



PETUNJUK PRAKTIKUM FARMAKOLOGI



Disusun oleh:
apt. Rizal Fauzi, M.Clin.Pharm
apt. RA. Dewinta Sukma Ananda, M. Biomed

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ALMA ATA
YOGYAKARTA
2023**

DAFTAR ISI

JUDUL	1
DAFTAR ISI	2
HALAMAN PENGESAHAN.....	3
KATA PENGANTAR	4
CONTOH LAPORAN RESMI	5
TATA TERTIB.....	6
PETUNJUK KERJA LABORATORIUM FARMAKOLOGI	7
CARA KERJA DENGAN BINATANG PERCOBAAN	8
PERCOBAAN I Pengaruh Cara Pemberian Terhadap Absorpsi Obat	14
PERCOBAAN II Analgetika.....	17
PERCOBAAN III Anti Inflamasi.....	19
PERCOBAAN IV Efek Sedasi.....	23
PERCOBAAN V Anti Diare (Metode Transit Intestinal).....	25
PERCOBAAN VI Anti Diare (Metode Proteksi <i>Oleum ricini</i>).....	28
PERCOBAAN VII Uji Toksisitas Akut.....	31

LEMBAR PENGESAHAN

Petunjuk Praktikum Farmakologi (FA015)
Disahkan di Yogyakarta pada Bulan Februari 2023

Ketua Program Studi Sarjana Farmasi



Apt Rizal Fauzi, M. Clin Pharm.

Koordinator Praktikum (LnO),



Apt Rizal Fauzi, M. Clin Pharm.

Mengetahui,

Dekan Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan



DR. Yhona Paramanitya, S.Gz., Dietisien., M.P.h

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobbil'alamin

Puji syukur kehadiran Allah yang telah melimpahkan rahmad dan Ridho serta petunjukNya sehingga buku Petunjuk Praktikum Farmakologi Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Alma Ata dapat tersusun.

Tersusunnya buku petunjuk ini diharapkan dapat membantu mahasiswa dalam melakukan praktikum Farmakologi dengan baik. Praktikum Farmakologi dilakukan agar mahasiswa dapat melihat khasiat obat pada hewan percobaan, factor-faktor yang mempengaruhi khasiat obat, pemberian perlakuan bersama obat lain serta mengetahui bagaimana efek toksik obat. Mahasiswa diharapkan mempunyai ketrampilan melakukan percobaan dengan hewan coba setelah melakukan praktikum farmakologi.

Penyusun berharap semoga buku petunjuk praktikum ini bermanfaat bagi yang menggunakan

Yogyakarta, 2023
Penyusun

**LABORATORIUM FARMAKOLOGI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
PROGRAM STUDI FARMASI
UNIVERSITAS ALMA ATA**

LAPORAN RESMI PRAKTIKUM FARMAKOLOGI

Nama :
NIM :
Golongan :
Tanggal :
Judul Percobaan :
Dosen Pembimbing :

- I. Pendahuluan**
 - A. Tujuan Percobaan
 - B. Latar Belakang dan Teori
- II. Alat dan Bahan**
- III. Cara Kerja**
- IV. Hasil Percobaan dan Pembahasan**
- V. Pembahasan**
- VI. Kesimpulan**
- VII. Daftar Pustaka**
- VIII. Lampiran (bisa berupa foto atau perhitungan)**

TATA TERTIB PRAKTIKUM

Mahasiswa yang diperkenankan melakukan praktikum adalah mereka yang terdaftar secara akademik, yang selanjutnya disebut sebagai Praktikan.

Berikut tata tertib Praktikum Farmakologi 2023:

1. Mahasiswa **melakukan pretes** dengan dosen pembimbing terhadap materi yang akan dipraktikkan **1 minggu sebelumnya**, mahasiswa diperkenankan praktikum apabila sudah lulus pretes dengan **bukti acc dari dosen** pada laporan sementara
2. Praktikan wajib hadir 10 menit sebelum praktikum dimulai, **keterlambatan lebih dari 15 menit** sejak praktikum dimulai tanpa ada alasan yang dapat diterima, praktikan boleh mengikuti praktikum tapi tidak memperoleh **nilai praktikum** dan **nilai laporan**.
3. Setelah praktikum dibuka oleh asissten akan dilakukan **mini kuis**
4. Praktikan memasuki ruang laboratorium dengan mengenakan jas praktikum
5. Praktikan wajib membawa: laporan sementara yang sudah disahkan (ACC), laporan resmi hasil praktikum, tabung reaksi, pipet tetes, serbet, tisu, sarung tangan dan masker
6. Praktikan wajib mengisi daftar presensi
7. Praktikan tidak diperbolehkan makan, minum dan atau merokok di dalam laboratorium selama praktikum berlangsung.
8. Praktikan tidak diperbolehkan bersenda gurau yang mengakibatkan terganggunya kelancaran praktikum
9. Praktikan bertanggung jawab atas peralatan yang dipinjamnya, kebersihan meja masing-masing, serta lantai disekitarnya
10. Jika akan meninggalkan ruang laboratorium, praktikan wajib meminta ijin kepada dosen atau asisten jaga

PETUNJUK KERJA
LABORATORIUM FARMAKOLOGI

1. Sebelum mulai kerja perlu mempelajari serta memahami petunjuk dan prosedur percobaan
2. Tiga hal yang perlu diperhatikan selama bekerja di laboratorium Farmakologi.

a. Kebersihan

Selama bekerja, dijaga kebersihan laboratorium dan memakai jas praktikum yang bersih serta name tag. Setelah selesai melakukan percobaan, bersihkan dan keringkan alat-alat cuci wadah binatang dan kembalikan ketempat semula, kertas-kertas dan benda-benda lain yang tidak berguna dimasukkan ke dalam keranjang sampah dan tinggalkan laboratorium dalam keadaan bersih, rapi, seperti pada waktu anda memasukinya.

Sampah fisiologis seperti sisa jaringan, sampel darah, atau hewen mati, perlu dibungkus plastic untuk selanjutnya di insinerasi (diabukan) atau di pendam.

b. Ketepatan

Ketepatan yang harus diperhatikan :

- 1) Ketepatan dalam menimbang
- 2) Ketepatan dalam mengukur volume larutan, suspense atau sediaan obat lain yang akan diberikan.
- 3) Ketepatan dalam menentukan dosis obat yang akan diberikan

c. Pengamatan

Percobaan akan memberikan hasil yang baik jika pengamatan dilakukan secara layak. Setiap perubahan yang terjadi harus segera dicatat.

3. Peserta pratikum harus datang tepat pada waktunya. Bagi yang berhalangan hadir, wajib memberikan keterangan yang jelas dan menghubungi koordinator praktikum guna mengganti hari praktikum.
4. Setiap kali praktikum, akan diadakan test untuk masing-masing percobaan. Jadwal test sesuai dengan jadwal dan dengan kesepakatan asisten

5. Setiap siswa harus mengikuti semua materi praktikum. Responsi hanya bisa ditempuh apabila mahasiswa telah mengikuti semua materi praktikum. Apabila semua materi praktikum tidak bisa diikuti mahasiswa dinyatakan gugur praktikumnya dan dipersilahkan mengikuti pada tahun berikutnya.
6. Peserta praktikum tidak boleh meninggalkan laboratorium selama praktikum berlangsung, kecuali ijin khusus dari pembimbing praktikum.
7. Rombongan praktikum akan dibagi menjadi kelompok-kelompok, setiap kelompok bertanggung jawab atas peralatan yang dipakai, dan percobaan yang dilakukan
8. Laporan praktikum harus diserahkan sebelum acara praktikum hari berikutnya dimulai
9. Binatang percobaan diperlakukan dengan penuh kasih sayang. Hal ini akan membantu praktikum dalam melakukan percobaan dan mengurangi pengaruh yang tidak dikehendaki yang disebabkan karena takut dan sebagainya. Binatang jangan disakiti
10. Pada akhir praktikum akan diadakan responsi dan tidak ada responsi ulangan.

CARA KERJA DENGAN BINATANG PERCOBAAN

1. Perlakukan binatang percobaan dengan kasih sayang dan jangan sekali-kali disakiti
2. Tiap binatang mempunyai karakteristik spesifik. Oleh karena itu dalam memperlakukannya harus disesuaikan dengan karakteristiknya tersebut. Untuk kelinci dan marmut, jangan sekali-kali memegang telinga kelinci karena syaraf dan pembuluh darah dapat terganggu. Tikus dan mencit, dipegang bagian ekor. Untuk menghindari gigitan tikus atau mencit selain ekor perlu juga dipegang bagian leher belakang dekat kepala dengan ibu jari dan telunjuk. Bila perlu gunakan sarung tangan dari kulit atau karet untuk melindungi tangan dari gigitan binatang.
3. Untuk menghemat biaya, dimungkinkan penggunaan binatang percobaan lebih dari satu kali akan tetapi binatang percobaan dapat digunakan kembali dengan selang minimal 14 hari.

CARA MEMBERI KODE BINATANG PERCOBAAN

1. Gunakan larutan asam pikrat 10% dalam air dan sebuah kuas

2. Punggung binatang dibagi menjadi 3 bagian : bagian kanan menunjukkan angka satuan, bagian tengah menunjukkan angka puluhan dan bagian kiri menunjukkan angka ratusan. Keterangan lebih jelas dapat dilihat pada gambar 1AB
3. Beri tanda memakai spidol di bagian ekornya.

HAL-HAL YANG PERLU DIPERHATIKAN PADA PENELITIAN DENGAN BINATANG PERCOBAAN

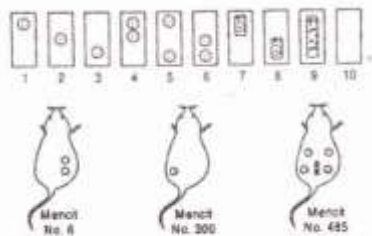
1. Binatang percobaan biasanya memberikan hasil dengan deviasi yang lebih besar bila dibandingkan dengan percobaan *in vitro*, karena adanya variasi biologis. Maka untuk menjaga agar variasi biologis minimal digunakan binatang dengan spesies dan strain yang sama., usia yang sama, jenis kelamin yang sama dan dapat dipelihara dengan kondisi yang sama.
2. Binatang percobaan harus diberi makan sesuai dengan makanan standar untuknya dan diberi minum *ad libitum*.
3. Binatang dipuaskan semalam sebelum percobaan dimulai dan hanya diperbolehkan minum air *ad libitum*
4. Bagi yang bekerja dengan binatang percobaan disarankan imunisasi tetanus. Apabila terkena gigitan harus segera dibersihkan dan diobati sesuai dengan cara-cara pada pertolongan pertama pada kecelakaan
5. Apabila percobaan telah selesai binatang dapat dibunuh dengan memberikan anestetik over dosis; inhalasi menggunakan kloroform, karbon dioksida, Nitrogen dan lain-lain dalam wadah tertutup; menyembelih binatang tersebut dan dibungkus dengan rapat, dikubur atau diabukan

PEMBERIAN OBAT PADA BINATANG PERCOBAAN

A. ALAT SUNTIK

1. 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 kedalam beker, dan jarum suntik dipegang erat-erat. Ulangi cara ini tiga kali



Gambar 1 AB

B. HEPARINISASI

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

C. VOLUME MAKSIMUM LARUTAN OBAT YANG DIBERIKAN PADA BINATANG

Binatang	Volume Maksimum (ml)					
	Cara 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 100 g	1.0	0.1	2.0-5.0	2.1-5.0	5.0	
Hamster 50 g	-	0.1	1.0-5.0	2.5	2.5	
Marmot 250 g	-	0.25	2.0-5.0	5.0	10.0	
Merpati 300 g	2.0	0.5	2.0	2.0	10.0	
Kelinci 2.5 g	5.0-10.0	0.5	10.0-20.0	5.0-10.0	50.0	
Kucing 3 kg	5.0-10.0	1.0	10.0-20.0	5.0-10.0	50.0	
Anjing 5 kg	10.0-20.0	5.0	20.0-50.0	10.0	100.0	

D. KONVERSI PERHITUNGAN DOSIS ANTAR JENIS HEWAN (LAURENCE & BACHARACH, 1964)

	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmot 400 g	Kelinci 1.5 g	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1,00	7,00	12,25	27,80	64,10	124,20	387,90
Tikus 200 g	0,14	1,00	1,74	3,90	9,20	17,80	56,00
Marmot 400 g	0,08	0,57	1,00	2,25	5,20	10,20	31,50
Kelinci 1.5 g	0,04	0,25	0,44	1,00	2,40	4,50	14,20
Kera 4 kg	0,016	0,11	0,19	0,42	1,00	1,90	6,10
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,10	0,22	0,52	1,00	3,10
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,16	0,32	1,0

CARA MEMBERI OBAT

1. PEMBERIAN PERORAL

KELINCI DAN MARMUT

Cairan diberikan dengan pertolongan keteter yang menggunakan *mounth block*. *Mounth block* (pipa kayu berbentuk silinder dengan ukuran panjang sekitar 12 cm, diameter luar 3 cm dan diameter lubang 7 mm) dipasang ketika binatang dalam posisi duduk. Sewaktu memasang tekan rahang binatang dengan ibu jari dan telunjuk.

Celupkan kateter karet kedalam parafin cair kemudian masukkan kedalam eosofagus melalui lubang *mounth block*. Kateter harus dimasukkan sekitar 20-25 cm. Untuk mengetahui apakah kateter sudah masuk eosofagus dan bukan trakea, celupkan ujung luar kateter ke dalam air. Jika timbul gelembung-gelembung udara berarti kateter tersebut tidak masuk ke eosofagus.

Bila obat berbentuk padat (tablet, puder atau kapsul) diberikan kepada binatang dalam posisi duduk dengan pertolongan pipa plastic dan alat pendorong. Pipa tersebut dimasukkan kedalam *pharynk*, dan obat didorong masuk.

TIKUS DAN MENCIT

Pemberian obat dalam bentuk suspensi, larutan atau emulsi kepada tikus dan mencit dilakukan dengan pertolongan jarum suntik yang ujungnya tumpul atau sonde (bentuk bola)

2. PEMBERIAN SECARA INTRAVENA

KELINCI

Bulu-bulu telinga di sekitar pembuluh vena marginalis di cabut, lalu digosok dengan kapas yang dibasahi dengan xilol, atau dipanasi dengan sedikit api. Tekan pembuluh darah tersebut pada pangkal telinga dekat dengan kepala. Jarum Suntik beserta obatnya dimasukkan pelan-pelan searah dengan aliran darah vena dengan bevel menghadap ke atas. Untuk memastikan jarum telah terinsersi ke dalam vena dengan benar lakukan aspirasi perlahan-lahan. Kemudian putar jarum yang panjangnya 0.5 inchi dengan ukuran 26gauge. Setelah penyuntikan, bekas suntikan ditekan dengan kapas bersih dengan pertolongan penjepit.

3. PEMBERIAN SECARA INTRAPERITONEAL

KELINCI

Pegang tengkuk kelinci dengan kuat dan pelan-pelan ditekan sehingga kepala mendongak ke belakang. Teman bekerja menginjeksikan obat ke bagian $\frac{1}{4}$ kiri bawah ke daerah abdominal dengan jarum yang membentuk sudut 45° . Gunakan jarum yang panjang 1 inchi dengan ukuran 22 *gauge*.

TIKUS DAN MENCIT

Peganglah tikus dan mencit pada ekornya dengan tangan kanan biarkan mereka mencengkram anyaman kawat dengan kaki depannya. Dengan tangan kiri jepitlah tengkuk tikus / mencit diantara jari telunjuk dan jari tangan (bisa juga dngan jari telunjuk dan ibu jari). Pindahkan ekor tikus dari tangan kanan ke jari kelingking tangan kiri. Tikus atau mencit siap diinjeki pada abdominal area. Gunakan jarum 5 / 8 inchi 24 *gauge*.

PERCOBAAN I
PENGARUH CARA PEMBERIAN
TERHADAP ABSORPSI OBAT

TUJUAN

Mengenal, mempraktekkan, dan membandingkan cara-cara pemberian obat terhadap kecepatan absorpsinya, menggunakan data farmakologi sebagai tolak ukur.

A. Pendahuluan

Untuk mencapai efek farmakologis seperti yang diharapkan, obat dapat diberikan dengan berbagai cara. Diantaranya melalui oral, subkutan, intra maskular, intra peritoneal, rektal dan intra vena. Masing-masing cara pemberian memiliki keuntungan dan manfaat tertentu. Suatu senyawa atau obat efektif bila diberikan melalui salah satu pemberian tetapi tidak atau kurang efektif jika diberikan melalui cara lain. Perbedaan ini salah satunya disebabkan oleh adanya perbedaan dalam hal kecepatan absorpsi dari berbagai cara pemberian tersebut, yang selanjutnya akan berpengaruh terhadap efek atau aktivitas farmakologisnya

B. Cara Percobaan

- I. Masing- masing kelompok melakukan satu cara pemberian obat dan membandingkannya dengan kelompok lain.
 - a. Bahan : Pentotal 1% b/v
 - b. Alat : Spuit injeksi dan jarum (1.0 ml), jarum berujung tumpul (untuk peroral), dan *stopwatch*.
 - c. Hewan Uji : Mencit
 - d. Cara Kerja :

1. Tiap golongan di bagi menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok mendapat 3 mencit.
2. Berturut-turut kelompok I, II, III, IV, V mengerjakan percobaan oral, sub kutan, intra muscular, intra peritoneal dan intra vena.
3. Mencit atau tikus di timbang dan diperhitungkan volume obat yang akan diberikan dengan dosis 80 mg/kg BB
4. Obat diberikan pada hewan uji dengan cara pemberian sesuai dengan masing-masing kelompok.
 - a) Oral, melalui mulut dengan jarum ujung tumpul
 - b) Subkutan, masukkan sampai dibawah kulit pada tengkuk hewan uji dengan jarum injeksi
 - c) Intra muscular, suntikkan ke dalam otot pada daerah gluteus maximus
 - d) Intraperitoneal, suntikkan kedalam rongga perut (hati-hati jangan sampai masuk ke dalam usus
 - e) Intra vena, suntikkan ke dalam vena lateralis pada ekor hewan uji

e. Pengumpulan Data

Setelah hewan uji mendapat perlakuan, amati dan catat hilangnya reflek balik badan serta waktu kembalinya reflek balik badan .hilangnya reflek balik badan ditandai dengan hilangnya kemampuan hewan uji untuk membalikkan badannya jika ia ditelentangkan (30 detik). Kembalinya reflek balik badan ditandai dengan kembalinya kemampuan untuk membalikkan badan dari keadaan telentang. Onset dihitung mulai dari waktu obat diberikan sampai timbul efek yang ditandai dengan hilangnya reflek balik badan dari hewan uji, sedangkan durasi dihitung dari mulai efek timbul sampai efek hilang yang ditandai dengan kembalinya reflek balik badan dari hewan uji. Hitung onset dan durasi waktu tidur obat dari masing-masing kelompok percobaan, dan bandingkan hasilnya.

Tabel Hasil Percobaan

Nomor Hewan	Cara Pemberian	Waktu		Onset	Durasi	Ket	
		Pemberian	Reflek Balik Badan				
			Hilang				Kembali

C. Bahan Bacaan

1. Holck, H.G.O., 1959, Laboratory Guide in Pharmacology, Burgess Publishing Company: Minnesota, 1-3
2. Levine, R.R, 1978, Paharmacology : Drug Actions and Reactiions, 2nd Ed., Little Brown & Company, Boston.

D. Pertanyaan (Dijawab pada laporan akhir)

1. Apakah faktor-faktor yang dapat mempengaruhi absorbasi obat dari saluran cerna?
2. Jelaskan bagaimana pengaruh cara pemberian obat dapat mempengaruhi onset dan durasi obat!
3. Jelaskan keuntungan dan kerugian masing-masing cara pemberian obat!

PERCOBAAN II
ANALGETIKA

Tujuan :

Mengenal, mempraktekkan dan membandingkan daya analgetika asamsalisilat, parasetamol, ekstrak etanolik daun cincau dan ekstrak etanolik belimbing wuluh menggunakan metode rangsang kimia.

A. Pendahuluan

Analgetika adalah obat atau senyawa yang dapat mengurangi rasa sakit atau nyeri. Secara umum analgetika dibagi 2 golongan yaitu analgetika non narkotika atau integumental analgesics (misalnya asetosal dan parasetamol) dan analgetika narkotika atau visceral anagesics (misalnya morfin)

Analgetika yang diberikan kepada penderita untuk mengurangi rasa nyeri, yang ditimbulkan oleh berbagai rangsang nyeri seperti rangsang mekanis, kimia dan fisis. Rasa nyeri tersebut terjadi akibat terlepasnya mediator nyeri (misalnya bradikinin, prostaglandin) dari nyeri diujung saraf perifer ataupun tempat lain. Dari tempat-tempat ini selanjutnya rangsang nyeri diteruskan ke pusat nyeri di korteks serebri oleh saraf sensoris melalui sumsum tulang belakang dan talamus.

Berdasarkan atas rangsang nyeri yang dipergunakan, maka terdapat berbagai metode penetapan daya analgetika suatu obat. Salah satu diantaranya menggunakan rangsang kimia sebagai penimbul rasa nyeri, seperti yang akan dipraktekkan disini.

B. Cara Percobaan

a. Alat dan bahan

Bahan : Larutan CMC Na dalam air 1%, suspensi asetosal 1% dalam CMC Na 1%, larutan paracetamol dalam CMC Na 1%, ekstrak etanolik daun sirsak, larutan steril asam asetat 1% dan hewan uji yang berupa mencit betina, umur 40-60 hari dengan berat 20-30 gram.

Alat : Spuit injeksi oral (0,1-1 ml), jarum oral, beker gelas 1-2 liter dan stop watch.

b. Cara percobaan :

1. Mencit 15 ekor dibagi menjadi 5 kelompok
2. Mencit kelompok 1 (kontrol), diberi larutan CMC Na Peroral dengan volume setara dosis obat pada kelompok mencit perlakuan.
3. Mencit kelompok II diberi suspensi parasetamol 1% dalam CMC Na 1%, dosis konversi terapi pada manusia, melalui oral
4. Mencit Kelompok III, diberi suspensi acetosal 1% dalam CMC Na 1%, dosis konversi terapi pada manusia, melalui oral
5. Kelompok IV, V, IV diberi ekstrak etanolik dengan 3 variasi dosis

c. Pengumpulan data

Setelah ketiga kelompok hewan uji mendapat perlakuan sesuai kelompoknya, 5 menit kemudian, seluruh hewan uji di suntik secara intraperitoneal larutan steril asam asetat 1% v/v dosis 50 mg / kg BB. Beberapa menit kemudian mencit akan menggeliat (perut kejang dan kaki ditarik ke belakang)

Dicatat kumulatif geliat yang timbul setiap selang waktu 5 menit selama 60 menit. Hitung % proteksi analgetika dengan rumus :

$$\% \text{ Proteksi} = 100 - (P / K \times 100)$$

Dimana :

P = Jumlah kumulatif geliat mencit diberi obat analgetika

K = Jumlah kumulatif geliat mencit diberi CMC Na (kontrol)

d. Analisis hasil

Bandingkan % protek asetosal dan parasetamol .

C. Bahan Bacaan

Domer, F.R., 1971, *Animal eperiment in Pharmacological analysis*, 1 st ed., Charles and Thomas publisher, Illiionis, pp.275-316

D. Latihan Soal

1. Apakah analgetika itu?
2. Mengapa analgetika kadang-kadang perlu diberikan pada penderita?

PERCOBAAN III
ANTI INFLAMASI

Tujuan :

Mempelajari daya anti inflamasi obat golongan steroid dan non steroid pada binatang dengan radang buatan

A. Pendahuluan

Meskipun kejadiannya merupakan gabungan proses yang kompleks, inflamasi mempunyai tanda-tanda dan gejala yang bersifat umum yaitu bengkak kemerahan, nyeri dan panas, tidak perlu apakah penyebabnya ban kimia atau mekanik.

Obat-obat anti radang dibagi menjadi 2 golongan utama, yaitu golongan kortikosteroid dan nonsteroid. Argumen yang diterima mengenai mekanisme kerja obat-obat tersebut adalah bahwa obat-obat anti radang berkaitan dengan penghambatan metabolisme asam arakidonat.

Asam arakidonat adalah substrat untuk enzim-enzim siklooksigenase dan lipooksigenase. Siklooksigenase mensintase seklik endoperoksida (prostaglandin G-2 dan H-2) yang kemudian akan diubah menjadi prostaglandin stabil, tromboksan dan prostasiklin. Ketiga produk tersebut berasal dari leukosit asam arakidonat oleh lipooksigenase asam-asam mono dan dihiroksi (HETE) yang merupakan prekursor dari leukotrin (senyawa yang dijumpai pada keadaan anafilaksis). Dengan adanya rangsang mekanis atau kimia, produksi enzim lipooksigenase akan dipacu sehingga meningkatkan produksi leukotrien dari asam arakidonat.

Obat-obat yang dikenal menghambat siklooksigenase secara spesifik (indometasin dan salisilat) mampu mencegah mediator inflamasi : PGE-2 dan prostasiklin. Karena prostaglandin bersifat sinergik dengan mediator inflamasi lainnya yakni (bradikinin dan histamin) maka pencegahan pembentukan prostaglandin akan menganggu siklooksigenase dan bersifat kompetitif terhadap arakidonat.

Secara *in vivo* kortikosteroid mampu menghambat pengeluaran prostaglandin pada tikus, kelinci, dan marmut. Penghambatan pengeluaran asam arakidonat dari fosfolipida juga akan mengurangi produk-produk siklooksigenase dan lipooksigenase sehingga akan mengurangi mediator peradangan. Kedua enzim tersebut dapat dihambat oleh benoksaprofen.

Metode Uji Daya Antiinflamasi

Pengukuran aktivitas antiinflamasi dilakukan dengan mengukur edema sebagai ketebalan telapak kaki tikus dengan menggunakan jangka sorong selama tiga jam dimulai dari jam ke-0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; dan 3 setelah diinduksi karagenin 1% secara subplantar.

Analisis Data

Data yang dikumpulkan berupa selisih edema yang diukur sebagai ketebalan telapak kaki sebelum dan sesudah di injeksi karagenin. Nilai selisih ketebalan telapak kaki dihitung menggunakan luas area dibawah kurva (AUC-Area Under Curve) dari ketebalan edema telapak kaki tikus terinduksi karagenin pada masing-masing perlakuan di setiap rentang waktu pengukuran dengan metode trapezoid. Rumus perhitungan sebagai berikut

$$AUC_{0-6} = \frac{C_{0,5} + C_0}{2} \times t_{0,5} - t_0 + \frac{C_1 + C_{0,5}}{2} \times t_1 - t_{0,5} + \dots + \left(\frac{C_n + C_{n-1}}{2}\right) \times t_n - t_{n-1}$$

(Ikawati dkk, 2007)

$C_n - C_{n-1}$ adalah ketebalan telapak kaki pada jam ke – 0 sampai 3 pada tiap kelompok.

$t_n - t_{n-1}$ adalah lamanya waktu pengukuran mulai dari jam ke-0 sampai jam ke-3

AUC_{0-3} yaitu luas daerah dibawah kurva dari ketebalan telapak kaki tikus pada jam ke 0 - 3

% Daya Antiinflamasi dari tiap individu dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Daya Anti Inflamasi} = 100 \% \times \frac{AUC_k - AUC_p}{AUC_k}$$

(Ikawati dkk, 2007)

Dimana AUC_k adalah luas daerah di bawah kurva rata-rata pada kelompok kontrol negatif & AUC_p adalah luas daerah dibawah kurva tapi individu pada tiap kelompok perlakuan. Bandingkan kedua perlakuan tersebut antara perlakuan prednison dengan pemberian ekstrak.

$$\% \text{ Penghambatan inflamasi (\%)} = \frac{(AUC_{0-x})_0 - (AUC_{0-x})_n}{(AUC_{0-x})_0}$$

$(AUC_{0-x})_0$ adalah AUC_{0-x} rata-rata dari AUC ketebalan edema telapak kaki mencit pada kelompok kontrol negatif (mm.menit)

$(AUC_{0-x})_n$ adalah AUC_{0-x} total dari AUC ketebalan edema telapak kaki mencit yang diberi senyada uji dengan dosis sebesar n (mm.menit)

(Ikawati dkk., 2007).

Cara Percobaan

a. Bahan : Karagenin 1 % dalam NaCl 0,9 %, prednison, ekstrak bunga telang, CMC Na 0,5 % dan tikus

b. Alat : Jangka sorong dan alat suntik 1 ml

c. Cara Kerja

1. Dua belas ekor tikus dibagi menjadi 4 kelompok, satu kelompok terdiri dari tiga ekor tikus. Kelompok I adalah kelompok kontrol negatif yang diberi suspensi CMC Na 0,5%, kelompok II adalah kelompok kontrol positif yang diberi suspensi obat. Kelompok III adalah kelompok yang diberi suspensi ekstrak dosis 1, kelompok IV adalah kelompok yang diberi suspensi ekstrak dosis 2.
2. Tikus ditimbang, hitung dosis dan volume pemberian berdasarkan dosis obat dan ekstrak sesuai berat badan tikus
3. Pada menit ke 0, telapak kaki tikus di ukur ketebalannya menggunakan jangka sorong.
4. Masing-masing kelompok diberi perlakuan secara peroral. Satu (1) jam kemudian telapak kaki kanan tikus disuntik dengan karagenin 0,1 ml kemudian di ukur ketebalan telapak kakinya menggunakan jangka sorong. Setelah diberi karagenin pengukur ketebalan telapak kaki diulang setiap 30 menit selama 3 jam.

B. Referensi

Ikadati, Z., Supardjan, A.M., Asmara, L.S., 2007, Pengaruh Senyada Heksagamavunon-1 terhadap Inflamasi Akut Akibat Reaksi Anafilaksis Kutaneus Aktif pada Tikus Wistar Jantan Terinduksi Ovalbumin, Laporan Penelitian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 34-36.

C. Latihan Soal

1. Setelah pemberian karagenin, mengapa pengukuran ketebalan telapak kaki diulang sampai 3 jam kemudian ?
2. Tentukan obat yang paling poten dalam menghambat peradangan karena karagenin. Jelaskan jawaban saudara !
3. Jelaskan kelebihan dan kekurangan obat antiinflamasi golongan steroid dan non steroid ditinjau dari efektifitas antit inflamasinya dan efek sampingnya !

PERCOBAAN IV
EFEK SEDATIF**Tujuan**

Mempelajari pengaruh obat penekan susunan saraf pusat

A. Pendahuluan

Obat-obat sedatif hipnotik memiliki efek farmakologik yang mirip dengan anestetik umum, jika obat-obat tersebut diberikan dengan dosis yang lebih besar, efeknya sama dengan anestetika umum. Kedua jenis obat tersebut mempunyai mekanisme yang sama dalam menekan susunan syaraf pusat.

Obat-obat penenang (sedatif) berbeda pengaruhnya dengan hipnotik sebab tidak menimbulkan efek anestetik. Sebagai contoh klorpromazin dan reserpin, penekanannya pada susunan syaraf pusat tidak begitu dalam sehingga hanya menimbulkan sedasi. Efek sedatif dapat mempengaruhi kemampuan koordinasi motorik hewan coba. Besar kecilnya terhadap koordinasi motorik tersebut dapat menggambarkan besar kecilnya efek sedasi. Oleh sebab itu, efek sedatif ini akan diamati melalui eksperimen dengan binatang menggunakan parameter rotarod, daya cengkeraman, refleks kornea dan diameter pupil mata.

Klorfeniramin adalah preparat antihistamin tetapi memiliki efek samping sedatif yang mirip dengan obat penenang. Sifat sedatif obat ini disebutkan tidak ada kaitannya dengan kemampuan mangantagonis histamin.

B. Cara Percobaan

- a. **Bahan :** Mencit (hewan uji), diazepam (obat sedatif)
- b. **Alat :** Rotarod (batang berputar) dan alat suntik (1 ml)
- c. **Cara kerja**

1. Mencit ditimbang ($n = 6$ dan dibagi menjadi 2 kelompok (kontrol dan perlakuan) masing-masing 3 ekor. Sebelum pemberian obat hewan tersebut diletakkan diatas rotarod selama 5 menit untuk adaptasi.
2. Kelompok kontrol disuntik dengan aquabidest dengan volume setara dengan dosis diazepam secara i.m dan kelompok perlakuan disuntik diazepam dengan dosis konversi dosis terapi manusia ke mencit (sediaan diazepam 5 mg/ ml untuk 50 kg BB)

3. Pada menit-menit ke 15, 60 dan 120, mencit diletakkan diatas rotarod selama 2 menit
4. Catat berapa kali binatang terjatuh dari rotarod
5. Selama eksperimen berlangsung amati :
 - Reflek balik badan dan kornea
 - Daya cengkeram pada kawat kasa
 - Perubahan pada diameter pupil mata
6. Tugas tiap praktikan :

Analisis data kualitatif dan kuantitatif dengan membandingkan efek kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

C. Bahan Bacaan

Meyers F.H., Jawesz E., Goldifien A., 1974, *Review of Medical Pharmacology*, 4 th Dd., Lange Medical publ., Calif.

D. Latihan Soal

1. Mengapa mencit perlu diadaptasi sebelum percobaan ?
2. Merupakan indikasi apakah hilangnya reflek balik badan dan kornea daya cengkeram, dan perubahan pupil ?
3. Jelaskan bagaimana mekanisme diasepam dapat berefek sedatif ?

PERCOBAAN V**ANTI DIARE****(Metode Transit Intestinal)****Tujuan :**

Mengenal dan mempraktekkan uji anti diare menggunakan metode transit intestinal

A. Pendahuluan

Diare adalah suatu keadaan dimana frekuensi defekasi melebihi frekuensi normal dengan konsistensi fesea yang encer. Diare dapat bersifat akut atau kronis, dan penyebabnya bermacam-macam. Diare akut dapat disebabkan oleh infeksi dengan bakteri seperti *Escherichia coli*, *Sphighella sp.*, *Salmonella sp.*, *Vibrio cholera*, virus, Amoba seperti *Staphylococcus aureus*, *Clostridium welchii* yang mencemari makanan. Sedangkan diare kronis mungkin berkaitan dengan berbagai gangguan gastrointestinal. Adapula diare yang berlatar belakang kelainan psikosomatik, alergi oleh makanan atau obat-obat tertentu, kelainan pada sistem endokekrin dan metabolisme, kekurangan vitamin dan sebagai akibat radiasi.

Diare yang berkejang sangat melemahkan penderitaannya karena tubuhnya kehilangan banyak energi cairan dan elektrolit tubuh, sehingga memerlukan terapi pengganti dengan cairan dan elektrolit serta kalori, obat antibakteri atau antiamuba tergantung penyebab diare, maupun obat-obat lain yang bekerja memperlambat peristaltik usus, menghasilkan spasme dan nyeri, atau menenangkan.

Protokol penapisan terarah aktivitas antidiare disini ditujukan terbatas pada aktivitas obat yang dapat memperlambat peristaltik usus, sehingga mengurangi frekuensi defekasi dan memperbaiki konsistensi feses. Akan dibahas dua metode transit intestinal dan metode proteksi terhadap diare yang disebabkan oleh oleum ricini. Metode uji berdasarkan transit intestinal digunakan pula pada protokol penapisan terarah aktivitas laksansia

B. Cara Pengobatan Metode Transit Intestinal**a. Prinsip Metode**

Metode transit intestinal dapat digunakan untuk mengevaluasi aktivitas obat antidiare, laksansia, antipasmodik, berdasarkan pengaruhnya pada fasio jarak usus yang ditempuh oleh sesuatu marker dalam waktu tertentu terhadap panjang usus keseluruhan pada hewan percobaan mencit atau tikus.

b. Bahan dan alat

Bahan : Larutan NaCl fisiologik 0,9%, suspensi gom arab 20% diwarnai hitam dengan norit 5% sebagai marker, obat pembanding (bila perlu : loperamid). kertas saring

Alat : Kandang tikus atau kandang mencit, (jumlah sesuai jumlah kelompok hewan), alat pengukur jarak (mistar), meja bedah tikus atau mencit, alat suntik untuk pemberian oral

c. Hewan Percobaan

Tikus putih Wistar jantan dewasa sehat dengan berat kurang lebih 150g atau mencit putih Swiss jantan dewasa sehat dengan berat kurang lebih 20-25 g, jumlah 3 ekor per kelompok

d. Prosedur

1. Hewan percobaan dipuaskan makan selama lebih kurang 18 jam, minum tetap diberikan
2. Setelah ditimbang, hewan dikelompokkan secara acak, kelompok kontrol, kelompok uji dan kelompok perbandingan (bila perlu) masing-masing 3 ekor
3. Kemudian pada waktu $t=0$, dilakukan perlakuan pemberian dengan cara yang ditetapkan, misalnya oral. Kelompok kontrol menerima larutan fisiologik 1 ml / 100 g dan kelompok pembanding menerima obat pembanding pada dosis tertentu dengan volume pemberian 1 ml/100 g bobot badan.
4. Setelah $t = 45$ menit (untuk pemberian obat oral) atau 15 menit (untuk pemberian obat secara subkutan) semua hewan diberikan suspensi norit sebanyak 1 ml/ekor tikus (atau 0,1 ml / 10 g mencit) secara oral
5. Pada $t = 65$ menit (untuk pemberian obat oral) atau 35 menit (untuk pemberian obat subkutan) semua hewan dikorbankan secara dislokasi tulang leher. Usus dikeluarkan secara hati-hati, sampai teregang. Panjang usus yang dilalui marker norit mulai dari pilorus sampai rektum dari masing-masing hewan.

6. Hitung masing-masing rasio normal jarak yang ditempuh marker terhadap panjang usus seluruhnya. Umumnya pada tikus normal diperlukan waktu 1,5 – 2 jam untuk membawa marker dari pilorus sampai ke rektum.
7. Nilai rasio ini kemudian dirata-rata untuk masing-masing kelompok, dan nilai dari masing-masing kelompok tersebut dibandingkan (kelompok kontrol, kelompok uji, dan kelompok pembanding)
8. Bila obat yang diuji mempunyai aktivitas antidiare, maka nilai rasionya akan lebih kecil bila dibandingkan kelompok kontrol. Sebaliknya, nilai rasio akan lebih besar bila obat uji mempunyai aktivitas sebagai laksansia atau antispasmodik

e. Evaluasi

Data yang diperoleh dievaluasi secara statistik dengan anova dan uji t, untuk menilai bahwa antar kelompok kontrol dan kelompok uji ada perbedaan bermakna, sehingga dapat disimpulkan adanya aktivitas obat uji.

PERCOBAAN VI**ANTI DIARE****(Metode Proteksi Terhadap Diare Oleh Oleum Ricini)****Tujuan :**

Mengenal dan mempraktekkan uji anti diare menggunakan metode proteksi terhadap diare oleh *oleum ricini*

A. PENDAHULUAN

Diare adalah suatu keadaan dimana frekuensi defekasi melebihi frekuensi normal dengan konsistensi fesea yang encer. Diare dapat bersifat akut atau kronis, dan penyebabnya bermacam-macam. Diare akut dapat disebabkan oleh infeksi dengan bakteri seperti *Escherichia coli*, *Sphighella sp.*, *Salmonella sp.*, *Vibrio cholera*, virus, Amoba seperti *Staphylococcus aureus*, *Clostridium welchii* yang mencemari makanan. Sedangkan diare kronis mungkin berkaitan dengan berbagai gangguan gastrointestinal. Adapula diare yang berlatar belakang kelainan psikosomatik, alergi oleh makanan atau obat-obat tertentu, kelainan pada sistem endokekrin dan metabolisme, kekurangan vitamin dan sebagai akibat radiasi.

B.

Diare yang berkunjung sangat melemahkan penderitaannya karena tubuhnya kehilangan banyak energi cairan dan elektrolit tubuh, sehingga memerlukan terapi pengganti dengan cairan dan elektrolit serta kalori, obat antibakteri atau antiamuba tergantung penyebab diare, maupun obat-obat lain yang bekerja memperlambat peristaltik usus, menghasilkan spasme dan nyeri, atau menenangkan.

C.

Protokol penapisan terarah aktivitas antidiare disini ditujukan terbatas pada aktivitas obat yang dapat memperlambat peristaltik usus, sehingga mengurangi frekuensi defekasi dan memperbaiki konsistensi fases. Akan dibahas dua metode transit intestinal dan metode proteksi terhadap diare yang disebabkan oleh oleum ricini. Metode uji berdasarkan transit intestinal digunakan pula pada protokol penapisan terarah aktivitas laksansia

a. Prinsip Metode

Kandungan utama dari oleum rincini, yakni trigliserida dari asam risinoleat akan mengalami hidrolisis di dalam usus halus oleh lipase pankreas menjadi gliserin dan asam risinoleat. Sebagai serta menstimulasi peristaltik usus, sehingga berkasiat anti diare yang diinduksi dengan oleum rincini tersebut.

b. Bahan dan Alat

- Bahan : Sediaan uji, oleum rincini, loperamid HCl 0,06 mg/ml sebagai pembanding, kertas saring
- Alat : Timbangan mencit, alat suntik 1 ml dan jarum untuk pemberian oral kepada mencit, bejana pengamatan mencit

c. Hewan Percobaan

Sebagai hewan percobaan digunakan mencit putih jantan Swiss Webster sehat, dengan bobot badan 20-25 g. hewan yang digunakan untuk percobaan harus memiliki fases normal.

d. Prosedur

1. Mencit dikelompokkan menjadi 3 kelompok, yaitu setiap kelompok diberi oleum Rincini, kelompok yang diberi sediaan uji dan kelompok kontrol positif yang diberi pembanding loperamid HCL. Masing-masing kelompok terdiri dari 10 ekor mencit.
2. Satu jam sebelum percobaan dimulai mencit dipuaskan
3. Sesuai dengan alokasi perlakuan, setiap mencit diberi secara per oral 1 ml/ 20g sediaan uji atau loperamid HCL atau vehikulum dan kemudian ditempatkan dikandang individual beralaskan kertas saring untuk pengamatan
4. Satu jam setelah perlakuan pada tiap mencit diamati selama 30 menit sampai 6 jam setelah pemberian oleum Ricini.
5. Parameter yang diamati meliputi waktu terjadinya diare, frekuensi diare, konsisten dan jumlah /bobot fases serta jangka waktu berlangsungnya diare.

e. Evaluasi

Hasil pengamatan pada ketiga kelompok hewan waktu terjadinya diare, jangka waktu berlangsungnya diare, konsistensi dan bobot fases dievaluasi masing-masing secara statistik dengan metode Anova dan Uji t, dan frekuensi diare dapat diuji dengan uji non-parametrik

f. Bahan Bacaan

Colotm, 1972 *Naationas Techniques de Pharmaarmacologie Generaley, Masson et Cie*, Paris Luarences DR. Bacharah Al, 1964 *Evaluasi of Drugs Activities Pharmacometrics* Academi Press, London.

Wattimena JR, dkk. 1989 *Kursus Singkat Farmasi Klinik dan Teknik Farmakodinamik Obat Sistem Perencanaan*, Jurusan Farmasi Fakultas MIPA Institut Teknologi Bandung, Bandung.

Hartanto B, 1983 *Uji Efek Infus Daun Psidium guajaya (myrtaceae), Kayu Caeslpini sappan (Caesal piniaceae), Buah dan Kulit Buah Punica Granatum (punicecaeae)*, sebagai Antidiare pada mencit putih Swiaa Webster dan sebagai Antidiare Skripsi Institut Teknologi Bandung, Bandung

Gilman GA et al. (eds)1985 *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basic of Therapeutics*, 7th edition, bab 43 hal. 994-1003. Macmilan publishing company, New York

PERCOBAAN VII

UJI KETOKSIKAN AKUT

TUJUAN

Mahasiswa mampu memahami tujuan, sasaran, tata cara pelaksanaan, tolak ukur dan manfaat uji ketoksikan sesuatu obat.

A. PENDAHULUAN

Uji toksikologi dibagi menjadi dua golongan yaitu uji ketoksikan tak khas dan uji ketoksikan khas

Uji ketoksikan tak khas adalah uji ketoksikologi yang dirancang untuk mengevaluasi keseluruhan atau spektrum efek toksik sesuatu senyawa pada aneka ragam jenis hewan uji. Termasuk uji ini adalah uji ketoksikian akut, subkronis dan kronis

Sementara yang dimaksud dengan uji toksikan khas ialah uji toksikologi yang dirancang untuk mengevaluasi secara rinci efek toksik sesuatu senyawa atas fungsi, organ atau kelenjar tertentu pada hewan uji. Termasuk dalam uji ini yaitu uji potensiasi, uji reproduksi, uji kemitagenikan, uji kekarasinogenikan, uji kulit dan mata serta uji perilaku, uji teratogenik.

Ketoksikan akut adalah derajat efek toksik suatu senyawa yang terjadi dalam waktu singkat setelah pemberiannya dalam dosis tunggal. Berarti uji ketoksikan akut adalah uji ketoksikan suatu senyawa yang diberikan atau dipanjangkan pemberian dalam dosis tunggal pada hewan uji tertentu dan masa pengamatannya selama 24 jam

Tujuan utama uji ketoksikan akut ialah menetapkan potensi ketoksikan akut yakni kisaran dosis letal atau dosis toksik suatu obat pada satu jenis hewan uji atau lebih. Selain itu, uji ini ditujukan untuk menilai berbagai gejala klinis yang khas dan mekanisme yang memerantarai terjadinya kematian hewan uji.

Dalam uji ini data yang dikumpulkan berupa tolak ukur kuantitatif (kisaran dosis letal/ Toksik) dan tolak ukur kualitatif (gejala klinis, wujud, dan mekanisme efek toksik).

Tolok ukur kuantitatif yang paling sering digunakan untuk menyatakan kisaran dosis letal atau toksik adalah letal dose (LD_{50}) yaitu dosis tunggal suatu senyawa secara statistis dapat menyebabkan kematian 50% hewan coba. Ada tiga metode yang paling sering dipakai untuk menghitung harga LD_{50} yakni metode grafik litchfield & Wilcoxon, metode kertas grafik probit logaritma Miller dan Tainter dan Tainter dan metode Thomson-weil.

Manfaat uji ketoksikan akut untuk mengevaluasi batas aman atau indeks terapi (LD_{50}/ED_{50}) suatu obat. Selain itu pengetahuan tentang potensi ketoksikan akut dapat dipakai untuk merancang uji ketoksikan kronis dan subkronis, maupun untuk memperkirakan dosis awal atau dosis terapi penelitian yang lain (5-10% LD_{50}).

B. TATA CARA BAKU PELAKSANAAN UJI KETOKSIKAN AKUT

Pemilihan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan sekurang-kurangnya dua jenis hewan, lebih disarankan empat jenis hewan terdiri rodent dan nirrodent, baik jantan maupun betina, satu galur, dewasa sehat, dan beratnya seragam (variasi yang diperoleh lebih kurang 10%)

Pengelompokan Hewan Uji

Sejumlah hewan uji terpilih, selanjutnya diadaptasikan di laboratorium paling tidak selama satu minggu. Penimbangan berat badan dilakukan satu hari perlakuan. Kemudian hewan uji dibagi menjadi beberapa kelompok sesuai dengan jumlah peringkat dosis senyawa yang akan diberikan, tambah kelompok kontrol negatif. Masing-masing kelompok uji paling tidak terdiri lima ekor hewan.

Tata cara pemberian dosis sediaan uji

Sedapat mungkin senyawa uji dipersiapkan sebagai sediaan larutan. Dosis sediaan uji yang diberikan, paling tidak terdiri dari empat peringkat dosis, berkisar dosis tertinggi yang tidak atau hampir tidak mematikan seluruh hewan uji, sampai dosis terendah yang mematikan seluruh atau hampir seluruh hewan uji (kisaran dosis diperkirakan menyebabkan 10-9% kematian hewan pada masa akhir uji).

Peringkat dosis terendah dan tertinggi yang dipilih sebaiknya merupakan interval logaritma yang ajeg (kelipatan tetap). Untuk mempermudah penetapan peringkat dosis, seyogyanya dilakukan dulu orientasi dengan interval log 0,6 atau antilognya (kelipatan tetap = 4). Bila peringkat dosis terendah dan tertinggi sudah ditemukan selanjutnya peringkat dosis antaranya ditetapkan berdasarkan faktor interval atau kelipatan tetap yang lebih sesuai. Namun bila yang diuji adalah jamu (obat tradisional) lebih baik dicoba terlebih dahulu dosis tertinggi tepat pada batas volume maksimum yang boleh diberikan pada hewan uji, karena pada umumnya sulit ditemukan harga LD₅₀ aktual jamu. Sediaan uji diberikan pada hewan uji paling tidak melalui jalur yang akan digunakan oleh manusia. Dalam hal ini WHO (1966) tiga atau lebih jalur pemberian dan kekerapan pemberian hanya sekali selama masa uji.

Pengamatan

Masa pengamatan dilakukan selama 24 jam, kecuali pada kasus-kasus tertentu dapat selama 7-14 hari.

Kriteria pengamatan meliputi : (a) Pengamatan fisik terhadap gejala-gejala klinis (Tabel 1), (b) Perubahan berat badan (c) Jumlah hewan yang mati masing-masing kelompok uji.

Analisis dan Evaluasi Hasil

Data gejala-gejala klinis yang nampak pada fungsi vital, secara kualitatif dipakai untuk mengaevaluasi mekanisme penyebab kematian. Data hasil pemeriksaan histopologik digunakan untuk mengevaluasi spektrum efek toksik. Data jumlah hewan mati pada masing-masing kelompok secara kuantitatif digunakan untuk menghitung harga LD₅₀ mengikuti salah satu tata cara yang telah disebutkan dalam pendahuluan. Bila sampai batas volume maksimum yang boleh diberikan pada hewan uji (sering dijumpai pada uji obat tradisional) maka dosis tertinggi tersebut dinyatakan sebagai LD₅₀ semu atau (LD₀)

Dari harga LD₅₀ yang diperoleh selanjutnya potensi ketoksikan akut senyawa uji dapat digolongkan menjadi :

Sangat tinggi bila $LD_{50} = < \text{mg/Kg}$

Tinggi = 1-50 mg/Kg

Sedang = 50 – 500 mg/Kg

Sedikit toksik = 500 – 5000 mg/Kg

Hampir tidak toksik = 5 – 15 g/Kg

Relatif tidak berbahaya = $> 15 \text{ g/Kg}$

Nilai-nilai LD_{50} akut untuk berbagai bahan kimia

Zat	Spesies	LD_{50} (mg/Kg berat badan)
Etanol	Mencit	10.000
Natrium Klorida	Mencit	4.000
Ferro Sulfat	Tikus	1.500
Morfin Sulfat	Tikus	900
Fenobarbital	Tikus	176
Natrium Fenobarbital	Tikus	150
DDT	Tikus	100
Pikrotoksin	Tikus	5
Striknin Sulfat	Tikus	2
Nikotin	Tikus	1
d-tubokurarin	Tikus	0,5
Dioksin	Marmot	0,001
Parasetamol	Tikus	338 (p.o), 500 (p.o)

Percobaan

1. Alat dan Bahan

- a. Hewan uji mencit umur 2-3 bulan, berat badan 20 gram
- b. Timbangan analitik
- c. Jarum suntik oral untuk mencit
- d. Spuit dengan volume 1 ml
- e. Peralatan bedah
- f. Peralatan gelas
- g. Pot salep tanggung (100)
- h. Formalin (untuk uji histopatologi)
- i. Ekstrak etanolik Daun sirsak
- j. Ekstrak etanolik kayu manis

2. Cara Kerja

- a. Hewan uji diadaptasikan dengan laboratorium 1 minggu sebelumnya
- b. Timbangan hewan uji yang akan dipakai percobaan satu hari sebelum percobaan
- c. Bagi hewan uji menjadi 5 kelompok dengan masing-masing kelompok 5 ekor
- d. Suntikan secara per oral cairan ekstrak ke mencit pada tiap-tiap kelompok
- e. Amati gejala-gejala klinis pada fisik mencit
- f. Hitung jumlah mencit yang mati
- g. Lakukan pembedahan untuk pengamatan organ pada mencit yang mati bandingkan dengan kelompok kontrol dengan cara dibuat preparat histopatologi

3. Analisis Hasil

Hitung harga LD₅₀ dengan metode Lithfield & Wolcoxon, Metode Miller dan Tainter atau Metode Thompson & Weil.

Data gejala-gejala klinis untuk mengevaluasi mekanisme penyebab kematian. Data hasil pemeriksaan histopatologi untuk mengevaluasi spectrum efek toksik.

Balaz, T, 1970, Measurement of Acute Toxicity In Paget, G.E (Ed) Method in Toxicology, Blackwell Scientific Publications, Oxford.

Donatus, I.A, 1990, Toksikologi Pangan (BAB VI & VIII) Edisi I PAU Pangan dan Gizi UGM Yogyakarta.

Tallarida, R.J. & Murray R.B., 1981, Manual Of Pharmacologic Calculations with Computer Programs, Spinger-Verlag, New York.

Timbrell, J.A., 1989, Introduction to Toxicology (chapter 5) Academic Press, New York.

Weil, C.S., 1952, Tables for Convenient Calculation of Median Effective Dose (LD50 or ED50) and instructions in their use. Biometric; 8, 249-262.

World Health Organization (WHO), 1978, Environmental Health Criteria 6; Principles and Methods for Evaluating the Toxicity of Chemicals (Chapter 3) Part. I WHO, Geneva.
[http// ash.Xanthia.com/Id50.html](http://ash.Xanthia.com/Id50.html).

PENGAMATAN FISIK UJI KETOKSIKAN AKUT

Bahan : Asal : Bentuk :

Hewan Uji : Galur : Kelamin : Jantan

Tanggal Mulai :

Kelompok : Nomor : Berat :

Sediaan : Jalur : Dosis :

Pengamatan	Tanda/Gejala	Hari ke (+, -)														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Perilaku	Perubahan sikap															

	Vokalisasi	
	Gelisah	
Gerakan	Menjilat	
	Menggaruk	
	Kedutan	
	Tremor	
	Menggeliat	
	Ataksia	
	Paralisis	
	Konvulsi	
	Keterpaksaan Gerak	
Kereaktifan	Keberangsan	
Thd rangsang	Kepasifan	
	Anestesia	
	Hiperestesis	
Reflek serebral & spinal	Lemah / Tidak ada	
Ukuran Pupil	Miosis	
	Midriasis	
Sekresi	Salivasi	
	Lakrimasi	
Nafas	Bradipnea	

	Dispnea	
Palpitasi	Bradikardia	

Kardiak	Takikardia	
	Aritmia	
Kulit	Pucat	
	Kemerahan	
	Eritema	
	Oedem	
	Melepuh	
Rambut	Rontok	
	Tidak Tumbuh	
	Tumbuh sebagian	
	Tumbuh Rata	
Kondisi	Berat Badan	
Umum	Makan	
	Makan sedikit	
	Tidak Makan	
	Kematian	

Tabel 3

Ø	Harga X ²		Ø	Harga X ²	
	P = 0,95 P' = 0,05	P = 0,99 P' = 0,01		P = 0,95 P' = 0,05	P = 0,99 P' = 0,01
1	3,84	6,63	9	16,9	21,7
2	5,99	9,21	10	18,3	23,2
3	7,81	11,3	11	19,7	24,7
4	9,49	13,3	12	21,0	26,2
5	11,1	15,1	15	25,0	30,6
6	12,6	16,8	20	31,4	37,6
7	14,1	18,5	25	37,7	44,3
8	15,5	20,1	30	43,8	50,9