PETUNJUK PRAKTIKUM

FARMAKOLOGI EKSPERIMENTAL

Baedi Mulyanto, S.Farm., MH., Apt.

Nama : _____

NIM. : _____

Kelompok : _____

LABORATORIUM FARMAKOLOGI
JURUSAN FARMASI
UNIVERSITAS PERADABAN
2019

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN SAMPUL.....1
DAFTAR ISI ii
PERATURAN PRAKTIKUM iii
MATERI PRAKTIKUM 4
PERCOBAAN I. PENGARUH CARA PEMBERIAN OBAT TERHADAP ABSORBSI OBAT 12
PERCOBAAN II. METABOLISME OBAT.....14
PERCOBAAN III. ANALGETIKA 17
PERCOBAAN IV. ANTI INFLAMASI 19
LAMPIRAN 25

PERATURAN PRAKTIKUM

1. Asistensi wajib diikuti seluruh praktikan
2. Pretes dilakukan 1 minggu/ sebelum praktikum dimulai dengan asisten praktikum yang telah ditentukan. Pada saat pre tes diwajibkan membawa laporan sementara *(lihat lampiran).*
3. Mahasiswa wajib hadir 15 menit sebelum praktikum dimulai.
4. Selama praktikum berlangsung dilarang meninggalkan laboratorium tanpa seizin dari asisten/dosen.
5. Sebelum praktikum selesai masing-masing praktikan meminta pengesahan data praktikum yang telah diperoleh pada asisten/dosen.
6. Praktikan yang tidak mengikuti acara praktikum lebih dari 1X (satu kali) dari jadwal yang telah ditetapkan tanpa alasan yang benar maka dinyatakan **GAGAL**
7. Laporan resmi dibuat individual dengan cover dan format yang telah ditentukan dan diserahkan 1 minggu berikutnya sebagai syarat untuk praktikum minggu yang bersangkutan.
8. Pembobotan Nilai
   a. Kehadiran : 5%
   b. Pretes : 20%
   c. Kerja : 25%
   d. Laporan : 10%
   e. Postes/ Ujian Akhir Praktikum : 40%
9. Demi kelancaran dan keamanan praktikum, hal-hal berikut perlu diperhatikan
   a. Praktikan harap memakai jas praktikum, bekerja dengan tenang dan tidak diperbolehkan bermain HP diluar kepentingan praktikum
   b. Gunakan kaca mata laboratorium, sarung tangan, masker bilamana diperlukan
   c. Pipet yang digunakan untuk mengambil larutan pereaksi harus bersih, dicuci dengan air untuk menghindari kontaminasi reagen ataupun zat yang akan ditetapkan
   d. Jangan megambil pereaksi yang berlebihan dan dilarang mengembalikan kelebihan pereaksi kebotol semula
   e. Hati-hati bila mengambil asam-asam pekat dan bahan-bahan yang mengiritasi.
   f. Pada waktu memanaskan cairan di dalam tabung reaksi, mulut tabung jangan diarahkan kepada sesama praktikan
   g. Hati-hati bila bekerja menggunakan eter, jauhkan dari api.
   h. Lampu spiritus hanya dinyalakan bila diperlukan saja.
   i. Kembalikan alat-alat yang telah digunakan dalam keadaan bersih ketempat almari penyimpanan semula

MATERI PRAKTIKUM

A. Cara Bekerja dengan Binatang Percobaan

1. Setiap orang baik pratikan maupun periset yang bekerja di laboratorium dengan menggunakan binatang percobaan sebaiknya membaca:
   a. Petunjuk memelihara dan menggunakan hewan coba.
   b. Dasar-dasar pemeliharaan hewan coba.

   Hal tersebut bertujuan untuk mendapatkan informasi sebelum bekerja dengan hewan coba, terutama biologi, perilaku dan tekniak penanganan hewan coba yang akan digunakan.
2. Hilangkan perasaan takut dan tegang terhadap hewan yang akan digunakan dalam percobaan.
3. Perlakuan hewan coba dengan tenang, sungguh-sungguh, hati-hati tanpa keraguan dan penuh kasih sayang sesuai etik penelitian pada hewan coba.
4. Hindari tindakan atau penanganan yang mengakibatkan luka pada hewan coba atau sebaliknya hewan coba mencederai peneliti atau orang di sekitarnya.
5. Jangan melakukan tindakan apapun sebelum hewan coba tenang dan siap untuk menerima perlakuan.
6. Cara memperlakukan hewan coba:
   a. Kelinci dan marmut: jangan sekali-kali memegang telinga kelinci karena syaraf dan pembuluh darahnya dapat terganggu.
   b. Tikus dan mencit: pegang pada ekornya, tetapi hati-hati jangan sampai hewan coba tersebut membalikan tubuhnya dan mengigit anda. Oleh karena itu selain ekornya peganglah juga bagian leher belakang dekat keala dengan ibu jari dan telunjuk.
   Catatan: adakalanya diperlukan kaos tangan dari kulit atau karet yang cukup tebal untuk melindungi tangan dari gigitan hewan coba. Akan tetapi bagi yang sudah terbiasa lebih baik tanpa kaos tangan sebab kontak langsung dengan hewan coba akan lebih mudah mengontrol gerakan hewan coba.
7. Menggunakan kembali hewan coba yang telah dipakai.
   Untuk menghemat biaya, bila mungkin diperbolehkan memakai satuhewan coba lebih dari satu kali. Walaupun demikian, jika hewan coba tersebut telah digunakan dalam suatu periode dan obat yang digunakan pada percobaan sebelumnya masih berada dalam tubuh hewan coba kemungkinan hasil percobaan berikutnya akan memberikan data yang tidak benar. Hal ini terutama terdapat dalam kasus pemberian inductor dan inhibitor enzim. Dengan dalih ini, maka hewan coba baru boleh digunakan lagi untuk percobaan berikutnya setelah selang waktu minimal 14 hari.

B. Karakteristik Binatang Percobaan

Tabel 1. Karakteristik Binatang Percobaan

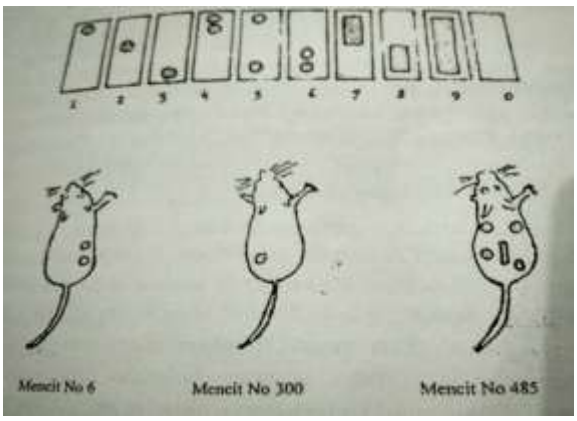
Karakteristik	Mencit (Musmuculus)	Tikus (Rattus rattus)	Marmot (Cavia porcellus)	Kelinci (Oryctolagus cuniculus)	Anjing (Canis famillaris)
Pubertas	35 hari	40-60 hari	60-70 hari	4 bulan	7-9 bulan
Masa beranak	Sepanjang tahun	Sepanjang tahun	Sepanjang tahun	Mei-September	-
Hamil	19-20 hari	21-29 hari	63 hari	28-36 hari	62-63 hari
Jumlah sekali lahir	4-12/6-8	6-8	2-5	5-6	1-18
Lama hidup	2-3 tahun	2-3 tahun	7-8 tahun	8 tahun	12-16 tahun
Masa tumbuh	6 bulan	4-5 bulan	15 bulan	4-6 bulan	12-15 bulan
Masa laktasi	21 hari	21 hari	21 hari	40-60 hari	6-8 minggu
Frekuensi kelahiran/tahun	4	7	4	3-4	1-2
Suhu tubuh	37,9-39,2o C	37,7-38,8o C	37,8-39,5o C	8,5-39,5o C	37,5-39,0o C
Kecepatan respirasi	136-216 /menit	100-150 /menit	100-150 /menit	50-60 /menit	15-28 /menit
Tekanan darah	147/106	130/150	-	110/80	148/100
Volume darah	7,5% BB	7,5% BB	6% BB	5% BB	7,2-9,5 % BB

C. Cara Memeberi Kode Binatang Percobaan

Seringkali diperlukan untuk mengidentifiksi binatang yang terdapat dalam suatu kelompok atau kandang sehingga binatang-binatang percobaan perlu sekali diberi kode. Gunakan larutan 10% asam pikrat dalam air dansebuah sikat atau kuas. Punggung binatang dibagi menjadi tiga bagian:

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

Untuk jelasnya dapat dilihat pada gambar dibawah ini:



Gambar 1. Pemberian Kode Binatang Percobaan

D. Memberi Makan Binatang Percobaan Untuk Mengurangi Variasi Biologis

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

E. Luka Gigitan Binatang

Imunisasi tetanus disarankan bagi semua orang yang bekerja dengan binatang percobaan. Lika yang bersifat abrasive atau luka yang agak dalam karena gigitan binatang ataupun karena alat-alat yang telah digunakan untuk percobaan binatang harus diobati secepatnya menurut cara-cara pertolongan pertama pada kecelakaan. Apabila korban gigitan belum pernah mendapatkan kekebalan terhadap tetanus, ia harus mendapatkan imunisasi sebagai profilaksis.

F. Memusnahkan Binatang

1. Cara terbaik untuk membunh binatang ialah dengan memberikan suntikan anestetik over dosis. Injeksi barbiturate (natrium penobarbital 300mg/ml) secara iv untuk anjing dan kelinci, secara intraperitoneal atau intra toraks untuk marmut, tikus dan mencit atau dengan inhalasi menggunakan kloroform, karbon dioksida, nitrogen, dan lain-lain didalam wadah tertutup untuk semua binatang tersebut diatas.
2. Binatang disembelih, kemudian dimasukan ke dalam kantong plastik dan dibungkus lagi dengan kertas, diletakan di dalam tas plastik, ditutup dan disimpan dalam almari pendingin atau langsung diabukan (isenerasi).

G. Pemberian Obat pada Binatang Percobaan

1. Alat suntik

a. Tabung dan jarum suntik harus steril jika akan digunakan pada kelinci, marmot, dan anjing. Tapi tidak perlu steril melainkan bersih dati tikus dan mencit.

b. Setelah penyuntikan, cuci tabung dan jarum suntik tersebut, semprotkan cairan kedalam gelas beker dan jarum suntik dipegang erat-erat. Ulangi cara ini tiga kali.

2. Heparinasi

a. Untuk heparinasi dipakai 10 unit heparin per 1 ml darah.

b. Selain itu sebelum dipakai tabung dan jarum suntik dicuci dahulu dengan larutan jenuh natrium oksalatsteril.

Tabel 2. Volume maksimum larutan obat yang diberikan pada binatang

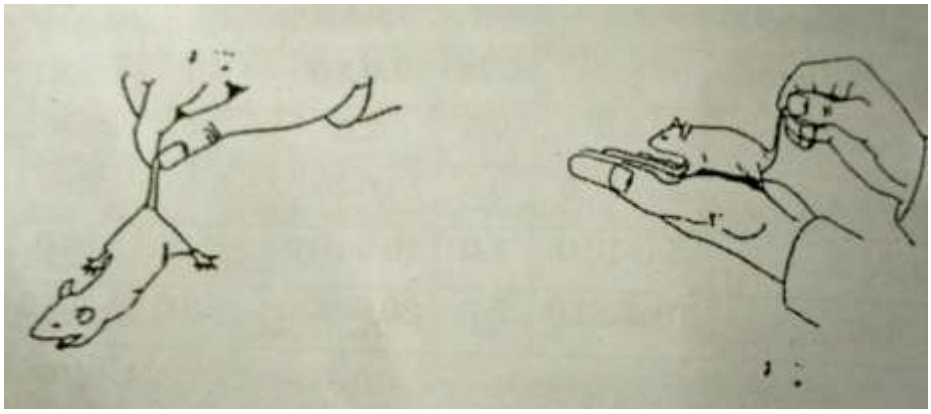
Binatang	Volume maksimum pemberian (ml)				
	iv	Im	ip	sc	po
Mencit (20-30 gram)	0,5	0,05	0,1	0,5-1,0*	1,0
Tikus (100 gram)	1,0	0,1	2,0-5,0	2,0-5,0*	5,0
Hamster (50 gram)	-	0,1	1,0-5,0	2,5	2,5
Marmot (250 gram)	-	0,25	2,0-5,0	5,0	10,0
Merpati (300 gram)	2,0	0,5	2,0	2,0	10,0
Kelinci (2,5 kg)	5,0-10,0	0,5	10,0-20,0	5,0-10,0	20,0
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

H. Penanganan Hewan Uji

Penanganan hewan uji adalah tata cara memperlakukan hewan uji baik selama masa pemeliharaan maupun selama masa uji berlangsung. Dalam hal ini terlibat bebagai macam teknik, yakni pengambilan hewan dari kandang, pemegangan, penandaan, pemberian senyawa, pengorbanan, dan pengambilan cuplikan.

1. Mencit

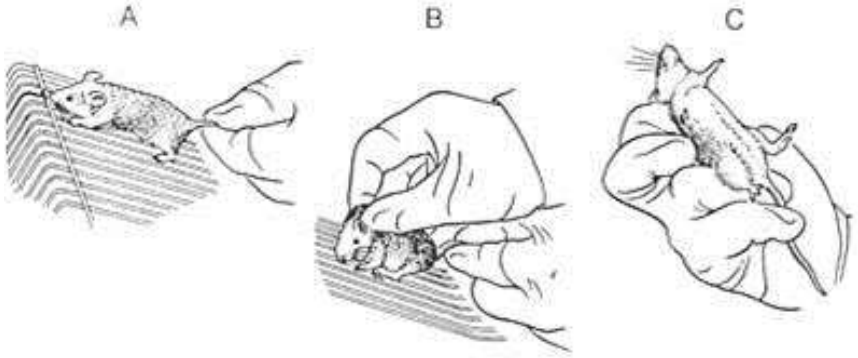
Pengambilan mencit dari kandang harus dilakukan dengan hati-hati karena mencit merupakan hewan yang selalu berusaha untuk mengigit dan mampu meloncat sampai beberapa meter bila disentuh. Buka penutup kandang cukup untuk masuk tangan saja. Berikutnya angkat mencit dengan cara memegang ekor mencit (3-4 cm dari ujung) sehingga mencit dapat dipindahkan ke tempat lain. Bila perlu mencit dapat diletakan pada telapak tangan guna pengamatan atau pemeriksaan lebih jauh.



Gambar 2. Cara Mengambil Mencit

2. Penanganan mencit dapat dilakukan sebagai berikut:

a. Letakan mencit pada lembaran kawat, biarkan keempat kakinya mencengram kawat atau alas kasar. Dengan keadaan demikian mencit dapat diberi tanda dengan asam pikrat atau tinta cina.
b. Dengan tangan kiri, jepit kulit tengkuk diantara telunjuk dan ibu jari.
c. Pindahkan ekor dari tangan kanan ke antara jari manis dan jari kelingking tangan kiri sampai mencit dapat dipegang dengan erat. Mencit siap mendapat perlakuan.

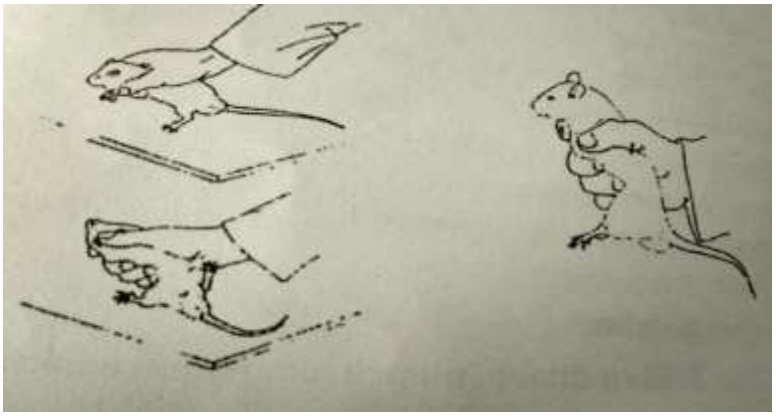


Gambar 3. Cara Memegang Mencit

Keterangan gambar:
Gambar A. Ekor ditarik, mencit akan mencengkeramkan kaki pada suatu permukaan kasar.
Gambar B. Mencit dipegang pada bagian kuduknya.
Gambar C. Mencit dipegang pada bagian kelingkingnya dan siap diinjeksi.

3. Tikus

1. Pengambilan tikus dari kandang sebaiknya tidak dilakukan dengan memegang ekor seperti halnya mencit karena tikus dapat menjadi stress dan mengalami luka. Biasanya bila tikus diangkat dengan memegang ekor, tikus akan berputar-putar diudara. Hal ini dapat diatasi dengan memegang pangkal ekor atau langsung menggenggamnya di seputar bahu.
2. Pemegangan tikus dapat dilakukan dengan cara:
   a. Angkat tikus dari kandang pada pangkal ekornya dengan tangan kanan.
   b. Biarkan tikus mencengkram alas kasar atau kawat.
   c. Luncurkan tangan kiri dari belakang tubuh (punggungnya) kearah kepala. Selipkan antara jari tengah dan telunjuk pada tengkuk tikus sedang ibu jari, jari manis dan kelingking diselipkan disekitar perut.

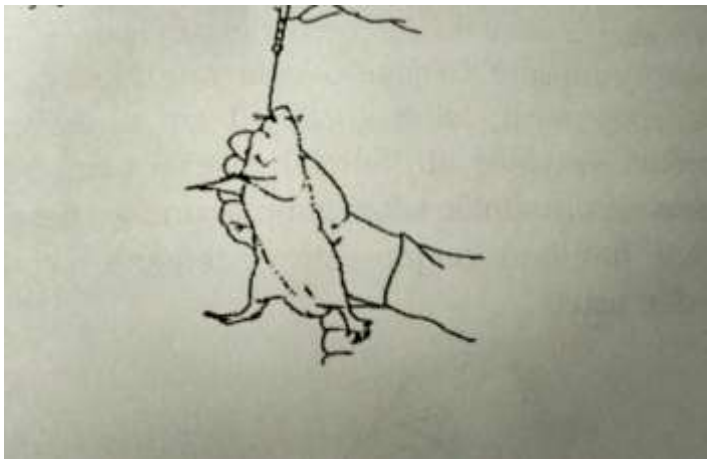


Gambar 4. Cara Mengambil dan Memegang Tikus

I. Pemberian Sediaan Uji/Pemejanan pada Hewan Uji

1. Pemberian Oral

Dilakukan dengan cara memegang hewan coba sepertipada gambar 5. Masukan jarum tumpul berisi larutan suspense atau emulsi senyawa uji yang sesuai dengan ukuran hewan melalui mulut dengan cara menelusurkan searah tepi langi-langit ke arah belakang sampai esophagus. Semprotkan senyawa uji pelan-pelan.



Gambar 5. Pemberian Oral

2. Pemberian intravena

Dilakukan dengan cara memasukan hewan kedalam holder atau sangkar (gambar 6). Selanjutnya celupkan ekornya kedalam air hangat (dilatasi vena leteralis). Setelah vena mengalami dilatasi, pegang ekor dengan kuat pada posisi vena yang berada di permukaan sebelah atas. Tusukan jarum dengan ukuran yang sesuai kedalam vena sejajar dengan vena.

Gambar 6. Pemberian Intravena

3. Pemberian intraperitoneal

Dilakukan dengan cara memegang hewan uji seperti pada gambar 7 dengan kulit punggung dijepit sehingga daerang perut terasa tegang. Basahi daerah perut dengan kapas alkohol. Tusukkan jarum suntik sejajar dengan salah satu kaki hewan pada daerah perut, lebih kurang 1 cm diatas kelamin. Semprotkan senyawa uji. Setelah selesai pemberian, tarik pelan-pelan jarum suntik, tekan tempat suntikan dengan kapas beralkohol, hati-hati jangan sampai terkena hati, kandung kencing dan usus.

Gambar 7. Pemberian Intraperitoneal

4. Pemberian Intramuskular

Dilakukan dengan cara memegang hewan coba seperti gambar 8. Usap daerah otot paha posterior dengan kapas beralkohol. Suntikkan larutan senyawa uji pada daerah otot tersebut. Setelah selesai cabut pela-pelan jarum suntik dan tekan daerah suntikan.

Gambar 8. Pemberian Intramuskular

J. Volume Maksimum Larutan Obat yang Diberikan pada Hewan Uji

Tabel 3. Volume maksimum obat yang diberikan pada Hewan Uji

Binatang	Volume Maksimum (ml)				
	iv	im	Ip	sc	po
Mencit (20-30 gram)	0,5	0,05	1,0	0,5-1,0*	1,0
Tikus (100 gram)	1,0	0,1	2,0-5,0	2,0-5,0*	5,0
Kelinci (2,5 kg)	5,0-10	0,5	10-20	5-10	20

**) Didistribusikan ke daerah yang lebih luas*

Volume cairan yang diberikan pada hewan uji= ½ vol.maksimum

PERCOBAAN I. PENGARUH CARA PEMBERIAN OBAT TERHADAP ABSORBSI OBAT

A. Tujuan

Mengenal, mempraktikan dan membandingkan cara-cara pemberian obat terhadap kecepatan absorbsinya menggunakan data farmakologi sebagai tolak ukurnya.

B. Pendahuluan

Untuk mencapai efek farmakologi seperti yang diinginkan, obat dapat diberikan dengan cara, diantaranya melalui oral, subcutan, intramuscular, intra peritoneal, dan intra vena. Masing-masing cara pemberian ini memiliki keuntungan dan manfaat tertentu. Suatu senyawa atau obat mungkin efektif jika diberikan melalui salah satu pemberian tetapi tidak atau kurang efektif jika diberikan melalui cra lain. Perbedaan ini salah satunya disebabkan oleh adanya perbedaan dalam hal kecepatan absorbsi dari berbagai cara pemberian tersebut.,yang selanjutnya kan berpengaruh terhadap efek atau aktivitas farmakologinya.

C. Cara Percobaan

1. Bahan
   a. Natrium pentobarbital 3,5% atau Natrium thiopental, Natrium heksobarbital 100mg/kg BB
   b. Alkohol 70%
2. Alat
   a. Spuit injeksi dan jarum (1-2 ml)
   b. Jarum berujung tumpul (jarum per oral)
   c. Sarung tangan
   d. Stopwatch
3. Hewan Uji: Mencit atau Tikus
4. Cara Kerja
   a. Tiap kelas praktikum dibagi menjadi 5 kelompok
   b. Masing-masing kelompok mendapat 3 ekor mencit atau tikus
   c. Berturut-turut kelompok I, II, III, IV dan V mengerjakan percobaan oral, subkutan, intramuscular,intraperitoneal dan intra vena.
   d. Mencit atau tikus ditimbang dan dihitung volume sodium pentobarbital yang akan diberikan dengan dosis 35 mg/kg BB
   e. Sodium pentobarbital diberikan pada hewan uji dengan cara pemberian sesuai dengan masing-masing kelompok.
      1) Oral, melalui mulut dengan jarum ujung tumpul.
      2) Subkutan, masukkan sampai dibawah kulit pada tengkuk hewan uji dengan jarum injeksi.
      3) Intramuscular, suntikkan ke dalam otot pada daerah otot gluteusmaximus.
      4) Intraperitoneal, suntikkan ke dalam rongga perut, hati-hati jangan sampai masuk ke dalam usus.
      5) Intra vena, suntikkan ke dalam vena lateralis pada ekor hewan uji.

5. Pengumpulan Data

Setelah hewan uji mendapat perlakuan, amati dan catat waktu hilangnya refleks balik badan serta waktu kembalinya refleks balik badan. Hilangnya refleks balik badan ditandai dengan hilangnya kemampuan hewan uji untuk membalikkan badannya jika ia ditelentangkan (30 detik). Kembalinya refleks balik badan ditandai dengan kembalinya kemampuan untuk membalikkan badan dari keadaan telentang. Hitung onset dan durasi waktu tidur sodium heksobarbital dari masing-masing kelompok percobaan dan bandingkan hasilnya menggunakan uji stastik analisa varaian pola searah dengan taraf kepercayaan 95%.

Tabel Hasil Percobaan

No. Hewan	Cara Pemberian	Vol. Pemberian	Refleks Balik Badan		Onset	Durasi
			Hilang	Kembali		

D. Referensi

1. Holck, H.G.O., 1959, Laboratory Guide In Pharmacology, Burgess Publishing Company: Minnesotta, 1-3.
2. Levine, R.R., 1978, Pharmacology: Drug Action and Reactions, 2nd Edition, Little, Brown & Company, Boston.

E. Pertanyaan

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

PERCOBAAN II. METABOLISME OBAT

A. Tujuan

Mempelajari beberapa senyawa kimia terhadap enzim pemetabolisme obat dengan mengukur efek farmakologinya.

B. Pendahuluan

Metabolisme obat sering juga disebut biotransformasi. Walaupun antara keduanya juga sering dibedakan. Sebagian ahli mengatakan bahwa istilah metabolism hanya diperuntukkan bagi perubahan-perubahan biokimiawi/kimiawi yang dilakuakan oleh tubuh terhadap senyawa eksogen (xenobiotika).

Pengetahuan tentang metabolisme obat menempati posisi penting dalam evaluasi keamanan dan kemanfaatan suatuobat. Selain mengetahui bagaimana obat dimetabolisme dan dideaktivasi juga untuk mengenal jalur dan kecepatan distribusi dan eliminasi obat serta metabolitnya.

Reaksi-reaksi yang terjadi selama proses metabolisme dapat dibagi menjadi dua, yakni reaksi fase I meliputi reaksi-reaksi oksidasi, reduksi dan hidrolisis dan fase II atau reaksi konjugasi yang bias lihat ditabel. Reaksi-reaksi enzimatik yang berperan dalam proses tersebut sebagian besar terjadi di dalam sel hepar dan sisanya terjadi di organ-organ lain seperti, saluran cerna, paru, ginjal dan darah. Mikroflora gastrointestinal lebih berperan dalam reduksi daripada oksidasi dan hidrolisis daripada konjugasi.

Tempat terjadinya reaksi-reaksi oksidasi sebagian besar di dalam reticulum endoplasmik sel. Namun proses tersebut juga bias dikatalisir oleh enzim-enzim yang berbeda di dalam sitiosol maupun mitokondria. Sedang reaksi fase II (konjugasi) umumnya terjadi didalam sitosol, kecuali reaksi glukoronidasi.

Tabel Jalur Metabolisme Obat-obat Oleh Enzim Hepar

Reaksi Fase I	Reaksi Fase II
1. Oksidasi Hidrolisasi Dealkilasi Pembentukan Oksidasi Desulfururasi Dehalogenasi Deaminasi	1. Konjugasi Glukuronida 2. Asilasi (termasuk asetilasi) 3. Metilasi 4. Pembentukan Asam Mekapturat 5. Konjugasi sulfat
2. Reduksi Reduksi Aldehida Reduksi Azo Reduksi Nitro	
3. Hidrolisis Deesterifikasi	

Banyak obat-obatan yang mengalami deaktivasi dengan reaksi konjugasi yaitu suatu biosintesa dengan penempelan senyawa endogen (asam glukuronat, gugus-gugus

sulfat, metal dan asetil). Jika molekul obat sangat larut dalam lipid dan tidak mempunyai gugus aktif untuk konjugasi maka berbagai biotransformasi (oksidasi, reduksi, dan hidrolisis) akan terjadi terlebih dahulu.

Dalam konjugasi dengan asam glukurunat (reaksi fase II yang paling lazim), koenzim anntara UDPGA (uridine diphospho-glucoronic acid) bereaksi dengan obat dengan adanya enzim glukuronil-transferase untuk memindahkan glukuronida ke atom O pada alkohol, phenol atau asam karboksilat atau atom S pada senyawa tiol dan senyawa N pada senyawa-senyaw amina dan sulfonamide.

Dalam konjugasi obat-obat dengan asam amino (misal glisin dan glutamine),terjadi reaksi antara obat yang mempunyai gugus karboksilat dan telah diaktifasi dengan koenzim A. Dalam konjugasi dengan glutation, epoksida atau aren oksida yang sangat reaktif bereaksi dengan glutation dan kemudian dimetabolisir lebih lanjut menjadi asam-asam mekapturat (non-toksik).

Enzim-enzim mirosom hepar, mukosa usus dan jaringan lain berperan dalam oksigenasi xenobiotika dan senyawa-senyawa endogen (asam-asam lemak, kolesterol,dan hormon-hormon steroid). Dalam hidroksilasi satu atom O akan berikatan dengan atom-atom C , N, dan S dari molekul obat. Reaksi ini dikatalis oleh sekelompok enzim reticulum endoplasmatik hepar (mixed fucntion oksidases system=MFO) yang melibatkan sitokrom P-450 dan reduktase NADPH-sitokrom-C.

C. Induksi Dan Penghambatan Enzim

Banyak obat yang mampu menaikkan kapasitas metabolismenya sendiri dengan induksi enzim (menaikkan kecepatan sintesis enzim). Kenaikan aktifitas enzim metabolisme ini menyebabkan lebih cepatnya metabolisme dan yang pada umumnya merupakan proses deaktivasi obat sehingga mengurangi kadarnya di dalam plasma dan memperpendek waktu paruh obat. Oleh karena itu intensitas dan durasi efek farmakologinya berkurang.

Sekobarbital, penobarbital, alobarbital dan fenobarbital menaikkan kadar sitokrom P-450 serta meningkatkan kecepatan beberapa reaksi metabolisme seperti deetilasi fenesetin, demetilasi aminopirin, 4-hidroksilasi bifenil dan hidroksilasi heksabarbital.

Pengaruh induksi dan penghambatan enzim efek farmakologi dan toksisitas cukup besar sehingga perlu diperhatikan oleh para praktisi. Sebagai contoh pemberian penobarbital bersama-sama dengan wafarin akan mengurangi efek antikoagulansianya. Demikian juga pemberian simetidin, suatu antagonis reseptor H-2, akan menghambat aktivitas sitokrom p-450 dalam memetabolisis obat-obat lain.

Induksi enzim menunjukan variasi yang besar antara spesies dan bahkan antara jaringan satu dengan jaringan lain di dalam tubuh binatang. Pengetahuan tentang pengaruh induktor dan inhibitor enzim terhadap laju metabolisme obat akan sangat membantu dalam memperkirakan perubahan-perubahan yang terjadi pada efek farmakodinamikanya.

D. Cara percobaan

1. Bahan dan alat
   a. Induktor enzim : fenobarbital
   b. Penghambat enzim : simetidin
   c. Jarum suntik oral (ujung tumpul)
   d. Stopwatch
   e. Hewan uji : mencit
   f. Cara kerja :
      1) Tiap kelas praktikum dibagi menjadi 3 kelompok, masing-masing mendapatkan 3 ekor hewan uji.
      2) Kelompok satu (kontrol) : hewan uji diberi hexobarbital 100 mg/kg BB dosis tunggal secara ip.
      3) Kelompok dua : seperti kelompok satu, dengan pra perlakuan fenobarbital 80 mg/kg BB ip selama 3 hari tiap 24 jam. *Pengamatan : lama waktu sampai terjadi gejala hypnosis serta lama waktu tidur karena hexobarbital dengan parameter righting refleks.*
      4) Kelompok tiga : seperti kelompok satu, yang diberikan secara bersama-sama dengan simetidin po 80 mg/kg BB 1 jam sebelumnya. *Pengamatan: lama waktu sampai terjadinya hypnosis serta lama waktu tidur karena hexobarbital dengan parameter righting refleks.*

E. Hasil Percobaan

Kelompok	Praperlakuan	Obat	Waktu timbul efek (menit)
I	-	Hexobarbital ip 100 mg/kg BB	
II	Fenobarbital ip selama 3 hari, 80 mg/kg BB	Hexobarbital ip 100 mg/kg BB	
III	Simetidin po 80 mg/kg BB, 1 jam sebelumnya	Hexobarbital ip 100 mg/kg BB	

F. Referensi

La Du, B.N., Mandel, H.G and Way, E.L., 1971, Fundamentals of Metabolism and Drug Disposition, The Williams & Wilkins Company, Baltimore, pp 149-578

PERCOBAAN III. ANALGETIKA

A. Tujuan

Mengenal, mempraktikan dan membandingkan daya analgetika asetosal dan parasetamol menggunakan metode rangsang kimia.

B. Pendahuluan

Analgetika adalah obat atau senyawa yang dipergunakan untuk mengurangi rasa sakit atau nyeri. Secara umum analgetik dibagi kedalam dua golongan yakni analgetika non narkotika atau integumental analgetics (misalnya asetosal, parasetamol) dan analgetik narkotik atau visceral analgetics (misalnya morfin).

Analgetika yang diberikan kepada penderita untuk mengurangi rasa nyeri dapat ditimbulkan oleh berbagai rangsang nyeri seperti rangsang mekanis, rangsang kimia dan fisis. Rasa nyeri tersebut terjadi akibat terlepasnya mediator-mediator nyeri (misalnya bradikinin dan prostaglandin) dari jaringan rusak yang kemudian merangsang reseptor nyeri di ujung saraf perifer ataupun ditempat lain. Dari tempat-tempat ini selanjutnya rangsang nyeri diteruskan ke pusat nyeri di korteks serebri oleh saraf sensoris melalui sumsum tulang belakng dan thalamus.

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

C. Cara Percobaan

1. Bahan
   a) Larutan tilosa dalam air 1%
   b) Suspensi acetosal 1% dalam tilosa 1%
   c) Suspensi paracetamol 1% dalam tilosa 1%
   d) Larutan steril asam asetat 1%
2. Alat
   a) Spuit injeksi (0,1-1 ml)
   b) Jarum oral (ujung tumpul)
   c) Beker glass (1-2 liter)
   d) Stopwatch
3. Hewan uji : mencit betina, umur 40-60 hari, berat 20-30 gram.
4. Cara kerja
   a) Mencit 15 ekor, dibagi menjadi 3 kelompok
   b) Mencit kelompok I (kontrol), diberi larutan tilosa 1% melalui oral dengan volume sama.
   c) Mencit kelompok II diberi suspensi parasetamol 1% dalam tilosa 1%, dosis 300 ml/kg BB pro.
   d) Mencit kelompok III diberi suspensi asetasol 1% dalam tilosa 1%, dosis 300 ml/kg BB pro.

D. Pengumpulan Data

Setelah ketiga kelompok hewan uji mendapat perlakuan, 5 menit kemudian seluruh hewan uji disuntik larutan steril asam asetat 3% v/v dengan dosis 300 mg/kg BB. Beberapa menit kemudian mencit akan menggeliat (perut kejang dan kaki ditarik ke belakng).

Catat jumlah kumulatif geliat yang timbul setiap selang waktu 5 menit selam 60 menit. Hitung persen daya analgetik dengan rumus :

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

Keterangan :

P = jumlah kumulatif geliat mencit yang diberi obat analgesik.

K = jumlah kumulatif geliat mencit yang diberi tilosa (kontrol)

E. Analisis Hasil

Bandingkan daya analgetik asetosal dan parasetamol dengan uji t, taraf kepercayaan 95%.

F. Referensi

Domer, F.R., 1971, Animal Experiment in Pharmacologycal Analysis, 1st ed., Charles C Thomas publisher, Illionis, 275-316.

G. Pertanyaan

1. Apakah analgetika itu?
2. Mengapa analgetika kadang-kadang perlu diberikan kepada penderita?
3. Bagaimana terjadinya rasa nyeri?
4. Bagaimana mekanisme daya analgetika parasetamol dan asetosal?

PERCOBAAN IV. ANTI INFLAMASI

A. Tujuan

Mempelajari daya anti inflamasi obat pada binatang dengan radang buatan.

B. Pendahuluan

Meskipun kejadiannya merupakan gabungan proses yang kompleks, inflamsi mempunyai tanda-tanda dan gejala yang bersifat umum yaitu bengkak kemerahan. Nyeri danpanas, tidak peduli sebabnya karena bahan kimia atau mekanis.

Obat-obat anti radang dibagi menjadi dua golongan utama, golongan kortikosteroid dan nonsteroid. Argument yang dewasa ini diterima mengenai mekanisme kerja obat-obat tersebut ialah bahwa aksi obat-obat anti radang berkaitan dengan penghambatan metabolisme asam arakhidonat (Higgs dan Whittle, 1980).

Seperti diketahui asam arakhidonat adalah substrat untuk enzim-enzim siklooksigenase dan lipooksigenase. Siklooksigenase mensintesa siklik endoperoksida (prostaglandin G-2 dan H-2)) yang kemudian akan diubah menjadi prostaglandin stabil, tromboksan atau protaksiklin. Ketiga produk ini berasal dari lukosit dan senyawa-senyawa ini dijumpai pada keadaan radang. Didalam leukosit, asam arakhidonat oleh lipooksigenase akan diubah menjadi asam-asammono dan dihidroksi (HETE) yang merupakan prekursor dari leukotrien (senyawa yang dijumpai pada keadaan anafilaksis). Dengan adanya rangsang mekanis atau kimia , produksi enzim lipoksigenase akan dipacu sehingga meningkatkan produksi leukotrien dari asam arakhidonat.

Obat-obat yang dikenal menghambat siklooksigenase secara spesifik (indometasin dan salisilat) mampu mencegah produksi mediator inflamasi : PGE-2 dan prostasikli. Karena prostaglandin bersifat sinergik dengan mediator inflamasi lainnya yakni bardikinin dan histamine, maka pencegahan pembentukan prostaglandin akan mengurangi efektifitas bradikinin dan histamine. Ibuprofen dan aspirin mampu berkaitan dengan siklooksigenase dan bersifat kompetitif terhadap arakhidonat.

Secara in vivo kortikosteroid mampu menghambat pengeluaran prostaglandin pada tikus., kelinci dan marmot. Penghambat pengeluaran asam arakhidonat dari fosfolipid juga akan mengurangi produk-profuk siklooksigenase dan lipooksigenase sehingga mengurangi mediator peradangan. Kedua enzim tersebut dapat dihambat oleh benoksaprofen.

C. Cara Percobaan

1. Bahan
   a) karagenin 1% dalam tilosa
   b) Indometasin 1%
   c) Klorpromasin HCL 1%
   d) Kurkumin (murni) 2% dalam tilosa 1%
2. Alat
   a) Spuit 1 ml
   b) Plestismograph

3. Hewan uji : tikus jantan (Wistar 200-300 gram)
4. Cara Kerja
   a) Penyiapan hewan uji

      Semua hewan uji divelihara dalam kondisi yang sama sebelum digunakan. Tikus diadaptasikan dengan lingkungan venelitian selama satu minggu dan sebelum verlakuan diberikan, tikus dipuaskan 18 jam dengan tetap memberi minum. Tikus dikelompokan sebagai berikut:

      1) Lima ekor tikus untuk kelompok kontrol positif (indometasin)
      2) Lima ekor tikus untuk kontrol negatif (suspensi CMC)
      3) Lima belas ekor tikus untuk perlakuan dosis n-butil indometasin, 2-butil indometasin dan isobutil indometasi , masing-masing 5 ekor untuksetiap kelompok.

   b) Pembuatan larutan keragenin 1%

      Seratus miligram keragenin ditimbang seksama, laludimasukkan kedalam labu takar 10,0 ml dan dihomogenkan dengan larutan NaCl 0,9% hingga tanda. Larutan diinkubasi pada suhu 37° C selama 24jam.

   c) Pembuatan suspensi Na Carboxcy Methyl Celluloce (CMC) 0,5%

      Sebanyak 500 mg Na CMC ditaburkan merata kedalam lumpang yang telah berisi air suling panas sebanyak 35 ml dandiamkan selama 15 menit hingga diperoleh massa transparan. Massa digerus hingga terbentuk gel kemudian diencerkan dengan sedikit air, dimasukkan kedalam labu takar terukur 100,0 ml, lalu ditambahkan air sampaigaris tanda.

   d) Pembuatan suspensi indometasin 10mg/kg BB

      50 mg serbuk indometasin ditimbang kemudian digerus dengan penambahan suspensi Na CMC 0,5% sampai homogen. Suspensi dimasukkan kedalam labu takar 50,0 ml, lalu ditambahkan dengan suspensi Na CMC 0,5% hingga tanda.

   e) Pembuatan larutan alkil indometasin 10mg/kg BB

      50 mg n-butil indometasin, 2-butil indometasin dan isobutil indometasin ditimbang dan dibuat suspensi dengan Na CMC 0,5% hingga volume 50,0 ml.

   f) Uji aktivitas antiinflamasi

      1) Hewan uji dibagi menjadi beberapa kelompok.
      2) Kelompok I (kontrol positif) diberi perlakuan indometasin 10 mg/kg BB secara oral.
      3) Kelompok II (kontrol negatif) diberi perlakuan suspensi Na CMC 0,5% secara oral.
      4) Kelompok III, IV, V diberi perlakuan oral masing-masing n-butil indometasin, 2-butil indometasin dan isobutil indometasin pada dosis yang sama yaitu 10 mg/kg BB.
      5) Semua kelompok mendapat perlakuan injeksi karagenin 1% subplantar pada kaki kanan belakang. Perlakuan indometasin, suspensi Na CMC, dan tiga ester indometasin tersebut diberikan satu jam sebelum pemberian karagenin pada masing-masing kelompok.

6) Volume udem telapak kaki tikus diukur menggunakan plestimometer pada menit ke 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240.

D. Analisis data

1. Elusidasi struktur senyawa hasil sintesis

   Struktur senyawa hasil sintesis ditentukan berdasarkan data-data spektra UV, IR, ^{1}H-NMR dan ^{13}C-NMR serta spektra massanya.

E. Referensi

Chang, JC and Malone, MH., 1971, J. Pharm. Sci. 60, 416-419.

Lands, WEM., 1981, Trend Pharmacol.Sci. 2, 78-80.

Higgs, G.A and Whittle, B.J.R., 1980, The Therapeutic and toxic Effect of Anti Inflamatory Drugs Which Interference With Arachidonic AcidMetabolism. Dalam Turner, P (ed), Clinical pharmacology and Therapeutics, Macmillam Publ. London, 227-287.

Wijaya, Erlien Lusy., 2012. Sintesis n-Butil Indometasin, 2-Butil Indometasin dan Isobutil Indometasin serta uji aktivitas antiinflamasinya in-vivo. Yogyakarta

PERCOBAAN V. EFEK SEDATIF

A. Tujuan

Mempelajari vengaruh obat penekanan susunan syaraf.

B. Pendahuluan

Sedatif dapat didefinisikan sebagai suatu penekan (supresi) dari iritabilitas (kesiapsiagaan) terhadap suatu tingkat stimulasi tetap (Katzung, 2002:36). efek sedatif bisa berupa utama maupun efek samping dari obatobat tertentu. Jika efek sedatif merupakan efek utama makaobat tersebut tergolong kedalam kelompok sedatif-hipnotik.

Pengolongan suatu obat kedalam kelompok sedatif-hipnotik menunjukan bahwa kegunaan terapeutik utamanya adalah menyebabkan sedasi disertai dengan disertai hilangnya rasa cemas atau menyebabkan rasa kantuk (Katzung, 2002:25). Hipnotika atau obat tidur (Yunani; hypnos =tidur) adalah zat-zat yang dalam dosis terapi diperuntukan meningkatkan keinginan untuk tidur dan mempermudah atau menyebabkan kantuk. Lazimnya obat ini diberikan dimalam hari. Jika obat diberikan pada siang hari dalam dosis yang lebih rendah untuk tujuan menenangkan maka dinamakan sedatif (obat-obat pereda). Sedatif berfungsi menurunkan aktivitas, mengurangi ketegangan dan menenangkan penggunannya (Tan & Rahardja, 2002:357).

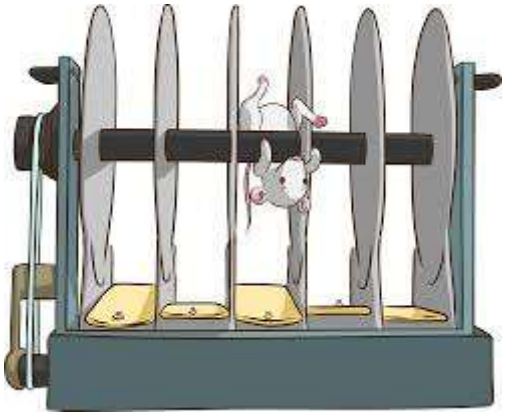
Efek sedasi diperoleh dari penekanan system syaraf pusat. Yang bergantung pada dosis obat yang digunakan (Katzung, 2002:26; Tan & Rahardja, 2002:357; Ganiswara et al, 1995:124). Bila digunakan dalam dosis yang meningkat, suatu sedatif akan menimbulkan efek berturut-turut peredaan, tidur dan pembiusan total (anestesi); sedangkan pada dosis ynag lebih besar lagi akan menyebabkan koma, depresi pernafasan dan kematian (Tan & Rahardja, 2002:357).

Efek sedatif dapat mempengaruhi kemampuan koordinasi motorik hewan coba. Besar kecilnya pengaruhtersebut dapat menggambarkanbesar kecilnya efek sedatif. Efek sedatif ini akan kita amati melalui eksperimen hewan coba menggunakan parameter rotarod, daya cengkeram, refleks kornea dan diameter pupil mata. Obat yang digunakan dalam eksperimen ini adalah golongan obat sedatif meliputi benzodiazepine (diazepam), barbiturate(luminal) dan hipnotik sedatif lain (kloralhidrat dan meprobamat) dibandingkan dengan obat penennang (antipsikotik) yang juga mempunyai efek sedatif tanpa menimbulkan efek anestetik berupa klorpomasin.

C. Cara Percobaan

1. Bahan
   a) Fenobarbital
   b) Klorpromasin
   c) Kloral hidrat, meprobamat atau diazepam
2. Alat
   a) Rotarod (batang berputar)
   b) Spuit 1 ml

3. Hewan uji: mencit
4. Cara Kerja
   a) Mencit (n=12) ditimbang dan dibagi menjadi 4 kelompok, masing-masing 3 ekor. Sebelum pemberian obat, hewan tersebut diletakan diatas rotarod selama 5 menit untuk adaptasi.



Gambar 9. Mencit Pada Rotarod

   b) Heawan coba diberi obat-obat berikut secara peroral:
      1) Kelompok kontrol (kelompok I) : 0,9% gram fisiologis
      2) Kelompok II : luminal 80 mg/kg BB
      3) Kelompok III : klorpromasin 100 mg/kg BB
      4) Kelompok IV : kloral hidrat, meprobamat, atau diazepam 20-50 mg/kg BB
   c) Pada menit-menit ke 15,30, 60, dan 120, mencit diletakan diatas rotarod selama 2 menit.
   d) Catat berapa kali binatang jatuh dari rotarod.
   e) Selama eksperimental berlangsung, amati:
      1) Refleks balik badan dan kornea
      2) Daya cengkram (pada kawat kasa)
      3) Perubahan diameter pupil.
   f) Tugas:
      1) Berdasarkan data rotarod, tentukan obat yang paling poten.
      2) Jika daya sedatif klorpromasin 100 mg/kg BB diberi skor = 1 (absolute), tentukan potensi relative obat-obat yang diuji.

D. Referensi

1. Ganiswara, S.G., Setiabudy, R., Suyatna, FD., Purwntyastuti & Nefrialdi, 1995, Farmakologi dan Terapi, Edisi 4, Jakarta; Gaya Baru
2. Katzung,B.G., 2002, Framakologi Dasar Klinik, ed. 8., Jakarta: Salemba Medika
3. Meyers,F.H., Jewetz, E., Goldfien, A., 1974, Review of Medical pharmacology, 4th Ed. California: Lange Medical Publ.
4. Tan, T.J & Rahardja, K., 2002, Obat-Obat penting: Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya, Jakarta: Elex Media Komputindo.

E. Pertanyaan

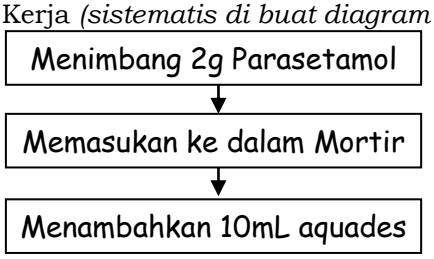
1. Kenapa mencit perlu diadaptasikan sebelumpercobaan?
2. Hilangnya refleks balik badan dan kornea, daya cengkeram dan perubahan pupil merupakan indikasi tahap apa?
3. Sebutkan mekanisme kerja masing-masing obat yang digunakan dalam praktikum ini.

LAMPIRAN

1. Format Laporan Sementara
   Mengikuti format laporan resmi namun hanya sampai BAB 2
2. Format Laporan Praktikum Resmi memuat:
   a. COVER *(memuat: judul topik/ praktikum, lambang Universitas Peradaban, nama semester, NIM, kelompok, gelombang dan menuliskan bulan serta tahun di bawah kata Bumiayu)* sesuai pada lampiran.
   b. BAB 1 PENDAHULUAN
      A. Dasar Teori *(dicari dari sumber buku/ jurnal bukan kopas dari laporan praktikum)*
         Salep adalah.....……. (Anief, 2008: 100).
      B. Tujuan

   c. BAB 2 METODE PERCOBAAN
      A. Alat dan Bahan
         1. Alat
            a. Gelas Beker
            b. ....dst
         2. Bahan
            a. Tragakan
            b. Sulfadiasin...dst

      B. Prosedur Kerja *(sistematis di buat diagram alir)*



   d. BAB 3 HASIL, ANALISIS DATA DAN PEMBAHASAN
      A. HASIL
      B. ANALISIS DATA *(analisis deskriptif meliputi: mean, pencilan, SD, CV)*
      C. PEMBAHASAN *(sesuaikan dengan hasil praktikum, analisis data dan dasar teori)*

   e. BAB 4 KESIMPULAN *(sesuaikan dengan tujuan praktikum)*
      Berdasarkan uraian pembahasan.....dapat ditarik simpulan:
      1. .....
      2. .....dst
   f. DAFTAR PUSTAKA *(mengacu pada buku dan/atau jurnal)*
      Day R.A. and Underwood alih bahasa Pudjaatmaka A,J,; 1996, *Analisis Kimia Kuantitatif, Ed. V*, Penerbit Erlangga, Jakarta
      Kanti, Feri. 2017. Penetapan Kadar Parasetamol menggunakan Metode Spektrofotometri UV dan KLT. *Jurnal Kimia Farmasi.* 10(2):200-210
   g. LAMPIRAN
      1. Hasil Praktikum (yang sudah di ACC asisten/ dosen)
      2. Dokumen Foto (jika ada)
      3. Jawaban Soal (jika ada)

3. Cover Laporan Praktikum

LAPORAN PRAKTIKUM FARMAKOLOGI EKSPERIMENTAL

.....

Oleh :

Nama

.....

SMT/ NIM

.....

Kelompok/Gelombang

.....

LABORATORIUM FARMAKOLOGI
JURUSAN FARMASI
UNIVERSITAS PERADABAN
BUMIAYU

.....