikan respon jika hewan dirangsang
4. Catat hasil pengamatan dan tabelkan sesuai dengan data berikut:
 - a. Mati = sangat peka
 - b. Tidur , bila diberi rangsang nyeri tidak tegak = peka
 - c. Tidur, bila diberi rangsang nyeri tegak = sesuai dengan efek yang diduga

d. Tidak tidur, tetapi mengalami ataksia = resisten

e. Tidak mengalami perubahan = sangat resisten



OBAT OTONOM, SEDATIF DAN TRANQUILIZER

I. Tujuan Percobaan

1. Mahasiswa mampu menjelaskan cara penetapan perubahan aktivitas spontan tikus dengan alat rotarod sebagai salah satu cara pengujian obat penekan saraf pusat dan transquilizer
2. Mahasiswa mampu mengevaluasi perbedaan efek klorpromazin dan tiobarbital Na pada perubahan aktivitas motorik spontan pada tikus
3. Mahasiswa mampu mengevaluasi pengaruh obat kholinomimetik , muskarinik blcker, agonis adrenergik dan adrenergik bloker pada otot iris mata tikus
4. Mahasiswa mampu menjelaskan efek kholinomoimetik dan antikolinergik pada kelenjar ludah

II. Alat dan bahan

1. Rotarod
2. Loupe
3. Tikus, kelinci
4. Klorpromazin, pentobarbital Na, Pilocarpin, atropin dan adrenalin

III. Cara Kerja

1. Aktifitas spontan (2 tikus)

Adaptasikan tikus pada rotarod selama 5 menit dengan meletakkan pada roda berputar rotarod. Catat berapa kali jatuh selama 2 menit. Amati reflek balik badan, reflek kornea dan perubahan diameter pupil. Suntikkan larutan klorpromazin dengan dosis 0.2 mg/kg bb dan pentobarbital Na dengan dosis 25 mg/kg bb secara i.m pada tikus yang berbeda. Letakkan pada rotarod pada menit ke 20 dan menit ke 40 selama 2 menit. Catat berapa kali jatuh dan amati reflek balik kornea dan perubahan diameter pupil.

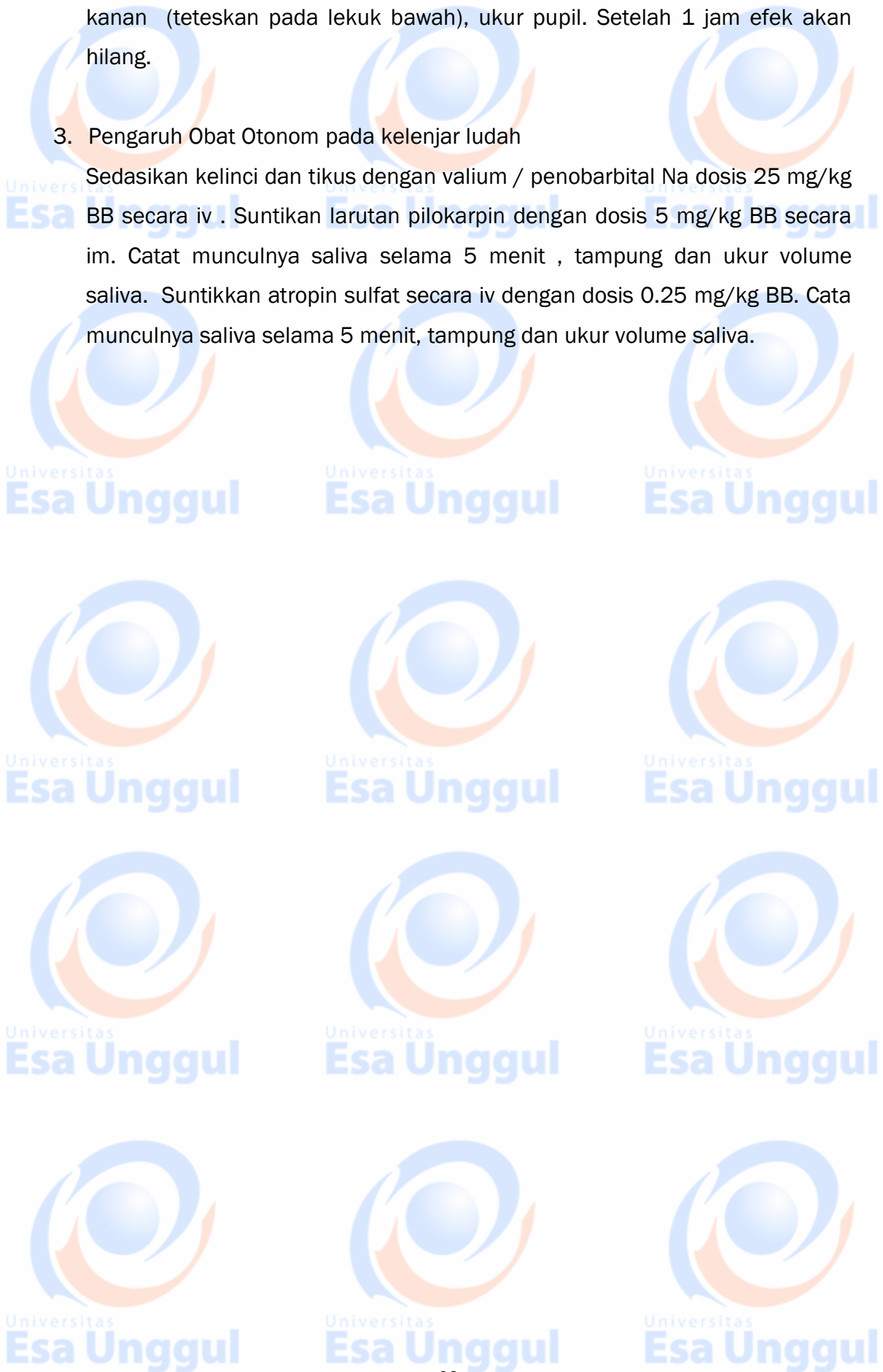
2. Pengaruh Obat Otonom terhadap otot iris

Ukur pupil mata kelinci dengan menggunakan loupe, kalau perlu dengan cahaya biasa. Teteskan atropin pada mata kiri dan adrenalin pada mata

kanan (teteskan pada lekuk bawah), ukur pupil. Setelah 1 jam efek akan hilang.

3. Pengaruh Obat Otonom pada kelenjar ludah

Sedasikan kelinci dan tikus dengan valium / penobarbital Na dosis 25 mg/kg BB secara iv . Suntikan larutan pilokarpin dengan dosis 5 mg/kg BB secara im. Catat munculnya saliva selama 5 menit , tampung dan ukur volume saliva. Suntikkan atropin sulfat secara iv dengan dosis 0.25 mg/kg BB. Cata munculnya saliva selama 5 menit, tampung dan ukur volume saliva.



PENENTUAN PERBANDINGAN KEKUATAN OBAT ANESTESI SECARA INHALASI

I. Tujuan percobaan:

1. Mahasiswa memahami perbedaan mula kerja dan lama kerja dari obat-obat anestesi secara inhalasi
2. Mahasiswa mampu menjelaskan hal-hal yang mempengaruhi toksisitas suatu obat.

II. Bahan dan alat

- Eter dan kloroform
- Mencit atau tikus
- Kapas
- Beaker glas
- Plastik
- Karet gelang
- Semprit tuberkulin

III. Cara kerja

1. Siapkan beaker glas dan letakkan sepotong kapas di dalamnya .
2. Masukkan seekor mencit ke dalam tiap beaker glas lalu tutup beaker glas dengan selembar plastik.
3. Tandai tiap beaker glas sesuai anestesi yang akan digunakan .
4. Dengan interval 5 menit suntikkan 0,2 ml anestesi tersebut menggunakan semprit tuberkulin menembus plastik di atas sepotong kapas di dalam beaker glas.
5. Observasi mencit secara teliti
6. Teruskan pemberian anestesi tiap 5 menit sampai semua hewan mati.
7. Catatlah hasil pengamatan anda pada tabel berikut :

Tabel kekuatan relatif anestesi umum

Anestesi	waktu (jam pemberian dosis pertama)	eksitasi		kematian		volume anestesi yg dipakai
		wkt (x)	interval (x)	wkt (x)	interval	
eter						
kloroform						

x ; jam timbulnya efek



ANALGETIKA DAN HUBUNGAN DOSIS RESPON

I. Tujuan Percobaan

1. Mahasiswa mampu mengobservasi dan menyimpulkan perubahan respon akibat pemberian berbagai dosis berbagai obat analgetik pada tikus yang diberi rangsang nyeri.
2. Mahasiswa mampu membuat kurva dosis respon
3. Mahasiswa mampu melakukan pengujian efek analgetik narkotik dan non narkotik menggunakan metoda hot plate dan tail flick

II. Bahan dan alat

- Mencit
- Alat suntik
- Obat-obat analgetik : paracetamol, metampiron, asam mefenamat, dll, morfin HCl
- Stop watch

III. Cara kerja

1. Timbang hewan yang telah dipuasakan selama 12 jam
2. Hitung dosis untuk mencit berdasarkan dosis $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$ dan 1 kali dosis obat-obat analgetik tersebut untuk manusia.
3. Sediakan 4 set mencit yang masing-masing terdiri dari 3 mencit untuk 3 macam dosis di atas dan 2 mencit untuk kontrol.
4. Uji untuk masing-masing metode :

A. Metode hot plate

- Berikan 2 set mencit masing-masing dengan obat analgetik yang berbeda secara peroral dan 1 ekor mencit digunakan sebagai kontrol.
- Letakkan mencit pada plate dengan suhu sekitar 55°C .
- Catat waktu saat kaki belakang atau depan digerak-gerakkan sebagai pernyataan nyeri setempat

- Pengamatan dilakukan pada menit ke 5, ke 10 ke 30 dan menit ke 60 setelah pemberian obat.
- Buat tabel dan kurva hubungan dosis respon

B. Metoda Tail-flick


- Berikan 2 set mencit masing-masing dengan obat analgetik yang berbeda secara peroral dan 1 ekor mencit digunakan sebagai kontrol
- Masukkan mencit ke kandang percobaan . Letakkan bagian tengah ekor mencit tepat di bawah sinar lampu penghasil rangsang nyeri.
- Catat waktu saat mencit menjentikan /mengibaskan ekornya sebagai tanda rasa nyeri setempat
- Pengamatan dilanjutkan pada menit ke 5, 10, 30 dan 60,120 setelah pemberian obat
- Buat tabel dan kurva hubungan dosis-respon

Sebelum percobaan dilakukan, mencit diukur kepekaannya. Mencit diletakkan di atas lempeng panas dan harus memberikan respon dalam waktu 20 detik , jika tidak memberikan respon hewan tidak diikuti dalam percobaan.

C. Metoda geliat (*Writhing reflex test atau abdominal constriction test*)

Sebelum percobaan mencit diuji kepekaannya . Mencit disuntikkan dengan asam asetat 0,75% secara intraperitoneal dengan dosis 10 ml/kg BB. Mencit yang memberikan respon dengan tarikan kaki ke belakang, penarikan abdomen dan kejang tetani dalam waktu 5 menit, dapat diikuti dalam pengujian. Di luar ketentuan mencit dianggap tidak memenuhi persyaratan uji kepekaan.

- Setiap mencit dalam kelompok uji (masing-masing 3 ekor) diberikan obat analgetik sesuai dosis (1/2 kali, 1 kali, dan 2 kali dosis manusia.
- Setelah 5 menit suntikkan asam asetat 0,75% dengan dosis 10 ml/kg BB secara intra peritoneal.



- Setelah 10 menit amat jumlah geliat yang terjadi selama 1jam dengan interval 5 menit. Bandingkan dengan kelompok kontrol yang hanya diberi air suling
- Cata data pengamatan dalam tabel dan buat kurva hubungan dosis-respon.



ANTIINFLAMASI

I. Tujuan percobaan :

- Mempelajari daya antiinflamasi obat pada binatang menggunakan radang buatan
- Mahasiswa mampu menerapkan metoda pengujian obat antiinflamasi
- Mahasiswa mampu mengevaluasi potensi obat antiinflamasi

II. Prinsip metode :

Induksi udema dilakukan pada kaki hewan percobaan, dalam hal ini tikus, dengan cara penyuntikan suspensi karagenin / albumin secara intra planar. Obat uji diberikan oral 1 jam sebelum penyuntikan karagenin . Ukuran udema kaki diukur dengan alat yang bekerja berdasarkan hukum archimides (plestimometer). Aktivitas antiinflamasi obat uji ditunjukkan dengan kemampuannya mengurangi udema yg diinduksi pada kaki tersebut

III. Alat dan bahan:

- Karagenin/putih telur
- Berbagai obat antiinflamasi
- Tikus jantan
- Pletismograf
- Jarum suntik

IV. cara kerja

1. Timbang bobot tikus , kelompokkan secara acak, kelompok kontrol hanya menerima karagenin / albumin, dan kelompok uji menerima induksi karagenin dan obat uji, kelompok kontrol positif menerima induksi karagenin dan obat AINS
2. Untuk tikus kontrol :
 - a. Suntik telapak kaki kanan tikus dengan karagenin/albumin 0,1 ml. Ukurlah segera volume udem dengan mencelupkan telapak kaki

sampai ke tanda ke dalam air raksa pada alat pletismograf.

Pengukuran diulang pada 3 jam kemudian.

- b. Telapak kaki kiri disuntik dengan akuadest dan ukur volume telapak kaki seperti di atas.

3. Untuk tikus perlakuan:

- a. tikus dibagi menjadi 3 kelompok, masing-masing sebanyak 3 ekor .

Tiap kelompok diberi obat secara peroral

- b. 15 menit setelah pemberian obat, tikus disuntik dengan karagenin seperti di atas. Pengukuran volume udem dilakukan segera dan 3 jam setelah pemberian karagenin

- c. Hitung persen penghambatan inflamasi untuk tiap obat pada tiap dosis.



DIURETIKA

I. Tujuan Percobaan

1. Mahasiswa mampu menerapkan metoda pengujian obat diuretika
2. Mahasiswa mampu mengevaluasi potensi obat diuretika

II. Alat dan bahan

- Tikus
- Sonde oral
- Berbagai obat diuretika

III. Cara kerja

1. Puasakan tikus 1 malam , tapi tetap diberi minum
2. Beri pada semua tikus air hangat sebanyak 5 ml/100 gram bb secara oral
3. Beri obat secara peroral
4. Tempatkan masing-masing tikus dalam kandang khusus (kandang metabolisme) dan tampung urin selama 3 jam
5. Catat frekuensi dan volume urin
6. Hitung frekuensi hewan kumulatif selama 3 jam terhadap volume air yang diberikan

ANTIDIARE

I. Tujuan percobaan:

1. Mahasiswa mampu menerapkan metode pengujian obat antidiare
2. Mahasiswa mampu mengevaluasi potensi obat diuretika

II. Alat dan bahan

- Tikus
- Oleum ricini
- Berbagai Obat antidiare
- Sonde oral
- Timbangan
- Kertas perkamen
- Kotak kaca

III. Cara kerja

1. Puasakan tikus selama 1 malam tetapi tetap diberi minum.
2. Berikan semua tikus oleum ricini secara oral dengan volume 3 ml
3. 5 menit kemudian berikan obat antidiare secara oral untuk kelompok perlakuan dan air suling untuk tikus sebagai kontrol negatif.
4. Masukkan tikus ke dalam kotak kaca yang di dalamnya telah dialasi kertas perkamen yang telah ditara.
5. Tampung dan timbang berat feses yang terbentuk selama 3 jam dengan interval 5 atau 10 menit
6. Hitung persentase berat feses kumulatif selama 3 jam .

PENAPISAN / SKRINING FARMAKOLOGI

I. Tujuan

1. Mahasiswa mengetahui prinsip penapisan hipokratik
2. Mahasiswa mampu mengevaluasi hasil penapisan hipokratik

II. Bahan dan alat

1. Hewan percobaan
2. Obat yang akan dievaluasi
3. Alat suntik
4. Rotarod
5. Loupe

III. Cara Kerja

1. Timbang hewan percobaan
2. Amati, ukur dan catat aktivitas seperti tercantum pada tabel I
3. Suntikkan zat yang akan dievaluasi secara intraperitoneal
4. Amati, ukur dan catat aktivitas seperti tercantum pada tabel. Parameter dengan respon *all or none* diberi nilai 0 atau 1, respon bertingkat diberi nilai 1 sampai 3
5. Hitung dan catat parameter-parameter tersebut pada menit ke -5, 10, 15, 30, 60, 120 dan 180
6. Jumlahkan nilai tersebut dengan dan kalikan dengan weight factor
7. Jumlahkan nilai maksimum untuk masing-masing aktivitas (1- untuk respon *all or none* dan 3-untuk respon bertingkat) dan kalikan dengan weight factor
8. Kelompokkan aktivitas-aktivitas dalam kelompok kataegori. Jumlahkan total nilai aktivitas tersebut. Jumlahkan pula total nilai maksimum.
9. Hitung prosentase total nilai aktivitas dalam satu katagori terhadap total nilai maksimum. Rangkan prosentase tiap katagori untuk tiap dosis
10. Simpulkan efek obat /zat yang akan diteliti berdasarkan prosentase tersebut.

Tabel I
Daftar Weight Factor (WF) untuk aktifitas yang diukur

Aktifitas	WF	Kategori
Aktifitas motorik menurun	1	CNS DEP./SYML./MUS.REL.
Aktifitas motorik meningkat	1	CNS ACT.
Hilang refleks berdiri	1	CNS DEP.
Hilang refleks kornea	1	CNS DEP.
Hilang refleks pinal	1	CNS DEP./MUS.REL.
Paralisa kaki	1	CNS DEP./MUS.REL.
Hilang daya cengkeram	1,5	CNS DEP./MUS.REL.
Laju pernafasan meningkat	2	CNS ACT.
Laju pernafasan menurun	2	CNS DEP./MUS.REL.
Tremor	1	CNS ACT.
Fasikulasi	1	CNS ACT./PARASYMM.
Konvulsi	1	CNS ACT./SYMM./SYML./PARASYM
Eksoftalmos	1,5	SYMM
Palpebral ptosis	1	CNS DEP./SYML./MUS.REL.
Pupil melebar (midriasis)	0,5	ANALG.
Pupil mengecil (miosis)	1,5	PARASYMM./SYML./CNS DEP.
Nistagmus	2	CNS DEP.
Lakrimasi meningkat	0,5	PARASYMM.
Lakrimasi menurun	2	SYML.
Khromodakriorea	1,5	PARASYMM.
Telinga / ekor memucat	2	VASOKONSTR.
Telinga / ekor hiperemia	1	VASODIL.
Salivasi	2	PARASYMM.
Ekor naik (Straub Tail)	0,5	ANALG.
Bulu berdiri	2,5	SYMM./PARASYMM.
Urinasi	2	PARASYMM.
Diare	1	PARASYMM.
Gerak berputar	1	CNS ACT./ANALG.
Tail lashing	1	CNA ACT.
Writhing	0,5	MUS REL.
Temperatur rektum naik	2	CNS ACT./SYMM
Temperatur rektum menurun	1	CNS DEP./SYML./PARASYMM
Jatuh dari rotarod	1	CNS DEP./MUS.REL.
Melompat dari rotarod	1	CNS ACT.
Tonus tubuh naik	2	CNS ACT.
Tonus tubuh menurun	1,5	CNS DEP./MUS.REL.
Agresif	1	CNS ACT.
Katalepsi (kaku)	1	CNS DEP.
Rasa ingin tahu meningkat	1	CNS ACT.
Rasa ingin tahu menurun	1	CNS DEP./MUS.REL.
Reaksi plat panas menurun	1	CNS DEP./MUS.REL./ANALG.
Reaksi jepit ekor menurun	1	CNS DEP./MUS.REL./ANALG.
Berat badan naik	2	
Berat badan menurun	1,5	

DAFTAR PUSTAKA

1. Harmita dan Radji M, 2008. *Buku Ajar Analisis Hayati*. Penerbit EGC
2. Nodine H J and Siegler EP, 1964. *Animal and Clinical Pharmacologic Techniques in Drug Evaluation*. Year book medical publisher.
3. Parmar NS and Prakash Ship, 2006. *Screening Methods in Pharmacology* . Alpha Science International, Ltd., Oxford UK.
4. Smith SJ dan Mangkoewidjodjo S, 1982 . *Pemeliharaan , Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Derah Tropis*. UI Press Jakarta.
5. Waynfort, 1980. *Experimental and Surgical Technique in The Rat*. Academic Press.

