

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Warfarin

II.1.1. Karakteristik Umum Warfarin



Gambar 1 Sediaan Warfarin

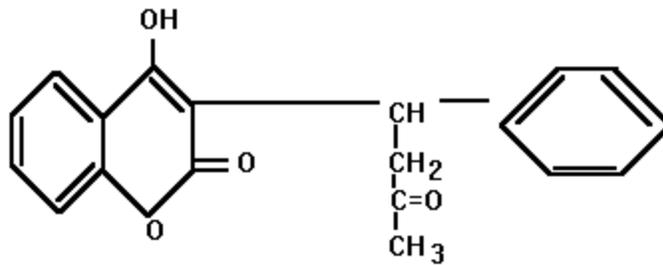
Warfarin, suatu antagonis vitamin bekerja dengan mencegah terbentuknya factor pembekuan VII, IX, X, dan II. Penggunaan warfarin efektif menurunkan kejadian *stroke* pada pasien dengan FA nonvalvular sebesar 68%. Namun, ada beberapa keterbatasan dalam penggunaan warfarin seperti indeks terapi yang sempit, banyak ber-interaksi dengan obat lain atau makanan, dan diperlukan pemantauan laboratorium secara berkala. Hal itu menyebabkan ambang terapi warfarin kurang dari dua pertiga keseluruhan pasien yang memakainya.⁸

Warfarin bekerja di hati dengan menghambat karboksilasi vitamin K dari protein prekursoranya. Karena waktu paruh dari masing-masing faktor pembekuan darah tersebut, maka bila terjadi deplesi faktor VII waktu protrombin sudah memanjang. Tetapi efek anti trombotik baru mencapai puncak setelah terjadi deplesi keempat faktor tersebut. Jadi efek anti koagulan dari warfarin membutuhkan waktu beberapa hari karena efeknya terhadap faktor pembekuan darah yang baru dibentuk bukan terhadap faktor yang sudah ada disirkulasi.¹

Warfarin tidak mempunyai efek langsung terhadap trombus yang sudah terbentuk, tetapi dapat mencegah perluasan trombus. Warfarin telah terbukti efektif untuk pencegahan stroke kardioembolik. Karena meningkatnya resiko pendarahan, penderita yang diberi warfarin harus dimonitor waktu protrombinnya secara berkala.¹

Walaupun efektif, terapi dengan warfarin mempunyai beberapa kelemahan. Banyak obat-obatan yang digunakan berinteraksi dengan warfarin, begitu juga dengan beberapa makanan (terutama sayuran hijau, karena mengandung banyak vitamin K₁) dan aktifitasnya harus dimonitor dengan test darah untuk memastikan dosis yang aman dan adekuat.⁹ *International normalized ratio* (INR) digunakan untuk terapi dengan warfarin ini, INR yang tinggi mempunyai merupakan predisposisi resiko tinggi perdarahan, sedangkan INR dibawah target terapi mengindikasikan dosis warfarin yang tidak cukup untuk melindungi dari kejadian *thromboembolic*.⁹

Warfarin mempunyai nama kimia 4-hydroxy-3-(3-oxo-1-phenylbutyl)-2H-chromen-2-one, dengan rumus kimia C₁₉H₁₆O₄, dan struktur kimia :



Gambar 2 Sturuktur kimia warfarin

Warfarin mempunyai sediaan berbentuk tablet dengan dosis bervariasi mulai dari 1 mg hingga 10 mg.



Gambar 3 Sediaan tablet warfarin

II.1.2. Farmakologi

Farmakokinetik :¹

- Mula kerja biasanya sudah terdeteksi di plasma dalam 1 jam setelah pemberian.
- Kadar puncak dalam plasma: 2-8 jam.
- Waktu paruh : 20-60 jam; rata-rata 40 jam.

- Bioavailabilitas: hampir sempurna baik secara oral, IM atau IV.
- Metabolisme: ditransformasi menjadi metabolit inaktif di hati dan ginjal.
- Ekskresi: melalui urine dan feses.

Farmakodinamik :¹

- Menghambat Vit K Epoxide reduktase sehingga terjadi deplesi faktor koagulasi *Vit K-dependent*.
- 99% terikat pada protein plasma terutama albumin.
- Absorbsinya berkurang bila ada makanan di saluran cerna.

Indikasi :¹

Untuk profilaksis dan pengobatan komplikasi tromboembolik yang dihubungkan dengan fibrilasi atrium dan penggantian katup jantung, serta sebagai profilaksis terjadinya emboli sistemik setelah infark miokard (*FDA approved*). Profilaksis TIA atau stroke berulang yang tidak jelas berasal dari problem jantung.

Kontraindikasi :¹

Semua keadaan di mana resiko terjadinya perdarahan lebih besar dari keuntungan yang diperoleh dari efek anti koagulannya, termasuk pada kehamilan, kecenderungan perdarahan atau *blood dyscrasias* dll.

Interaksi obat :¹

Warfarin berinteraksi dengan sangat banyak obat lain seperti asetaminofen, beta bloker, kortikosteroid, siklofosamid, eritromisin, gemfibrozil, hidantoin,

glukagon, kuinolon, sulfonamid, kloramfenikol, simetidin, metronidazol, omeprazol, aminoglikosida, tetrasiklin, sefalosporin, anti inflamasi non steroid, penisilin, salisilat, asam askorbat, barbiturat, karbamazepin dll.

Efek samping :¹

Perdarahan dari jaringan atau organ, nekrosis kulit dan jaringan lain, alopesia, urtikaria, dermatitis, demam, mual, diare, kram perut, hipersensitivitas dan priapismus.

Dosis :¹

Dosis inisial dimulai dengan 2-5 mg/hari dan dosis pemeliharaan 2-10 mg/hari. Obat diminum pada waktu yang sama setiap hari. Dianjurkan diminum sebelum tidur agar dapat dimonitor efek puncaknya di pagi hari esoknya. Lamanya terapi sangat tergantung pada kasusnya. Secara umum, terapi anti koagulan harus dilanjutkan sampai bahaya terjadinya emboli dan trombosis sudah tidak ada. Pemeriksaan waktu protrombin barns dilakukan setiap hari begitu dimulai dosis inisial sampai tercapainya waktu protrombin yang stabil di batas terapeutik. Setelah tercapai, interval pemeriksaan waktu protrombin tergantung pada penilaian dokter dan respon penderita terhadap obat. Interval yang dianjurkan adalah 1-4 minggu.

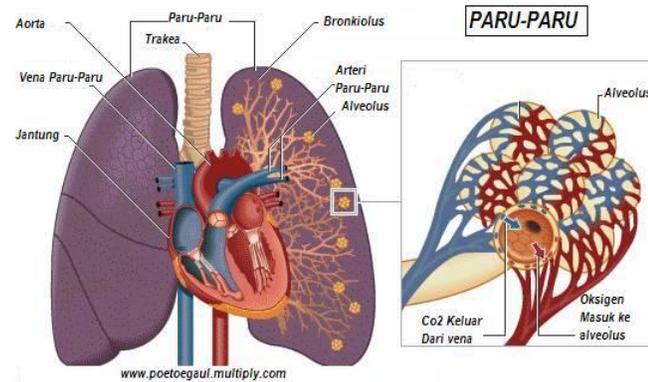
II.1.3. Manfaat Warfarin

Penggunaan obat anti trombotik bertujuan mempengaruhi proses trombosis atau mempengaruhi pembentukan bekuan darah (*clot*) intravaskular, yang melibatkan platelet dan fibrin. Obat anti platelet bekerja mencegah perlekatan (adesi) platelet dengan dinding pembuluh darah yang cedera atau dengan platelet lainnya, yang merupakan langkah awal terbentuknya trombus. Obat anti koagulan mencegah pembentukan fibrin yang merupakan bahan esensial untuk pembentukan trombus. Obat trombolitik mempercepat degradasi fibrin dan fibrinogen oleh plasmin sehingga membantu larutnya bekuan darah.¹

Penggunaan obat anti koagulan tidak dapat memperbaiki jaringan yang sudah rusak ataupun menghentikan secara langsung pembentukan thrombus tetapi obat anti koagulan ini lebih ditujukan sebagai pencegahan agar tidak terjadi komplikasi seperti meluasnya thrombus.¹

II.2. Fisiologi Organ

II.2.1. Paru



Gambar 4 Paru (sistem respirasi)

Sistem respirasi terdiri dari ventilasi dan pertukaran gas. System respiratori mempunyai lima fungsi dasar :¹⁰

1. Mempunyai luas permukaan yang *extensive* untuk pertukaran gas dan sirkulasi darah.
2. Menggerakkan udara dari dan ke tempat pertukaran di paru dan sepanjang jalur pernafasan.
3. Melindungi permukaan respirasi dari dehidrasi, perubahan temperatur, dan melindungi system respirasi dan jaringan lain dari pathogen.
4. Menghasilkan suara untuk berbicara, menyanyi dan bentuk komunikasi lain.
5. Memfasilitasi pengenalan bau oleh reseptor olfaktorik pada bagian *superior cavum nasal*.

Secara anatomis, system respiratori terbagi menjadi 2 yaitu *Upper respiratory system* dan *Lower respiratory system*. System respirasi bagian bawah dimulai dari *Larynx*.¹⁰

Perkembangan paru-paru manusia berawal dari *laryngotracheal groove* dan tumbuh berkembang selama beberapa minggu didalam fetus dan selama beberapa bulan setelah melahirkan.¹¹ *Larynx, trachea, bronchus, dan paru* mulai terbentuk pada minggu ke 4 *embryogenesis*.¹²

Volume pada paru, *total lung capacity* mencakup *inspiratory reserve volume, tidal volume, ekspiratori reserve volume, dan residual volume*.¹³ *Total lung capacity* dipengaruhi oleh usia seseorang, tinggi, berat, jenis kelamin dan biasanya berjumlah 4.000 sampai 6.000 cm³ (4-6 L). Contoh faktor yang mempengaruhi adalah, wanita cenderung mempunyai kapasitas 20-25% lebih rendah dibanding laki laki. Orang yang tinggi cenderung memiliki *total lung capacity* lebih besar daripada orang yang lebih pendek. Perokok memiliki kapasitas lebih rendah dari non-perokok. Salah satu pengukuran volume paru, yaitu *tidal volume*, adalah volume yang dihirup pada rata-rata pernafasan, yaitu sekitar 500 cm³.¹⁴

Pada pemeriksaan makroskopis akan dilihat berat dan ukuran dari organ tersebut. Pada pemeriksaan mikroskopis mengikuti kriteria penilaian presentase perdarahan paru berdasarkan perdarahan dinding alveoli. Pemeriksaan paru diolah mengikuti metode baku histologis dengan pewarnaan HE, preparat diamati dibawah

mikroskopi dalam 10 lapangan pandang dengan perbesaran 100X. Sasaran yang dibaca adalah persentase perdarahan dinding alveoli.

Tabel 1. Kriteria penilaian persentase perdarahan di alveoli.

Tingkat perdarahan	Skor
Tidak terjadi perdarahan	0
Perdarahan dinding <25%	1
Perdarahan dinding 25 % - 50 %	2
Perdarahan dinding 50 % - 75 %	3
Perdarahan dinding 75 % - 100 %	4

II.2.2. Usus Halus



Gambar 5 Usus Halus (sistem digestiv)

Usus halus berkembang dari *primitive gut tube* bagian *midgut*.¹⁵ Pada minggu ke 5 dari kehidupan embryologi, *Ileum* mulai tumbuh lebih panjang secara cepat, membentuk lipatan berbentuk “Ú” yang disebut *primary intestinal loop*. Lipatan tersebut memanjang secara cepat dan melebihi pertumbuhan abdomen dan menjulur ke *umbilicus*. Pada minggu ke 10, lipatan tersebut menarik kembali menuju abdomen. Diantara minggu 6 dan 10, Usus halus berputar berlawanan jarum jam, dilihat dari arah depan. Kemudian berputar lagi 180 derajat setelah bergerak kembali menuju abdomen. Proses ini mengakibatkan bentuk lilitan pada *Colon*.¹⁵

Usus halus berperan penting dalam digesti dan penyerapan nutrient. 90% penyerapan nutrient terjadi di Usus Halus. Sementara sisanya terjadi di *Colon*. Usus halus terdiri dari tiga bagian, yaitu *Duodenum*, *Jejunum*, dan *Ileum*.¹⁰

1. *Duodeum* : kurang lebih mempunyai panjang 25 centimeter, adalah segment atau bagian terdekat dengan gaster. Tempat keluarnya sekresi dari *Pancreas* dan *Liver*. Kecuali untuk 2,5cm proximalnya, *Duodenum* berada di retroperitoneal diantara vertebra L_1 dan L_4 .
2. *Jejunum* : panjang kurang lebih 2,5 meter, terdapat cekungan yang membatasi *Duodenum* dan *Jejunum*. Pada cekungan (*junction*) ini Usus halus masuk ke *cavum retroperitonii*.
3. *Ileum* : segment terakhir dari Usus halus, dan juga yang terpanjang. Rata-rata panjang 3,5 meter. *Ileum* berakhir pada *valve illeocecal*. *Sphincter* ini mengatur aliran dari *Ileum* ke *Caecum* dari *Colon*.

Regulasi dari aktifitas gaster : *Cephalic Phase, Gastric Phase, Intestinal Phase*.¹⁰

Struktur Histologi dari Usus halus sendiri terdiri dari :

- Mukosa

Epitel dari Usus halus adalah kolumner simpleks dan berfungsi untuk penyerapan. Epitelium ini menyusun *villi*, yang membentuk *brush border* dan meningkatkan area penyerapan. Setiap sel juga memiliki mikrovili yang tersusun menjadi *plica sirkularis* dan *vili*, dan enterosit memiliki mikrovili. Pada Ileum terdapat *Peyer's patches* pada lamina propria. *Brunner's glands* ditemukan hanya di *duodenum*.¹⁶

- Submukosa

Submucosa terdiri dari jaringan ikat dengan pembuluh darah, pembuluh limfe, dan saraf yang bercabang ke mucosa dan muscularis externa.¹⁶ Pada submukosa juga terdapat plexus Meissner.¹⁶

- Muskularis eksterna/muskularis propria

Terdiri dari dua lapisan otot, lapisan dalam dan lapisan luar. Otot pada lapisan dalam tersusun sirkuler, dimana otot lapisan luar tersusun longitudinal. Diantara kedua lapisan otot ini terdapat *plexus Auerbach*, yang mengendalikan peristaltik.¹⁶

- Serosa/adventitia

Bagian terluar dari traktus gastrointestinal tersusun atas beberapa jaringan ikat.^{16,17} Pada cavum abdomen organ didalamnya dapat dibagi menjadi

intraperitoneal dan *retroperitoneal*. Organ yang berada di *intraperitoneal* (disokong oleh peritoneum) dilingkupi oleh serosa. Struktur ini tersusun atas jaringan ikat yang dilingkupi oleh epitel skuamus simplek, yang disebut mesothelium. Bagian intraperitoneal meliputi hampir keseluruhan gaster, bagian I *duodenum*, *jejunum*, *ileum*, *caecum* dan *appendix*, *colon transversus*, *colon sigmoid* dan *rectum*.¹⁶

Pada pemeriksaan makroskopis akan dilihat berat dan ukuran organ tersebut. Pada pemeriksaan mikroskopis diolah mengikuti metode baku histologis dengan pewarnaan HE. Preparat diamati di bawah mikroskop dalam 5 lapangan pandang dengan perbesaran 400X. Sasaran yang dibaca integritas epitel mukosa usus halus dengan penilaian berdasarkan kriteria Barthel manja.⁴¹

Tabel 2. Skor Integritas epitel mukosa

Integritas epitel mukosa	Skor
Tidak ada perubahan patologis	0
Deskuamasi epitel	1
Erosi permukaan epitel (gap 1-10 sel epitel/lesi)	2
Ulserasi epitel (gap >10 sel epitel/lesi)	3

II.2.3. Metabolisme Warfarin terkait organ Paru, dan Usus halus

Obat antikoagulan warfarin mempunyai sepasang enantiomer, yang mempunyai cara metabolisme berbeda oleh sitokrom P450 (CYP). R-Warfarin utamanya dimetabolisme oleh CYP1A2 menjadi 6- dan 8-Hydroxywarfarin, oleh CYP3A4 menjadi 10-hydroxywarfarin, dan oleh Carbonyl reductase menjadi diastereisomeric alcohol. S-Warfarin terutama dimetabolisme oleh sitokrom CYP2C9 menjadi 7-Hydroxywarfarin.^{31,33} Sitokrom P450 (P450s) di Usus halus menjadi jalan *first-pass metabolism* dari xenobiotics lewat oral.³²

Pada mahluk bertulang belakang, Hati adalah sumber terbanyak dan paling aktif dalam *monooxygenase* xenobiotic.³⁵ CYP dan komponen lain dari sistem *CYP-dependent monooxygenase* juga ditemukan di kulit, mukosa nasal, paru, dan traktus gastrointestinal, yang diperkirakan evolusi dari mekanisme pertahanan pada *port de entry*. Selain organ-organ tersebut, CYP juga ada pada Ginjal, korteks adrenal dan medulla, plasenta, testis, ovarium, fetal dan *embryonic liver*, korpus luteum, aorta, platelet, dan system saraf. Pada manusia, CYP dapat ditemukan di hati orang dewasa dan fetal, plasenta, ginjal, testis, kelenjar adrenal, kulit, platelet darah, dan limfosit.^{34,35,36,37}

Walaupun sitokrom CYP ditemukan juga di lain jaringan, fungsi dari sitokrom pada organ, jaringan, atau tipe sel tampaknya tidak sama dalam semua hal. Di Hati, CYP mengoksidasi xenobiotic (dalam jumlah besar) dan juga steroid endogen dan pigmen empedu. CYP pada Organ Paru juga terutama berhubungan dengan oksidasi xenobiotic, walaupun spektrum *substrat*-nya lebih terbatas dibanding

dengan hati. Di kulit dan Usus Halus juga terjadi oksidasi xenobiotic, tapi aktifitasnya tidak terlalu tampak.^{34,38,39}

II.3. Uji Toksisitas

II.3.1. Definisi

Uji toksisitas merupakan pengujian yang dirancang untuk mengevaluasi keseluruhan efek umum suatu senyawa pada hewan coba. Tipe uji toksisitas terbagi menjadi dua, yaitu uji toksitas umum dan uji toksisitas khusus. Uji toksisitas umum terbagi lagi menjadi tiga, yaitu uji toksisitas akut, uji toksisitas jangka pendek (subakut/subkronik), dan uji toksisitas jangka panjang. Sedangkan uji toksisitas khusus mencakup uji karsinogenesis, mutagenesis, teratogenesis, dan imunotoksikologi.^{4,18}

II.3.2. Uji Toksisitas Akut

Toksisitas akut didefinisikan sebagai efek samping suatu substansi setelah pemberian dosis tunggal,¹⁹ atau dari pajanan berulang dalam jangka waktu yang singkat (kurang dari 24 jam).²⁰ Untuk digolongkan sebagai toksisitas akut efek samping harus muncul dalam waktu 14 hari setelah pemberian obat/racun.²⁰

Uji toksisitas akut dengan subjek test manusia di anggap *unethical*. Tetapi, beberapa informasi bisa didapat dari kecelakaan pajanan toksik terhadap manusia (kecelakaan pabrik). Tetapi, hampir semua data didapat dari uji hewan atau, akhir akhir ini, data dari metode test *in vitro* dan *interference* pada zat atau substansi yang sama.^{19,21}

Uji toksisitas, juga disebut uji keamanan, sering dilakukan oleh perusahaan farmasi untuk menguji obat, atau oleh fasilitas yang dikontrak untuk melakukan uji hewan. Sekitar satu juta hewan digunakan tiap tahunnya untuk uji toksikologi di eropa; 10% dari jumlah prosedur dan uji lain.²²

Tujuannya adalah untuk menentukan potensi toksisitas dari senyawa kimia pada manusia dan bentuk hidup lainnya agar aman untuk digunakan. Uji toksisitas akut juga berfungsi untuk menentukan efek samping yang terjadi dalam jangka pendek setelah pemberian dosis tunggal pada tes substansi. Uji toksisitas akut penting untuk menilai risiko yang ditimbulkan substansi kimia baru dan untuk kontrol yang lebih baik dari agen natural dan sintetis pada lingkungan manusia dan juga untuk melihat perubahan gambaran makroskopis dan mikroskopis akibat pajanan suatu senyawa. Selain itu juga, bertujuan untuk identifikasi dosis letal atau pajanan yang membunuh organisme setelah pajanan pendek atau dosis tunggal.²⁰

Prinsip dari uji toksisitas ini adalah suatu substansi tes diberikan secara oral dengan menggunakan alat bantu sonde dengan jarum intubasi ujung bulat (*ball-tipped*) dalam dosis yang telah ditentukan pada beberapa grup dari hewan percobaan, satu dosis per grup. selanjutnya observasi selama 14 hari setelah pemberian untuk melihat efek toksik dan kematian.²³

Tolak ukur yang paling sering digunakan dalam mengukur toksisitas akut adalah dosis lethal median (LD_{50}). LD_{50} didefinisikan sebagai dosis tunggal suatu zat yang akan membunuh 50% hewan coba. Pengujian ini juga dapat menunjukkan organ

sasaran yang mungkin dirusak dan efek toksik spesifiknya. Nilai LD₅₀ berguna untuk hal-hal sebagai berikut :¹⁸

- a. Memberikan informasi tentang mekanisme toksisitas, pengaruh umur, jenis kelamin, faktor pejamu, dan faktor lingkungan lainnya serta variasi respons antar spesies suatu populasi hewan.
- b. Memberi informasi yang dibutuhkan dalam merencanakan pengujian obat pada manusia dan dalam pengendalian mutu zat kimia, deteksi pencemaran toksik serta perubahan fisik yang mempengaruhi bioavailabilitas.
- c. Klasifikasi zat kimia sesuai dengan toksisitas relatifnya. Klasifikasi lazim yang digunakan adalah:

Tabel 3. Klasifikasi kategori toksik^{24,30}

Klasifikasi	LD ₅₀ untuk tikus mg/kg			
	Oral		Dermal	
	Padat	Cair	Padat	Cair
1. A. Sangat berbahaya sekali	<5	<20	<10	<40
1. B. Sangat Berbahaya	5-50	20-200	10-100	40-400
2. Berbahaya	50-500	200-2000	100-1000	400-4000
3. Cukup Berbahaya	>500	>2000	>1000	>4000

Secara umum, semakin besar nilai LD_{50} , semakin rendah tingkat toksisitas suatu senyawa. Begitupun sebaliknya, semakin kecil nilai LD_{50} semakin toksik senyawa tersebut.

- d. Evaluasi dampak keracunan yang tidak disengaja, perencanaan penelitian toksisitas subakut dan kronik pada hewan.
- e. Menentukan indeks terapeutik yaitu rasio antara dosis letal dan dosis efektif pada spesies dan strain yang sama.

Walaupun toksisitas merupakan sifat bawaan suatu zat, bentuk dan tingkat manifestasi toksiknya pada suatu organisme bergantung pada berbagai jenis faktor. Beberapa faktor tersebut adalah :¹⁸

- a. Spesies, strain, dan individu

Telah lama diketahui adanya perbedaan efek toksik antara satu spesies dengan spesies lain. Walaupun demikian, di antara mamalia pun terdapat perbedaan yang menonjol dalam toksisitas. Hal ini disebabkan oleh perbedaan mekanisme detoksifikasi.

- b. Perbedaan jenis kelamin

Hewan jantan dan betina dari strain dan spesies yang sama biasanya bereaksi terhadap toksikan dengan cara yang sama pula. Namun, terdapat perbedaan kuantitatif menonjol dalam kerentanan mereka, terutama tikus.

c. Umur

Pada sebagian besar toksikan, organisme muda lebih rentan 1,5-10 kali daripada yang dewasa. Lebih rentannya hewan muda terhadap banyak toksikan disebabkan oleh defisiensi berbagai sistem detoksifikasi.

d. Rute pemberian

Nilai LD_{50} dipengaruhi pula oleh rute pemberian. Nilai terkecil didapatkan dengan rute intravena dan meningkat berturut-turut dengan rute pemberian intraperitoneal, subkutaneus, dan peroral.

e. Faktor lingkungan

Terdapat beberapa faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi toksisitas antara lain pengandangan hewan, pola siang dan malam, suhu, dan kelembaban relatif. Walaupun demikian, nilai LD_{50} untuk kebanyakan bahan kimia hanya sedikit dipengaruhi oleh faktor ini.

f. Kesehatan hewan

Status kesehatan hewan dapat memberikan respon yang berbeda terhadap suatu toksikan. Hewan yang lemah lebih rentan terhadap racun dan obat karena resistensi umum dan mekanisme detoksifikasinya terganggu. Misalnya, penyakit hepar atau ginjal dapat meningkatkan kerentanan terhadap racun.

II.3.3. Uji Toksisitas Subakut/Subkronis

Uji toksisitas subakut atau subkronik dilakukan dengan memberikan dosis berulang selama jangka waktu kurang lebih 10% dari masa hidup hewan.⁴

Studi oral selama 28 atau 90 hari pada tikus atau anjing merupakan ciri khas dari uji ini. Uji ini sering digunakan sebagai dasar untuk menentukan nilai *No Observed Effect Level* (NOEL). Nilai ini sering didefinisikan sebagai level dosis tertinggi dimana efek yang merugikan atau abnormal tidak dapat diukur dan sering digunakan pada kalkulasi penilaian risiko. Uji subkronis juga digunakan untuk memberikan informasi mengenai target organ dan potensi terjadinya akumulasi senyawa kimia pada organisme.⁴

II.3.4. Uji Toksisitas Kronis

zat uji diberikan selama sebagian besar masa hidup hewan uji, dengan durasi 2 - 7 tahun bergantung pada umur spesies. Spesies dipilih dari hasil uji subkronis sebelumnya, studi farmakodinamik atas beberapa spesies hewan, mungkin dapat juga pada manusia dengan dosis tunggal yang memungkinkan sebagai uji coba, jika tidak digunakan dua spesies. Pengujian minimum dilakukan pada dua peringkat dosis dengan jalur pemberian jalur penggunaan dimaksud pada penggunaan dari bahan uji tersebut.⁴

Evaluasi yang dilakukan meliputi: seluruh hewan ditimbang seminggu sekali, pemeriksaan badan lengkap seminggu sekali, uji kimia darah, analisis air kencing, pemeriksaan hematologi dan uji fungsi atas seluruh hewan pada interval 3 sampai 6 bulan dan atas seluruh hewan yang sakit atau abnormal. Seluruh hewan dapat mengalami bedah mayat lengkap yang menyangkut histologi dari seluruh organ. Uji toksisitas kronik meliputi juga: uji karsinogenitas, uji toksisitas reproduksi:

menentukan efek atas kemampuan reproduksi hewan uji, dan teratogen: uji toksisitas untuk menentukan efek atas janin (fetus) pada hewan bunting.⁴

II.4. Hewan Coba

II.4.1. Definisi

Hewan laboratorium adalah hewan yang dikembang biakan untuk tujuan penelitian.²⁵ *Rat-baiting* adalah permainan populer yang mencakup sebuah lubang(*pit*) dan menghitung berapa waktu yang dibutuhkan untuk seekor anjing *Terrier* untuk membunuh semua tikus. Seiring waktu, pengembang biakan tikus untuk permainan/kontes seperti ini menghasilkan variasi pada warna, terutama albino. Pertama kali variant albino ini dibawa untuk penelitian di laboratorium pada tahun 1828, pada eksperimen puasa. Pada 30 tahun selanjutnya, tikus digunakan untuk beberapa eksperimen dan tikus menjadi hewan pertama yang dikembang biakan khusus untuk penelitian.²⁵

Saat ini pemilihan hewan coba untuk penelitian memiliki beberapa pertimbangan seperti ketersediaan, kemudahan perawatan, dan tipe metabolisme serta farmakokinetiknya. Hewan yang dipilih untuk penelitian ini adalah tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar jantan.

II.4.2. Perlakuan Hewan Coba

Hewan coba yang akan digunakan harus diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7-14 hari. Karantina ini bertujuan agar hewan coba beradaptasi dengan suasana

laboratorium dan menghilangkan stres akibat transportasi dan lingkungan yang berbeda. Temperatur dan kelembaban juga harus diperhatikan.²⁹

Temperatur dijaga pada suhu kamar (18-26⁰ C) dan kelembaban antara 40-70%.

II.4.3. Cara Perlakuan Pada Hewan Coba

Secara umum toksikan harus diberikan melalui jalur yang biasa digunakan oleh manusia. Jalur melalui oral paling sering digunakan. Ada beberapa cara yang dapat dilakukan bila akan diberikan per oral, salah satunya dengan menggunakan dengan sonde.⁴

II.4.4. Pengamatan

Sebelum diberikan perlakuan, pengamatan dimulai dari berat badan dan tingkah laku hewan coba. Setelah diberikan suatu zat aktif, hewan diobservasi sesuai dengan jenis toksisitas yang akan diteliti. Jangka waktu yang digunakan bervariasi.⁷

Perubahan berat badan, gejala toksisitas hingga kematian harus dilaporkan dalam penelitian. Pada toksisitas akut, pengamatan dilakukan selama 7-14 hari.⁷

Pengamatan dilanjutkan dengan pemeriksaan organ secara makroskopis maupun mikroskopis dengan pemeriksaan histopatologi. Berdasarkan hasil tersebut dapat dilihat kerusakan pada organ-organ hewan coba.

II.5. Tikus (*Rattus norvegicus*)



Gambar 6 *Rattus norvegicus* galur Wistar

Strain atau galur, pada hubungannya dengan tikus, adalah sebuah kelompok yang semua anggotanya mempunyai genetic yang sama. Pada tikus, ini didapat dengan *inbreeding*. Dengan adanya populasi seperti ini, dapat dilakukan eksperimen yang berhubungan dengan gen, atau melakukan eksperimen yang mempunyai pengecualian variasi dalam genetic sebagai faktor. Sebaliknya, populasi dengan *outbred* sering digunakan ketika genotip yang identik tidak diperlukan atau sebuah populasi dengan variasi genetik diperlukan.²⁶

Tikus Wistar adalah tikus biakan albino. Jenis ini pertama kali dikembangkan di Wistar Institute pada 1906 untuk digunakan pada penelitian biologis dan medis, dan juga tikus pertama yang dikembangkan sebagai *model organism* pada waktu itu, ketika laboratorium utamanya menggunakan tikus rumah (*Mus musculus*). Lebih dari setengah strain tikus laboratorium diturunkan dari koloni asli yang disusun oleh

physiologist Henry Donaldson, *scientific administrator* Milton J.Greenman, dan peneliti genetic/embryologist Helen Dean King.^{27,28}

Tikus Wistar saat ini adalah tikus yang paling sering digunakan untuk penelitian laboratorium. Dengan karakteristiknya yaitu kepala lebar, telinga panjang, dan mempunyai panjang ekor yang selalu kurang dari panjang badannya. Tikus Sprague Dawley dan Long-Evans dikembangkan dari tikus Wistar ini. Tikus Wistar lebih aktif dari Tikus Sprague Dawley yang lain.²⁹

II.5.1. Klasifikasi *Rattus norvegicus*

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>norvegicus</i>