

**LAPORAN STRATEGI PENGEMBANGAN LABORATORY ANIMAL
CENTER BERSTANDAR INTERNASIONAL**

JAKARTA, 11 – 12 DESEMBER 2017

INDONESIAN NEUROSCIENCE INSTITUTE – UNIVERSITAS YARSI

Universitas
Esa Unggul
Oleh
SEPRIANTO, S.Pi,M.Si



Universitas
Esa Unggul

UNIVERSITAS ESA UNGGUL

2017

Universitas
Esa Unggul

PENDAHULUAN

Perkembangan ilmu medis tidak terlepas dari perkembangan teknologi dan riset. Adanya keterbatasan dan etika dalam riset terhadap manusia atau pasien sebagai subjek, membuat hewan coba menjadi alternatif dalam melakukan penelitian.

Penggunaan hewan coba dewasa ini terus berkembang. Kegunaan hewan coba tersebut antara lain sebagai pengganti dari subyek penelitian. Ilmu farmasi juga menggunakannya sebagai alat pengukur besaran kualitas dan kuantitas suatu obat sebelum diberikan kepada manusia. Namun tidak semua hewan coba dapat digunakan dalam suatu penelitian, harus dipilih mana yang sesuai dan dapat memberikan gambaran tujuan yang akan dicapai. Hewan sebagai model atau sarana percobaan haruslah memenuhi persyaratan-persyaratan tertentu, antara lain persyaratan genetis/keturunan dan lingkungan yang memadai dalam pengelolaannya, di samping faktor ekonomis, mudah tidaknya diperoleh, serta mampu memberikan reaksi biologis yang mirip kejadiannya pada manusia.

Indonesia Neuroscience Institute (INI) merupakan institusi yang bertujuan menjadi wadah pengembangan pendidikan, pelatihan dan penelitian di bidang Psikiatri, Psikologi Biologi, Neurologi, Bedah Syaraf dan ilmu biomedik yang diakui secara nasional dan internasional

TUJUAN

1. Meningkatkan sumber daya manusia yang handal dalam pengelolaan fasilitas hewan coba (animal research facility)
2. Meningkatkan pengetahuan para ahli biomedik dan peneliti dalam pengembangan pusat hewan coba (animal center)
3. Membantu institusi dan lembaga pendidikan (universitas) dalam pengembangan dan pendirian laboratory animal center berstandar internasional
4. Menjadikan workshop ini sebagai standar dalam pengembangan animal research facility di Indonesia

METODE PELAKSANAAN

Waktu dan Tempat

STRATEGI PENGEMBANGAN LABORATORY ANIMAL CENTER BERSTANDAR INTERNASIONAL

Hari/Tanggal : Senin – Selasa/ 11-12 Desember 2017

Tempat : Universitas Yarsi, Cempaka Putih Jakarta Pusat
Penyelenggara : Indonesia Neuroscience Institut – Universitas Yarsi

Peserta Pelatihan

1. Mahasiswa dan dosen biomedik
2. Neurosaintis
3. Pengelola laboratorium dan animal center
4. Peneliti dan Klinisi (dokter, dokter spesialis terkait)

Materi Pelatihan

Materi pelatihan yang diberikan adalah

- Why we need animal model in biomedical research
- Animal models for study of human disease
- Regulation and Ethical Consideration in Animal Experiments
- Animal Research Facility and Certification
- Biosafety and Biosecurity
- Introduction to Animal care and handling

Alasan Penentuan Materi

Peserta pelatihan mendapatkan teknik handling hewan percobaan serta mengetahui standarisasi laboratorium hewan dengan persyaratan dan ketentuan dari AAALAC (Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care)

Metode Penyampaian Materi

Materi disampaikan dalam bentuk kuliah umum dengan 4 sesi pertemuan dengan 4 orang pemateri, hari pertama full presentasi dari 3 orang pemateri, sedangkan pada hari kedua dilanjutkan dengan materi teknik handling hewan coba dan dilanjutkan dengan 2 sesi praktek di laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Yarsi

Sumber Dana

Sumber pendanaan kegiatan workshop berasal dari biaya registrasi peserta dan dana institusi penyelenggara (INI-YARSI)

Dengan Rincian

Biaya workshop selama dua hari sebagai berikut:

1. Early bird : Rp. 2.500.000,- (dua juta lima ratus ribu rupiah) bagi yang mendaftar sebelum tanggal 3 Desember 2017
2. Regular : Rp. 2.750.000,- (dua juta tujuh ratus lima puluh ribu rupiah) bagi yang mendaftar dari tanggal 4 Desember 2017 sampai dengan 10 Desember 2017
3. On site : Rp. 3.000.000,- (tiga juta rupiah) bagi yang mendaftar pada tanggal 11 dan 12 Desember 2017.

Output dan Outcome

Peserta ditarget setelah pelatihan ini selain memahami standarisasi Laboratorium Hewan percobaan berstandarisasi Internasional yang akan digunakan dalam penelitian terutama kesehatan, Bioetika dalam menangani hewan percobaan dengan prinsip 3R (Reduction, Replacement, dan Refinement) serta mengetahui teknik handling yang benar dalam anastesi hewan serta pengambilan darah dan pengamatan organ hewan percobaan.

Rundown Acara Klinik Penulisan

SENIN, 11 Desember 2017

Lokasi: Ruang Seminar Rektorat Universitas YARSI

08:00 AM: Registrasi Peserta

08:30 AM: Sambutan Direktur Eksekutif INI- SF

08:45 AM: Pembukaan Workshop
Rektor/Wakil Rektor Universitas YARSI

09:00 AM: 1. **Why we need animal model in biomedical research?**
Irawan Satriotomo, M.D, Ph.D

10:00 AM: 2. **Animal models for study of human disease**
Irawan Satriotomo, M.D, Ph.D

12:00 PM: Istirahat Sholat dan Makan Siang

01:00 PM: 3. **Regulation and Ethical Consideration in Animal Experiments**
dr. Raymod R Tjandrawinata, PhD

02:30 PM: 4. **Animal Research Facility and Certification**
dr. Raymod R Tjandrawinata, PhD

04:00 PM: 5. **Biosafety and Biosecurity**

Puslitbang Biomedis dan Teknologi Dasar Kemenkes RI

04:45 PM Diskusi dan Simpulan Materi Hari Pertama

SELASA, 12 Desember 2017

Lokasi : Lab Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Yarsi

08:30 AM: Registrasi Peserta

09:00 AM: 6. Introduction to Animal care and handling

Prof. Drh. Ekowati Handharyani, PhD, PA Vet

10:30 AM: 7. Practical Animal Handling (Sesi1)

Prof. Drh. Ekowati Handharyani, PhD, PA Vet

Drh Aulia Andi Mustika

12:30 PM: Istirahat Sholat dan Makan Siang

01:30 PM: 8. Practical Animal Handling (Sesi 2)

Drh Aulia Andi Mustika

03:00 PM: 9. Perfusion and Tissue Collection

Irawan Satriotomo, M.D,Ph.D

04:30 PM: Diskusi dan Simpulan Hari Kedua

Materi Pada Sesi Pertama
Senin, 11 Desember 2017
Oleh : Prof Irawan Satriotomo, M.D,Ph.D

Materi : Why we need animal model in biomedical research
(Kenapa Kita Butuh Hewan Percobaan dalam Penelitian Kesehatan)

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

Penelitian kesehatan meliputi penelitian biomedik, epidemiologi, sosial, serta perilaku. Sebagian penelitian kesehatan dapat dilakukan secara in vitro, memakai model matematik, atau simulasi komputer. Jika hasil penelitian akan dimanfaatkan untuk manusia, diperlukan penelitian lanjutan dengan menggunakan bahan hidup (in vivo) seperti galur sel dan biakan jaringan. Walaupun demikian, untuk mengamati, mempelajari, dan menyimpulkan seluruh kejadian pada makhluk hidup secara utuh diperlukan hewan percobaan karena hewan percobaan mempunyai nilai pada setiap bagian tubuh dan terdapat interaksi antara bagian tubuh tersebut. Hewan percobaan dalam penelitian disebut sebagai semi final test tube. Sampai saat ini peneliti kesehatan masih melakukan penelitian dengan memanfaatkan hewan percobaan, namun masih ada kekurangan dalam penanganan dan perawatan hewan percobaan tersebut sebagaimana layaknya diatur dalam etika pemanfaatan hewan percobaan

Perlunya Hewan Percobaan

Bahan uji (obat) yang ditujukan untuk penggunaan pada manusia, perlu diteliti dengan menyertakan subjek manusia sebagai final test tube. Relawan manusia secara etis boleh diikutsertakan jika bahan yang akan diuji telah lolos pengujian di laboratorium secara tuntas, dilanjutkan dengan menggunakan hewan percobaan untuk kelayakan dan keamanannya. Hewan percobaan adalah setiap hewan yang dipergunakan pada sebuah penelitian biologis dan biomedis yang dipilih berdasarkan syarat atau standar dasar yang diperlukan dalam penelitian tersebut. Dalam menggunakan hewan percobaan untuk penelitian diperlukan pengetahuan yang cukup mengenai berbagai aspek tentang sarana biologis, dalam hal

penggunaan hewan percobaan laboratorium. Pengelolaan hewan percobaan diawali dengan pengadaan hewan, meliputi pemilihan dan seleksi jenis hewan yang cocok terhadap materi penelitian. Pengelolaan dilanjutkan dengan perawatan dan pemeliharaan hewan selama penelitian berlangsung, pengumpulan data, sampai akhirnya dilakukan terminasi hewan percobaan dalam penelitian

Rustiawan A, 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, daur hidup relatif pendek sehingga dapat dilakukan penelitian yang bersifat multigenerasi,
- (3) Pemilihan jenis hewan dapat disesuaikan dengan kepekaan hewan terhadap materi penelitian yang dilakukan,
- (4) Biaya relatif murah,
- (5) Dapat dilakukan pada penelitian yang berisiko tinggi,
- (6) Mendapatkan informasi lebih mendalam dari penelitian yang dilakukan karena kita dapat membuat sediaan biologi dari organ hewan yang digunakan,
- (7) Memperoleh data maksimum untuk keperluan penelitian simulasi,
- (8) Dapat digunakan untuk uji keamanan, diagnostik dan toksisitas

Penelitian yang memanfaatkan hewan coba, harus menggunakan hewan percobaan yang sehat dan berkualitas sesuai dengan materi penelitian. Hewan tersebut dikembangbiakkan dan dipelihara secara khusus dalam lingkungan yang diawasi dan dikontrol dengan ketat. Tujuannya adalah untuk mendapatkan defined laboratory animals sehingga sifat genotipe, fenotipe (efek maternal), dan sifat dramatipe (efek lingkungan terhadap fenotipe) menjadi konstan. Hal itu diperlukan agar penelitian bersifat reproducible, yaitu memberikan hasil yang sama apabila diulangi pada waktu lain, bahkan oleh peneliti lain. Penggunaan hewan yang berkualitas dapat mencegah pemborosan waktu, kesempatan, dan biaya. Berbagai hewan kecil memiliki karakteristik tertentu yang relatif serupa dengan manusia, sementara hewan lainnya mempunyai kesamaan dengan aspek fisiologis metabolis manusia. Tikus putih sering digunakan dalam menilai mutu protein, toksisitas, karsinogenik, dan kandungan pestisida dari suatu produk bahan pangan hasil pertanian.

Materi : Regulation and Ethical Consideration in Animal Experiments

Oleh : Dr. Raymod R Tjandrawinata, PhD

Hewan percobaan yang digunakan pada penelitian akan mengalami penderitaan, yaitu: ketidaknyamanan, ketidaksenangan, kesusahan, rasa nyeri, dan terkadang berakhir dengan kematian. Berdasarkan hal tersebut, hewan yang dikobankan dalam penelitian yang hasilnya dapat dimanfaatkan oleh manusia patut dihormati, mendapat perlakuan yang manusiawi, dipelihara dengan baik, dan diusahakan agar bisa disesuaikan pola kehidupannya seperti di alam. Peneliti yang akan memanfaatkan hewan percobaan pada penelitian kesehatan harus mengkaji kelayakan dan alasan pemanfaatan hewan dengan mempertimbangkan penderitaan yang akan dialami oleh hewan percobaan dan manfaat yang akan diperoleh untuk manusia

Dalam pelaksanaan penelitian, peneliti harus membuat dan menyesuaikan protokol dengan standar yang berlaku secara ilmiah dan etik penelitian kesehatan. Etik penelitian kesehatan secara umum tercantum dalam *World Medical Association*, yaitu: respect (menghormati hak dan martabat makhluk hidup, kebebasan memilih dan berkeinginan, serta bertanggung jawab terhadap dirinya, termasuk di dalamnya hewan coba), beneficiary (bermanfaat bagi manusia dan makhluk lain, manfaat yang didapatkan harus lebih besar dibandingkan dengan risiko yang diterima), dan justice (bersikap adil dalam memanfaatkan hewan percobaan). Contoh sikap tidak adil, antara lain: hewan disuntik/ dibedah berulang untuk menghemat jumlah hewan, memakai obat euthanasia yang menimbulkan rasa nyeri karena harga yang lebih murah.

Ilmuwan penelitian kesehatan yang menggunakan model hewan menyepakati bahwa hewan coba yang menderita dan mati untuk kepentingan manusia perlu dijamin kesejahteraannya dan diperlakukan secara manusiawi. Dalam penelitian kesehatan yang memanfaatkan hewan coba, juga harus diterapkan prinsip 3R dalam protokol penelitian, yaitu: replacement, reduction, dan refinement.

- *Replacement* adalah keperluan memanfaatkan hewan percobaan sudah diperhitungkan secara seksama, baik dari pengalaman terdahulu 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 (mengganti hewan percobaan dengan memakai organ/jaringan hewan dari rumah potong, hewan dari ordo lebih

rendah) dan absolut (mengganti hewan percobaan dengan kultur sel, jaringan, atau program komputer)

- *Reduction* diartikan sebagai pemanfaatan hewan dalam penelitian sesedikit mungkin, tetapi tetap mendapatkan hasil yang optimal. Jumlah minimum biasa dihitung menggunakan rumus Frederer yaitu $(n-1)(t-1) > 15$, dengan n adalah jumlah hewan yang diperlukan dan t adalah jumlah kelompok perlakuan. Kelemahan dari rumus itu 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. Pada dasarnya prinsip refinement berarti membebaskan hewan coba dari beberapa kondisi Yang pertama adalah bebas dari rasa lapar dan haus, dengan memberikan akses makanan dan air minum yang sesuai dengan jumlah yang memadai baik jumlah dan komposisi nutrisi untuk kesehatannya

Makanan dan air minum memadai dari kualitas, dibuktikan melalui analisa proximate makanan, analisis mutu air minum, dan uji kontaminasi secara berkala. Analisis pakan hewan untuk mendapatkan komposisi pakan, menggunakan metode standar. Kedua, hewan percobaan bebas dari ketidak-nyamanan, disediakan lingkungan bersih dan paling sesuai dengan biologi hewan percobaan yang dipilih, dengan perhatian terhadap: siklus cahaya, suhu, kelembaban lingkungan, dan fasilitas fisik seperti ukuran kandang untuk kebebasan bergerak, kebiasaan hewan untuk mengelompok atau menyendiri. Berikutnya, hewan coba harus bebas dari nyeri dan penyakit dengan menjalankan program kesehatan, pencegahan, dan pemantauan, serta pengobatan terhadap hewan percobaan jika diperlukan.

Penyakit dapat diobati dengan catatan tidak mengganggu penelitian yang sedang dijalankan. Bebas dari nyeri diusahakan dengan memilih prosedur yang meminimalisasi nyeri saat melakukan tindakan invasif, yaitu dengan menggunakan analgesia dan anesthesia ketika diperlukan. Euthanasia dilakukan dengan metode yang manusiawi oleh orang yang terlatih untuk meminimalisasi atau bahkan meniadakan penderitaan hewan coba. Hewan juga harus bebas dari ketakutan dan stress jangka panjang, dengan menciptakan lingkungan yang dapat

mencegah stress, misalnya memberikan masa adaptasi/aklimatisasi, memberikan latihan prosedur penelitian untuk hewan. Semua prosedur dilakukan oleh tenaga yang kompeten, terlatih, dan berpengalaman dalam merawat/memperlakukan hewan percobaan untuk meminimalisasi stres. Hewan diperbolehkan mengekspresikan tingkah laku alami dengan memberikan ruang dan fasilitas yang sesuai dengan kehidupan biologi dan tingkah laku spesies hewan percobaan.¹⁹ Hal tersebut dilakukan dengan memberikan sarana untuk kontak sosial (bagi spesies yang bersifat sosial), termasuk kontak sosial dengan peneliti; menempatkan hewan dalam kandang secara individual, berpasangan atau berkelompok; memberikan kesempatan dan kebebasan untuk berlari dan bermain.

Di dalam protokol penelitian harus dijelaskan secara rinci berbagai hal berikut: pemilihan, strain, asal hewan, aklimatisasi, pemeliharaan, tindakan yang direncanakan, (termasuk tindakan untuk meringankan/mengurangi rasa nyeri dan meniadakan penderitaan hewan), pihak yang bertanggung jawab terhadap perawatan hewan, dan cara menewaskan, serta cara membuang kadaver. Uraian perlakuan pada hewan percobaan dapat dianalogikan sebagai *informed consent* bagi hewan dan menjadi penilaian dalam etika penelitian yang menggunakan hewan coba.

Materi : Biosafety dan Biosecurity

11 Desember 2017

Oleh: Puslitbang Biomedis dan Teknologi Dasar Kemenkes RI

Biosafety adalah penerapan pengetahuan, teknik, dan peralatan untuk melindungi personil laboratorium, laboratorium, dan lingkungan dari paparan agen yang berpotensi menyebarkan penyakit. Sehingga, biosafety memerlukan tempat kerja khusus (containment) untuk mencegah agen biologis berbahaya (biohazard) tidak keluar dari lingkungan kerja dan mencegah risiko paparan patogen terhadap personil di laboratorium, orang di luar laboratorium, juga lingkungan laboratorium.

Selain aspek biosafety, diperlukan juga aspek lainnya yaitu biosecurity yang pada perkembangannya memiliki prinsip, suatu perlindungan agen biologis dan kimia dari suatu penyalahgunaan (bioterrorism). Tujuan biosecurity adalah mencegah, mengendalikan, dan mengelola risiko terhadap kehidupan dan kesehatan dari suatu ancaman tertentu. Beberapa ancaman (hazard) dapat ditimbulkan melalui agen-agen biologi berbahaya seperti: penularan agen biologis dari hewan ke manusia; penyebaran strain, spesies, tumbuhan, hewan, atau agen lain yang merusak tumbuhan; pengendalian organisme yang dimodifikasi dengan materi

genetik yang berpotensi mengganggu manusia dan lingkungan; serta spesies yang keberadaannya mengancam biodiversitas (Biosecurity WHO, 2010).

Secara sekilas, biosecurity dan biosafety memiliki kemiripan. Namun, bila ditelaah keduanya dapat dibedakan pada objek yang dilindungi. Jika, biosafety menitikberatkan pada manajemen dan desain laboratorium dengan tujuan melindungi staf laboratorium agar dapat bekerja secara aman di laboratorium. Adapun biosecurity, menitikberatkan pada penanganan objek penelitian agar aman bagi lingkungan. Oleh karena itu, diperlukan penilaian dan pemilihan jenis laboratorium yang akan digunakan dalam memulai suatu kegiatan penelitian. Pentingnya manajemen penilaian risiko (risk assessment) pada biosafety dan biosecurity yang dilakukan di awal penelitian dan dilanjutkan peninjauan dan revisi selama penelitian dilakukan.

Kita hidup dan tinggal di era yang tidak menentu dan selalu berubah dengan cepat, tidak terkecuali agen biologi dan penyakit. Bekerja di laboratorium dengan menggunakan objek suatu agen biologi sejatinya memerlukan sebuah keahlian dan keterampilan tersendiri. Hal ini digunakan untuk mengantisipasi risiko paparan agen biologis terhadap staf laboratorium atau lingkungannya. Diperlukan suatu organisasi laboratorium dengan manajemen yang baik untuk memastikan dan evaluasi efektivitas biosafety, kemahiran staf laboratorium, fasilitas, dan pengelolaan sebuah laboratorium. Demikian pula, masing-masing staf laboratorium diharapkan telah memiliki pengetahuan mengenai biosafety penanganan agen biologis, seperti mikroba patogen dan agen infeksi. lainnya, sehingga mengurangi paparan di laboratorium. Data yang dilaporkan oleh LAIs (*Laboratory-Associated Infections*) pada awal abad 20 mengungkap beberapa agen yang dapat menginfeksi pekerja di laboratorium antara lain: *Brucella spp.*, *Coxiella burnetii*, hepatitis B virus (HBV), *Salmonella typhi*, *Francisella tularensis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Blastomyces dermatitidis*, *Venezuelan equine encephalitis virus*, *Chlamydia psittaci*, dan *Coccidioides immitis* (US Department of Health, 2009)

Pengelompokan mikroorganisme berdasarkan risiko infeksi (US Department of Health, 2009)

1. Agen yang tidak menyebabkan penyakit pada manusia dewasa
2. Agen yang menyebabkan penyakit pada manusia dan jarang berakibat fatal
3. Agen yang menyebabkan penyakit yang serius dan mematikan pada manusia
4. Agen yang menyebabkan penyakit yang serius dan mematikan pada manusia

Penilaian risiko (risk assessment) penting dilakukan pada sebuah laboratorium mikrobiologi atau kesehatan demi meningkatkan keselamatan staf laboratorium. Penilaian

risiko dilakukan oleh seorang yang faham mengenai karakteristik spesifik organisme yang digunakan, peralatan dan prosedur penelitian, hewan model yang digunakan, serta perlengkapan dan fasilitas laboratorium yang tersedia, biasanya oleh kepala laboratorium atau principal investigator (PI) bertanggung jawab atas hal tersebut. Penilaian risiko adalah proses yang digunakan untuk mengenal karakteristik dari bahan atau agen yang digunakan sebelum dimulainya pekerjaan di laboratorium. Prinsip dari karakter berbahaya suatu agen adalah adanya kemampuan untuk menginfeksi dan penyebab penyakit pada manusia dan hewan serta tingkat keparahan dan ketersediaan suatu tindakan pencegahan dan pengobatan penyakit yang ditimbulkan.

Berbicara mengenai mikroorganism yang beresiko, akan berkaitan salah satunya dengan pemanfaatannya secara negatif untuk bioterrorism, contohnya sebuah kasus penyebaran *Salmonella typhimurium* di dalam suatu upaya untuk mempengaruhi jumlah pungutan suara dalam sebuah pemilihan umum yang terjadi di Amerika Serikat. Adapun agen biologi yang berpotensi dijadikan agen bioterorisme antara lain: 1) *Bacillus anthracis*, dengan melepaskan endospora dalam aerosol yang diperkirakan mengakibatkan mortalitas yang parah pada sebuah populasi; 2) *Francisella tularensis*, jika dilepaskan diudara akan menghasilkan tularemia tifoid, sering kali yang menyerang organ pernapasan dan sangat infeksius; 3) *Virus variola* (cacar air), dimana virus tersebut dapat menyebar lewat udara dan apabila menyerang suatu populasi yang tidak divaksinasi menyebabkan mortalitas 30% atau lebih tinggi. Untuk itu perlu dilakukan pengawasan objek penelitian terutama agen biologi berbahaya agar tidak terjadi penyalahgunaan (Sudarmono, 2015)

Biosafety Level

Agen biologi berbahaya memerlukan perlakuan khusus agar aman bagi staf laboratorium dan lingkungannya. Oleh karena itu, diperlukan metode, fasilitas, dan peralatan untuk mengelola agen biologi tersebut. Peralatan fasilitas keamanan diri diperlukan agar terhindar dari paparan agen biologi, contohnya adalah fasilitas Biosafety Cabinet (BSC) dengan beberapa tipe, yaitu tipe I, II, dan III. Fasilitas lainnya yang perlu diperhatikan dan acap kali dianggap remeh-temeh tetapi berperan penting dalam keamanan diri staf laboratorium, seperti penggunaan masker, sarung tangan, jas laboratorium, baju laboratorium, sepatu laboratorium, kaca mata laboratorium, dan lainnya. Pembangunan dan penyediaan fasilitas Laboratorium Biosafety Level (BSL) tingkat I, II, III, bahkan IV merupakan upaya dalam memerhatikan aspek biosafety dan biosecurity dalam proses penelitian di laboratorium.

Terdapat empat jenis BSL yang dibedakan berdasarkan agen biologi (kelompok risiko mikroorganismenya), semakin tinggi risiko mikroorganismenya yang digunakan dalam penelitian seharusnya diiringi dengan peningkatan fasilitas BSL yang disediakan. Tingkat BSL yang makin tinggi maka tingkat keamanan untuk staf laboratorium dan lingkungannya akan semakin tinggi. (US Department of Health, 2009)

1. *Biosafety Level 1 (BSL-1)* dengan karakteristik peralatan keamanan, fasilitas dan desain konstruksi lebih tepat digunakan untuk pembelajaran tingkat sekolah dan universitas jenjang sarjana. BSL-1 dapat digunakan sebagai laboratorium pelatihan dan pembelajaran, dan pekerjaan laboratorium lainnya yang mana dapat menggunakan mikroorganismenya yang tidak mengganggu kesehatan manusia dewasa. Beberapa bakteri seperti *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* dan *Nigeria gruber*
2. *Biosafety Level 2 (BSL-2)*, dengan karakteristik peralatan keamanan, fasilitas, dan desain konstruksi yang dapat digunakan untuk uji klinis, diagnostik, pembelajaran, dan pekerjaan laboratorium dengan agen dengan risiko yang sedang (mikroorganismenya risiko 2 dan tidak menyebar lewat udara. Beberapa pekerjaan untuk virus hepatitis B, Influenza A, *Salmonella*, dan *Toxoplasma* dapat dikerjakan di fasilitas laboratorium ini
3. *Biosafety Level 3 (BSL-3)*, dengan karakteristik peralatan keamanan, fasilitas, dan desain konstruksi yang dapat digunakan untuk uji klinis, diagnostik, pembelajaran, dan pekerjaan laboratorium dengan agen dengan risiko yang sedang-tinggi (mikroorganismenya risiko 3) dan berisiko menyebar lewat udara. Agen seperti *Mycobacterium tuberculosis*, HIV, St. Louis virus, dan *Coxiella burnetii* dapat ditangani pada BSL-3. Risiko utama yang ada pada BSL-3 adalah adanya paparan lewat udara, sehingga perlunya pembangunan laboratorium ini jauh dari pemukiman penduduk.
4. *Biosafety Level 4 (BSL-4)* digunakan untuk pengerjaan penelitian dengan agen yang berbahaya, dapat menyebar lewat udara, dan belum ada cara pencegahan dan pengobatannya. Agen yang biasanya digunakan di BSL 4 adalah virus Marburg, Ebola, Smallpox atau Congo-fever. Paparan melalui udara, selaput lendir, paparan kulit, tetesan sampel, dapat berpotensi menimbulkan risiko infeksi yang tinggi pada staf laboratorium, masyarakat, dan lingkungan.



Gambar 1. Perlengkapan keamanan diri untuk bekerja di laboratorium BSL 3. Bekerja pada jenis laboratorium ini memerlukan ketelitian dan keterampilan lebih dalam menangani objek penelitian dengan risiko tinggi

Fasilitas biosafety level, perlu ditunjang oleh beberapa manajemen khusus seperti

1. Perlunya pembentukan komisi untuk penilaian biosafety dalam penelitian di lembaga penelitian. Pembentukan Institutional Biosafety Comitee (IBC) yang terdiri dari beberapa orang Biological Safety Officer (BSO) berguna untuk pelayanan dalam penilaian risiko selama pada sebelum penelitian dan evaluasi setelah penelitian selesai.
2. Penggunaan vaksin untuk penyakit tertentu dapat meningkatkan perlindungan staf laboratorium sebelum melakukan pekerjaannya.
3. Setiap staf laboratorium terlebih dahulu diberikan pemahaman dan pelatihan mulai dari memahami karakteristik bahan kimia dan agen biologi yang digunakan serta teknik laboratorium yang baik dan benar.
4. Pemberian fasilitas cek kesehatan rutin pada staf laboratorium agar dapat mendeteksi risiko dini paparan agen berbahaya
5. Jika diperlukan, dapat bekerja sama dengan pihak ketiga dalam penyediaan rutin untuk pakaian lengkap laboratorium kondisi bersih dan penanganan pakaian lengkap laboratorium yang telah terpakai
6. Diperlukan prosedur pengolahan limbah untuk mencegah terlepasnya agen biologi atau bahan kimia

Materi : Introduction to Animal care and handling

Hari Ke 2 : 12 Desember 2017

Oleh : Prof. Drh. Ekowati Handharyani, PhD, PA Vet

Hewan coba banyak digunakan dalam studi eksperimental berbagai cabang medis dan ilmu pengetahuan dengan pertimbangan hasil penelitian tidak dapat diaplikasikan langsung pada manusia untuk alasan praktis dan etis. Pemakaian hewan coba untuk penelitian klinis pada manusia telah memberikan kontribusi besar terhadap pemahaman tentang berbagai proses fisiologis dan patologis yang mempengaruhi manusia.

Rodensia atau hewan pengerat merupakan hewan coba yang banyak digunakan dalam penelitian, yaitu mencapai sekitar 69% karena murah dan mudah untuk ditangani, rentang hidup yang singkat, mudah beradaptasi pada kondisi sekitarnya dan tingkat reproduksi yang cepat sehingga memungkinkan untuk penelitian proses biologis pada semua tahap siklus hidup.

Tikus dan mencit merupakan hewan rodensia banyak digunakan dalam penelitian. Tikus sebagai “mouse model” sangat cocok untuk penelitian penyakit pada manusia dengan adanya kesamaan organisasi DNA dan ekspresi gen dimana 98% gen manusia memiliki gen yang sebanding dengan gen tikus. Tikus juga memiliki kesamaan dengan manusia dalam sistem reproduksi, sistem syaraf, penyakit (kanker, diabetes) dan bahkan kecemasan. Melalui penelitian manipulasi gen tikus dapat dipakai untuk pengembangan pengobatan penyakit manusia, membantu memahami fisiologis manusia dan penyebab penyakit

Strain tikus telah banyak digunakan sebagai hewan model penyakit cukup lama jauh sebelum ada proyek genom dan transgenik tikus. Ada sejumlah besar tikus strain laboratorium (*Rattus norvegicus*) yang tersedia, dan dalam sejarah pemuliaan menunjukkan bahwa strain tikus laboratorium merupakan strain tunggal yang isogenik dan hal ini sangat penting karena dapat mengurangi variasi alami diantara species.

Rodensia lainnya seperti kelinci dan marmot juga banyak dipakai sebagai subyek penelitian. Kelinci termasuk keluarga Leporidae dari ordo Lagomorpha (Pearce et al. 2007) sedangkan marmot (*Cavia porcellus*), termasuk famili Caviidae dan genus *Cavia*. Beberapa alasan mengapa kelinci dan marmot banyak digunakan sebagai hewan coba dalam penelitian adalah selain karena pertimbangan praktis, ke dua hewan model tersebut adalah yaitu hewan sangat jinak dan lembut, juga karena mudah untuk ditangani dan memerlukan perawatan yang relatif murah serta dapat berkembangbiak secara cepat

Mencit

Strain mencit yang digunakan saat ini dan yang berkembang adalah dari galur *Mus musculus domesticus*, *M.m. musculus* dan *M.m. molossius*, dan turunan dari masing-masing substrains tersebut Mencit biasanya tidak agresif sehingga mudah ditangani, namun dapat juga menggigit jika mengalami ketakutan. Beberapa strain mencit ada yang agresif dan dapat menimbulkan gigitan menyakitkan



Gambar 2. Morfologi Mencit

Average Adult Weight 20 – 40 gm

Average Life Span ~ 2yrs

Body temperature 97 – 100 °F

Average Gestation 21 days

Sistem Perkandangan Mencit Ukuran optimal untuk penempatan sekelompok mencit dewasa adalah terdiri dari 3-5 ekor mencit betina dan 3 ekor pejantan. Mencit jantan cenderung lebih sosial dan toleran terhadap pejantan lain ketika dikelompokkan sebelum kematangan seksual. Selama mencit jantan dikandangkan dalam struktur dan ruangan yang memadai seperti tersedia terowongan, rak, atau partisi ruang untuk bersembunyi dari mencit sejenis, indeks fisiologis stres akan berkurang dalam kondisi berpasangan atau kelompok dibandingkan dengan kondisi individual.

Ruangan fasilitas kandang untuk mencit harus memenuhi kebutuhan fisiologis dasar dan perilaku termasuk makan, minum, buang air kecil, buang air besar, akses hijauan, eksplorasi, menggerogoti, sembunyi, memanjat, bermain, menggali sarang dalam berbagai kegiatan sosial. Luas minimal lantai kandang mencit individual adalah 250 cm², sedangkan untuk 2 ekor mencit luas lantai minimal adalah 500 cm² dengan tambahan luas lantai minimal 60 cm² per tambahan satu ekor tikus dewasa dalam kelompok yang lebih besar. Ketinggian kandang harus memungkinkan tikus untuk berdiri di atas kaki belakangnya, meregangkan badan sepenuhnya dan memanjat pada bar tutup kandang.



Gambar 3. Sistem Perkandangan Mencit atau Tikus

Kebutuhan air minum mencit adalah 15 ml/100 gram/hari (sekitar 5-8 ml/ekor/hari) sedangkan kebutuhan berat pakan kering 15 gram/100 gram/hari (sekitar 48 gram/ekor/hari). Pakan dan asupan air minum dipengaruhi oleh kondisi suhu lingkungan, misal kenaikan suhu udara 29-33 °C membuat asupan pakan mencit berkurang secara nyata. Mencit juga harus mendapatkan akses air minum ad libitum, dan air minum tidak boleh tercemar mikroorganisme, untuk itu harus dilakukan treatment pada air terlebih dahulu untuk mengurangi tingkat kontaminasi mikroba. Seperti halnya dengan spesies nocturnal lainnya, hingga 85% konsumsi makanan dan air minum pada mencit terjadi dalam beberapa jam pada fase gelap, meskipun makanan kecil dapat dimakan sepanjang hari

Cara Penanganan Mencit

Mencit umumnya mudah ditangani dan dikendalikan, tetapi karena ukuran tubuhnya yang kecil sehingga rentan terhadap cedera fisik jika jatuh karena beberapa mencit sangat aktif dan bahkan dapat melompat. Teknik untuk mengangkat mencit dilakukan dengan memegang bagian ekor pada sepertiga proksimal, selanjutnya ditempatkan pada permukaan yang kasar seperti permukaan kandang dan kemudian tengkuk mencit dipegang di antara ibu jari dan jari telunjuk, sementara ekor tetap dipegang Gambar 4



Gambar 4. Teknik Handling mencit dengan benar, Kuat tapi lembut dan tidak menyakitkan mencit (Foto Koleksi KKHB, fotografer April WH, 2016)

Teknik memindahkan mencit secara cepat, misalnya melakukan transfer mencit ke kandang baru dapat menggunakan forcep dengan cara mengangkat bagian ekor atau dengan memegang kulit yang longgar di bagian belakang secara lembut, dan kemudian dengan cepat di transfer ke kandang baru. Sarung tangan atau forcep harus dibersihkan dengan desinfektan seperti vircon setiap kali memindahkan mencit dari kelompok lainnya.

Koleksi Darah

Prosedur koleksi darah:

1. Banyaknya volume darah terbanyak ketika koleksi darah pada hewan laboratorium yang disarankan adalah 1,5% dari total berat tubuh hewan dan kemudian tidak boleh dilakukan lagi selama 2 minggu untuk memungkinkan konstituen darah kembali normal. Jika koleksi darah perlu dilakukan interval mingguan maka banyaknya volume darah yang dapat dikoleksi secara aman adalah 0,5% dari berat badan.
2. Injeksi intravena untuk memasukkan obat atau cairan harus dilakukan secara perlahan untuk menghindari shock pada mencit.
3. Injeksi intramuskuler harus dilakukan secara perlahan untuk mengurangi rasa sakit pada area suntikan.
4. Banyaknya volume darah yang dapat dikoleksi dari mencit dewasa (78-80 ml/kg) yaitu sekitar 10% dari berat tubuh

Injeksi cairan atau obat

Setiap melakukan injeksi pada mencit perlu digunakan jarum suntik baru dan steril, serta selalu menyuntikkan dengan bevel jarum menghadap ke atas. Ukuran jarum dan banyaknya volume cairan yang disuntikan untuk mencit seperti Tabel berikut

Tabel 1. Ukuran jarum dan volume cairan yang direkomendasikan untuk injeksi mencit

Tipe Injeksi	Ukuran Jarum	Volume
Intraperitoneal (IP)	25-27G	0,1 ml/ BB
Subkutan (SC)	25G	2-3 ml
Intramuskular (IM)	27G	50-100 μ l per area, pada otot <i>quadriceps</i>
Intravena	26-28G	200 μ l, vena lateral

Teknik injeksi untuk memasukkan cairan obat ke tubuh mencit dapat dilakukan dengan beberapa cara sebagai berikut:

1. Injeksi intraperitoneal

Suntikan intraperitoneal dapat dilakukan pada bagian kuadran posterior abdomen (Gambar 5). Mencit dipegang pada bagian punggungnya, jarum diinjeksikan di posisi bawah lekukan lutut; kiri atau kanan dari garis tengah. Hindari melakukan injeksi pada garis tengah untuk mencegah penetrasi ke dalam kandung kemih. Sudut kemiringan jarum sekitar 45° ke tubuh



Gambar 5. Teknik injeksi intraperitoneal pada mencit
(Foto Koleksi KKHB, fotografer April WH, 2016)

2. Injeksi subkutan

Injeksi subkutan dapat dilakukan pada bagian tengkuk leher atau di area kulit yang longga sepanjang punggung mencit (Gambar 6). Perlu kehati-hatian dalam mengarahkan jarum ke tengkuk supaya tidak mengenai jari petugas. Suntikan Subkutan dilakukan dengan sudut 45° pada kulit yang sedikit diangkat. Namun, jika menggunakan jarum insulin yang lebih pendek (5, 6 atau 8 mm), direkomendasi sudut suntikan 90° .



Gambar 6. Teknik injeksi subkutan pada mencit
(Foto Koleksi KKHB, fotografer April WH, 2016)

3. Injeksi intramuskuler

Injeksi intramuskuler hanya digunakan jika suntikan dengan teknik lain tidak memungkinkan, karena teknik tersebut sangat menyakitkan. Injeksi dilakukan sepanjang otot kaki belakang menggunakan jarum sejajar miring ke tulang paha (untuk menghindari saraf sciatic). Karena massa otot mencit begitu kecil, prinsip kehati-hatian harus dilakukan untuk injeksi, menggunakan jarum ukuran kecil dengan volume kecil. Suntikan intramuskuler dapat pula dilakukan pada otot paha depan dibagian anterior (Gambar 7)



Gambar 7 Injeksi intramuskuler pada mencit
(Foto Koleksi KKHB, fotografer April WH, 2016)

4. Injeksi intravena

Pembuluh darah mencit dilebarkan dengan cara menghangatkan badan mencit terlebih dahulu sebelum dimasukkan dalam restrainer. Metode lain untuk melebarkan pembuluh darah yaitu dengan cara mengoleskan alkohol pada bagian ekor mencit. Jarum dimasukkan pada salah satu pembuluh darah lateral ekor serendah mungkin menuju ujung ekor, karena vena di bagian ujung sangat dangkal dan lebih dalam lagi di bagian pangkal ekor. (Gambar 8)



Gambar 8 Injeksi intravena pada pangkal ekor mencit

Anastesi

Faktor utama yang perlu dipertimbangkan dalam memilih teknik anestesia pada mencit adalah strain, umur, berat badan, model penyakit dan jenis prosedur eksperimental yang akan digunakan. Jenis kelamin mencit mempengaruhi farmakokinetik dan metabolisme anestesia karena adanya perbedaan kortikosteroid dalam plasma, hormon seksual, atau enzim hati (Hildebrandt et al. 2008). Sebagai contoh, dosis ketamin untuk mencit betina yang dibutuhkan lebih tinggi dibandingkan mencit jantan.

Perawatan pre-anestesia dan pemilihan teknik yang cocok pada mencit dapat mengurangi insiden komplikasi yang dapat terjadi dalam pemberian anestesia. Mencit tidak perlu dipuasakan sebelum anestesia diberikan karena mencit tidak mempunyai reflek muntah. Puasa yang berkepanjangan dapat menyebabkan hipoglikemia karena cadangan glikogen hati mencit rendah (Rao dan Verkman 2000).

Pre-anestesi transquilizer dan analgesika dapat diberikan pada mencit untuk mengurangi ketakutan, stress dan mempercepat fase pemulihan, mengurangi dosis dan efek samping dari agen anestesia. Dianjurkan untuk meminimalisasi stress yang disebabkan oleh pemberian multiple suntikan pada saat pemberian anestesia. Pemberian atropin (0,04 mg/ kg SC, IP, atau IM) direkomendasikan pada mencit sebelum induksi anestesia untuk mengurangi sekresi bronkial dan saliva serta melindungi jantung dari penyumbatan. Atropin dapat dicampur dengan agen yang mudah larut dalam air lainnya serta diberikan 10 menit sebelum induksi intramuskuler.

1. Anastesia injeksi

Anestesia injeksi pada mencit dapat diberikan melalui rute IP, IM, atau IV. Rute SC tidak dapat diprediksi untuk induksi anestesi karena tingkat penyerapan lambat. Volume injeksi harus dipertimbangkan dengan cermat sesuai dengan ketersediaan obat. Volume obat yang memadai untuk rute IP berkisar 0,1-1 ml, rute IV 0,05-0,2 ml dan rute IM tidak melebihi 0,05 ml pada mencit dewasa Dosis berbagai anestesia pada mencit tercantum pada Tabel 2.

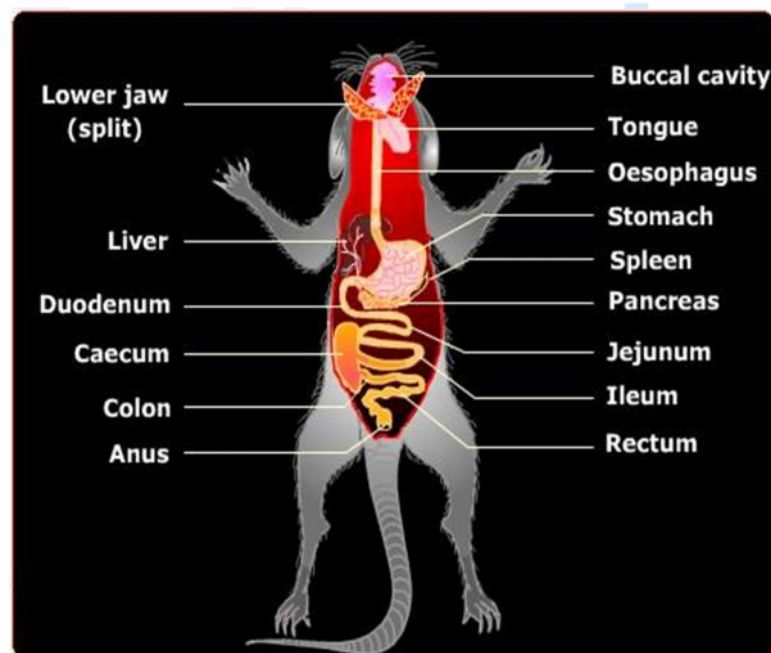
Tabel 2. Rekomendasi dosis berbagai agen anestesi pada mencit.

Agen anestesia	Dosis	Keterangan	Referensi
Pentobarbital	50-90 mg/kg IP	Depresi respiratori, hipotensi; Durasi lama	cardio Flecknell (1989), Kohn et al. (1997), Hildebrand et al. (2008)
Thiopental	30-40 mg/kg IP	Depresi respiratori, hipotensi; Durasi pendek	cardio Flecknell (1989), Hildebrand et al. (2008)
Tribromo ethanol	240 mg/kg IP	Peritonitis, intestinalileus, perlengketan; Kematian (pemberian ke dua)	dosis Zeller et al. (1997) Flecknell (1989) Arras et al. (2001) Meyer & Fish (2005)
Ketamin	80-100 mg/kg IP	Sedativa	Xu et al.(2007)
Tiletamin+ zolazepam	40-80 mg/kg IP	Sedativa	Flecknell (1989)
Ketamin+ xylazine	100/10 mg/kg IP 65/4 mg/kg IP 100/5 mg/kg IP 100/1.25 mg/kg IP	$\alpha 2$ agonist reversible dengan atipamezole 1mg/kg IP; untuk Durasi anestesia panjang Dosis ketamine yang diperlukan $\frac{1}{4}$ – $\frac{1}{2}$	Flecknell (1989) Buitrago et al (2008) Chari et al. (2001) Roth et al. (2001) Janseen et al. (2004) Schaefer et al.(2005)
Ketamin + medetomidin	75/1 mg /kg IP Betina 75/1mg/kg Jantan 50/1mg/kg	$\alpha 2$ agonist reversible dengan atipamezole 1mg/kg IP; Depresi respirasi moderat	Voipio et al. (1988) Flecknell (1989) Taylor et al. (2000) Cruz et al. (1998)
S-Ketamin + medetomidine Racemic ketamin + medetomidine	75 mg /kg + 0,25 Mg /kg 50 mg /kg + 0,25 mg/kg	$\alpha 2$ agonist reversible dengan atipamezole 1mg/kg IP Durasi pendek dan fase pemulihan lebih cepat dibandingkan Racemic ketamin	Kilic & Henke (2004)

Tikus

Tikus sebagai hewan coba di laboratorium yang paling umum digunakan adalah tikus Norwegia yang telah berevolusi menjadi *Rattus norvegicus* yang hidup terutama dalam liang di tanah. Berdasarkan perilaku alami, semua spesies rodensia termasuk tikus adalah species sosial dan harus rutin ditempatkan berpasangan atau kelompok, dengan beberapa pengecualian. Semua spesies tikus perlu ditempatkan dalam kandang dengan populasi tidak terlalu padat perlu dipertimbangkan pada saat di buat kelompok atau konfigurasi kandang yang dapat menghambat visualisasi antara hewan sehingga meminimalkan interaksi agonistik.

Tikus memiliki, mata samping yang kecil, dan relatif kurang bagus visinya dengan bidang teropong yang lebih kecil daripada mata manusia sehingga menghasilkan persepsi kedalaman yang rendah. Kemungkinan tikus memiliki beberapa penglihatan warna, khususnya dalam spektrum warna biru-hijau. Gambar 9



Gambar 9. Anatomi dan Morfologi Tikus

Average Adult Weight 250 – 500 gm

Average Life Span ~ 2-3 yrs

Body temperature 97 – 100 °F

Average Gestation 21 days

Teknik Handling Tikus

Tikus dipegang dengan lembut dengan memegang seluruh tubuh secara tegas serta meminimalkan gerakan hewan. Memegang tikus terlalu kuat dapat mengganggu pernapasan dan akan menyebabkan sianosis. Sebuah studi yang membandingkan metode penanganan pada hewan pengerat menunjukkan habituasi lebih cepat untuk scruffing daripada mengencangkan dengan melingkari tubuhnya, penggunaan plastik kerucut, atau handling ekor, yang diukur dengan denyut jantung ke tingkat istirahat dengan alat *telemeter-instrumented rat*.



Gambar 10. Cara memegang dan mengangkat tikus

Periode penanganan harian yang singkat akan mengurangi kecemasan pada mencit dan meningkatkan pembelajaran untuk jangka panjang (Castaneda et al., 2008). Meskipun mencit biasanya diangkat pada bagian ekor, namun teknik ini menyebabkan lebih banyak kecemasan dan ketakutan dari pada mengangkat dengan menggunakan tangan. Tikus yang diangkat pada bagian ekornya menunjukkan gejala buang air kecil dan buang air lebih besar lebih sedikit dibandingkan dengan mencit yang ditangani secara langsung. Beberapa jenis penanganan dengan sentuhan pada tikus penelitian akan lebih menyenangkan dan, meningkatkan kesejahteraan. Menggelitik tikus (pada leher dan perut) akan merangsang 50 vokalisasi kHz yang berhubungan dengan kesenangan dan kondisi emosional yang positif.

Cara Pengambilan Darah Tikus

Pengambilan darah pada hewan pengerat harus dilakukan oleh personil yang terlatih agar meminimalkan terjadinya sakit dan stress. Dalam semua kasus, koleksi darah tanpa cairan pengganti hanya diperbolehkan 10% dari total volume sirkulasi darah dari hewan yang sehat selama periode 2 minggu; kecuali dinyatakan dan disetujui oleh Komite etik. Rata-rata, total volume sirkulasi darah sama dengan 6-8 % dari berat tubuh hewan atau 6-8 ml darah per 100 gram bobot badan. Jika jumlah yang lebih besar diperlukan, maka hingga 15 % dari total volume sirkulasi darah dapat dilakukan dan cairan pengganti harus diberikan pada saat pengambilan darah. Pengambilan 15 % dari total volume darah harus dijelaskan dalam protokol hewan dan disetujui oleh komisi etik.

Menurut prosedur, pengambilan darah yang aman adalah sebagai berikut :

1. 10-15 % dari total volume darah atau 1% dari bobot badan adalah jumlah maksimum volume darah yang dapat dikoleksi dalam satu kali pengambilan darah.
2. Volume darah hewan dapat kembali dalam 24 jam namun eritrosit dan retikulosit mungkin belum mencapai jumlah normal dalam waktu dua minggu.
3. Pengambilan darah setiap hari dimungkinkan namun harus dipertimbangkan adanya faktor stress atau mungkin diperlukan anestesia.
4. Pengambilan darah sebanyak 2% dari total volume darah diperbolehkan namun dengan mengganti cairan pengganti steril yang hangat pada saat pengambilan darah yang diberikan secara intravena dengan volume sebanyak 2. kali dari total darah yang diambil secara perlahan dengan kecepatan yang sama. Jika pemberian cairan secara intravena tidak memungkinkan maka dapat diberikan secara intraperitoneal atau subkutan.
5. Kehilangan darah sebanyak 15-25 % dapat meningkatkan konsentrasi plasma epineprin, norepineprin dan kortisteron sebagai upaya untuk menurunkan level plasma konsentrasi glukosa.
6. Kehilangan darah sebanyak 20-25 % dapat menurunkan tekanan darah arteri, output jantung dan pengiriman oksigen ke organ vital dan akan menyebabkan hipovolemia serta gagal jantung (cardiac shock).

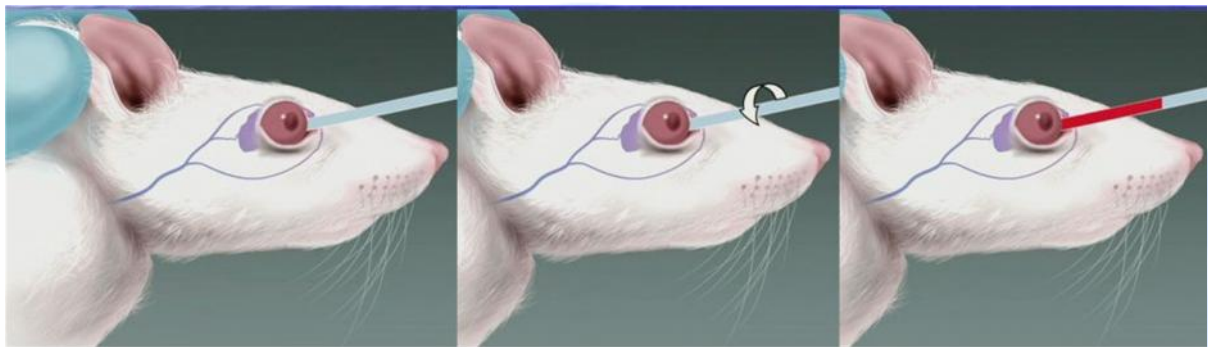
Beberapa Tempat pengambilan darah pada tikus

1. *Vena submandibular atau vena wajah tikus*

Koleksi darah dari vena wajah submandibularis adalah teknik yang aman dan cepat pada tikus yang membutuhkan handling dengan tangan. Sebanyak 200 µl darah dapat diperoleh dengan mudah dari tikus dewasa yang sehat.

2. *Sinus Retro-orbital / Plexus sampel*

Sebelum melakukan pengambilan darah dengan metode ini, tikus dibius terlebih dahulu. Lokasi pengambilan darah pada sinus retro-orbitalis pada tikus atau plexus dengan menggunakan pipet Pasteur. Aplikasi dapat dilakukan dengan menusukkan pipet pada sudut kemiringan 45 °C Metode ini dapat menghasilkan volume darah dalam jumlah besar, namun dapat mengakibatkan trauma pada mata. Sampel dapat diperoleh pada kedua mata secara bergantian



Gambar 11. Pengambilan darah pada *Sinus Retro-orbital / Plexus sampel*

3. *Vena Lateral atau Arteri Ventral Ekor*

Sampel darah dapat diperoleh dengan mudah pada saluran perpendikularis pada permukaan ekor. Pengambilan sampel darah melalui vena lateral atau arteri ventral ekor mudah dilakukan, tetapi sampel yang dihasilkan kualitasnya akan bervariasi

karena kemungkinan dapat terkontaminasi dengan produk jaringan dan kulit namun dengan teknik ini pengulangan pengambilan darah sangat dimungkinkan

4. *Vena lateral saphenous*

Koleksi sampel darah melalui vena lateral saphenous sangat mudah dilakukan pada tikus. Bulu disibakkan kemudian di gunakan sedikit minyak jelly lalu digunakan *tourniquet* untuk menutup saluran vena dan "pompa" kaki untuk membantu dalam visualisasi saluran. Jarum ditusukan pada saluran perpendikularis kaki dan kumpulkan darah dapat ditampung dalam tabung koleksi.

5. *Koleksi Darah dari cardiac puncture*

Cardiac puncture (tusuk jantung) adalah teknik koleksi darah yang cocok pada semua strain tikus untuk mendapatkan darah dalam volume besar dan tujuan akhir eutanasia atau di bawah kondisi anestesia. Sebanyak 1-25 ml darah dapat diperoleh dari seekor tikus, namun tergantung pula dengan ukuran tubuh tikus dan juga tergantung apakah jantung masih berdenyut. Ukuran jarum yang digunakan untuk *cardiac puncture* adalah 20-21 G pada jantung bagian ventrikel, baik melalui torakotomi atau sisi kiri dada. Darah harus ditarik secara perlahan untuk mencegah jantung runtuh.



Gambar 12. Pengambilan darah pada Intracardiac tikus

Anestesia pada Tikus

Tikus tidak perlu dipuasakan sebelum anestesi karena tidak mempunyai kemampuan/reflek muntah. Tikus dapat di anestesia dengan inhalasi gas atau obat suntik. Penggunaan gas inhalasia merupakan metode anestesia yang disukai. Selama dalam kondisi ternastesi tikus akan kehilangan panas secara cepat sehingga badan tikus perlu dibuat hangat dengan menutupi memakai kasa pad atau handuk dan/ atau menyediakan sumber panas sampai hewan telah pulih dari anestesi. Jangan pernah meninggalkan hewan dalam kondisi teranestesi tanpa pengawasan. Jenis dan dosis anestesi pada tikus seperti tercantum pada Tabel 3

Tabel 3. Agen dan Dosis Anestesia pada Tikus

Jenis Anestesia	Dosis	Durasi Anestesi
Ketamin/xylazin	Ketamin 40-100 mg/kg IP xylazin 5-13 mg/kg IP	60-80 menit
Ketamin/xylazin <i>cocktail*</i>	KX <i>cocktail</i> 0,1 mL/100g BB, IP, terdiri dari: 91 mg/kg Ketamin 9,1 mg/kg Xylazin	60-80 menit
Ketamin/xylazin/ acepromazine	Ketamin 20-50 mg/kg IP xylazin 2-10 mg/kg IP acepromazine 0,5-1,5 mg/kg IP	60-120 menit
Pentobarbital	30-50 mg/kg IP	90-120 menit

Teknik injeksi untuk Anestesia dan analgesia harus diberikan kepada hewan pengerat yang menjalani operasi untuk mengoptimalkan perawatan mereka. Banyak obat yang digunakan untuk mengobati nyeri memiliki waktu paruh pendek untuk spesies tikus, sehingga hewan harus dimonitor untuk indeks perilaku nyeri dan distress Gambar 12



Gambar 12. Teknik injeksi anestesia pada intraperitoneal tikus

DAFTAR PUSTAKA

- Castañeda S, Largo R, Calvo E, Rodríguez-Salvanés F, Marcos ME, Díaz-Curiel M, et al. 2006. Bone mineral measurements of subchondral and trabecular bone in healthy and osteoporotic rabbits. *Skeletal Radiol*.35:34-41
- Hildebrandt IJ, SU H, Weber WA. 2008. Anesthesia and other considerations for in vivo imaging of small animals. *ILAR J* 49:17-26
- Pearce AI, Richards RG, Milz S, Schneider E, Pearce SG. 2007. Animal models for implant biomaterial research in bone: A review. *Eur Cell Mater*.13:1-10.
- Ridwan E, 2013. Etika Pemanfaatan Hewan Percobaan dalam Penelitian Kesehatan. *J Indon Med Assoc*; 63:112-6
- Rao S, Verkman AS. 2000. Analysis of organ physiology in transgenic mice. *Am J Physiol Cell Physiol* 279:C1-C18
- Sudarmono, Pratiwi. 2015. Biosecurity dalam Kedokteran dan Kesehatan. *eJKI*.Vol 3 (1): 1-7
- Tim PRVKP FKUI-RSCM. 2016. Biosafety dan Biosecurity: Di dalam Laboratorium Biomedik dan dalam Praktik Teknik Biomedik. PRVKP UI RSCM. Jakarta
- US Department of Health and Human Services. 2009. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories 5th Editio

LAMPIRAN
FOTO KEGIATAN WORKSHOP





ggul

ggul

ggul

iversita
sa U

iversita
sa U

Universita
Esa U

Universitas
Esa Unggul