

**TEKNIK EUTANASI DAN NEKROPSI TIKUS (*Rattus norvegicus*) DI
NATIONAL LABORATORY ANIMAL CENTER (NLAC), MAHIDOL
UNIVERSITY, THAILAND PERIODE 20 NOVEMBER – 2 DESEMBER
2017**

Oleh :

Khairani Saputri Siregar
15/380521/SV/08328

INTISARI

Penggunaan hewan laboratorium sangat diperlukan dalam berbagai pengembangan penelitian baik dalam ilmu pengetahuan maupun dalam bidang medis/kesehatan. Hewan laboratorium adalah setiap hewan yang digunakan pada sebuah penelitian biologis dan biomedik yang dipilih berdasarkan syarat atau standar dasar yang diperlukan dalam penelitian tersebut. Tujuan penulisan tugas akhir ini adalah untuk mengetahui teknik eutanasi dan nekropsi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) di *National Laboratory Animal Center (NLAC) Mahidol University*, Thailand. Pengambilan data dilakukan dengan praktek dan pengamatan langsung pada 20 November – 2 Desember 2017. Teknik eutanasi yang dilakukan di NLAC, *Mahidol University* menggunakan dua cara yaitu secara inhalasi menggunakan Karbon Dioksida (CO₂) dan dengan cara injeksi menggunakan zat farmakologi golongan pentobarbital (Nembutal®) secara *intraperitoneal*. Teknik nekropsi diawali dengan desinfeksi menggunakan alkohol 70% dan dilakukan insisi pada *linea alba* dari anus ke arah *cranial*, kemudian dilakukan pemeriksaan organ dan pengambilan organ yang terindikasi adanya perubahan atau abnormalitas organ. Teknik eutanasi, dan nekropsi yang dilakukan di NLAC sesuai dengan standar operasional prosedur yang ditetapkan oleh laboratorium tersebut.

Kata kunci: *eutanasi, nekropsi, tikus, NLAC.*

**EUTHANASIA AND NECROPSY TECHNIQUES IN RAT (*Rattus norvegicus*) IN *NATIONAL LABORATORY ANIMAL CENTER (NLAC)*,
MAHIDOL UNIVERSITY, THAILAND PERIOD 20 NOVEMBER – 2
DECEMBER 2017**

By :

Khairani Saputri Siregar

15/380521/SV/08328

ABSTRACT

Laboratory animal is necessary in the various research development both in science and medical/health. Laboratory animal is every animal that used in a biologic and biomedic by the research. This final paper purpose to know euthanasia technique and necropsion on white mouse (*Rattus norvegicus*) in *National Laboratory Animal Center (NLAC) Mahidol University*. Data collection was done with practice and direct observation on 20 November – 2 December 2017. There are two euthanasia technique that have been used in NLAC, first inhalation euthanasia using CO₂ and injection of pharmacological substance that classified as pentobarbital (Nembutal[®]) on intraperitoneal. Necropsion technique started by disinfection using 70% alcohol and linea alba incision from anus head to cranial , then observating the organ to search abnormality and take the abnormal part. Euthanasia and necropsy technique on NLAC according to the standarts set by the laboratory.

Keywords: *euthanasia, necropsy, rat, NLAC.*

PENDAHULUAN

Latar Belakang Masalah

Hewan coba banyak digunakan dalam studi eksperimental berbagai cabang medis dan ilmu pengetahuan dengan pertimbangan hasil penelitian tidak dapat diaplikasikan langsung pada manusia untuk alasan praktis dan etis. Pemakaian hewan coba untuk penelitian klinis pada manusia telah memberikan kontribusi besar terhadap pemahaman tentang berbagai proses fisiologis dan patologis yang mempengaruhi manusia, namun demikian dalam penggunaan hewan penelitian harus didasarkan pada prinsip-prinsip ilmiah, etika dan hukum. Rodensia atau hewan pengerat merupakan hewan coba yang banyak digunakan dalam penelitian, yaitu mencapai sekitar 69% karena murah dan mudah untuk ditangani, rentang hidup yang singkat, mudah beradaptasi pada kondisi sekitarnya dan tingkat reproduksi yang cepat sehingga memungkinkan untuk penelitian proses biologis pada semua tahap siklus hidup (Ferreira *et al.*, 2008).

Tikus dan mencit merupakan hewan rodensia banyak digunakan dalam penelitian. Tikus sebagai “*mouse model*” sangat cocok untuk penelitian penyakit pada manusia dengan adanya kesamaan organisasi DNA dan ekspresi gen dimana 98% gen manusia memiliki gen yang sebanding dengan gen tikus. Tikus juga memiliki kesamaan dengan manusia dalam sistem reproduksi, sistem syaraf, penyakit (kanker, diabetes) dan bahkan kecemasan (Malole dan Pramono, 1989).

Strain tikus telah banyak digunakan sebagai hewan model penyakit cukup lama jauh sebelum ada proyek genom dan transgenik tikus. Ada sejumlah besar tikus strain laboratorium (*Rattus norvegicus*) yang tersedia, dan dalam sejarah

pemuliaan menunjukkan bahwa strain tikus laboratorium merupakan strain tunggal yang isogenik dan hal ini sangat penting karena dapat mengurangi variasi alami diantara species. Rodensia lainnya seperti kelinci dan marmut juga banyak dipakai sebagai subyek penelitian. Kelinci termasuk keluarga *Leporidae* dari ordo *Lagomorpha* sedangkan marmot (*Cavia porcellus*), termasuk famili *Caviidae* dan genus *Cavia*. Beberapa alasan mengapa kelinci dan marmot banyak digunakan sebagai hewan coba dalam penelitian adalah selain karena pertimbangan praktis, kedua hewan model tersebut adalah yaitu hewan sangat jinak dan lembut, juga karena mudah untuk ditangani dan memerlukan perawatan yang relatif murah serta dapat berkembangbiak secara cepat (Pearce *et al.* 2007).

Teknisi laboratorium perlu menguasai teknik pemeliharaan, pembiakan dan penggunaan hewan dan jenis hewan yang cocok untuk penelitian yang bermanfaat dan efektif. Penggunaan hewan laboratorium harus disertakan penguasaan teknik-teknik dasar dalam penelitian, seperti teknik eutansi dan nekropsi pada hewan percobaan.

Tujuan

Tujuan penulisan tugas akhir ini adalah memahami tentang teknik eutansi dan teknik nekropsi yang dilakukan di *National Laboratory Animal Center (NLAC), Mahidol University, Thailand Periode 20 November – 2 Desember 2017.*

Manfaat

Tugas akhir ini bermanfaat untuk menambah pengetahuan dan wawasan bagi pembaca tentang teknik eutanasi dan teknik nekropsi yang dilakukan di *National Laboratory Animal Center (NLAC), Mahidol University, Thailand* Periode 20 November – 2 Desember 2017.

TINJAUAN PUSTAKA

Pengertian Dan Karakteristik Tikus

Tikus sebagai hewan coba di laboratorium yang paling umum digunakan adalah tikus Norwegia yang telah berevolusi menjadi *Rattus norvegicus* yang hidup terutama dalam liang di tanah. Berdasarkan perilaku alami, semua spesies rodensia termasuk tikus adalah spesies sosial dan harus rutin ditempatkan berpasangan atau kelompok, dengan beberapa pengecualian. Semua spesies tikus perlu ditempatkan dalam kandang dengan populasi tidak terlalu padat perlu dipertimbangkan pada saat di buat kelompok atau konfigurasi kandang yang dapat menghambat visualisasi antara hewan sehingga meminimalkan interaksi agonistik (Scharmann, 1991).

Tabel 1. Taksonomi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Kriteria	Keterangan
Kingdom	Animalia
Filum	Chordata
Kelas	Mamalia
Ordo	Rodentia
Subordo	Odontoceti
Familia	Muridae
Genus	Rattus
Spesies	<i>Rattus norvegicus</i>

(Mark, 2005)

Tikus adalah hewan yang sangat sosial dan di alam liar tinggal di koloni besar yang terdiri dari 100 atau lebih. Kelompok-kelompok kecil hingga delapan betina terkait dapat berbagi liang dengan ruang sarang yang terpisah. Dalam populasi dengan kepadatan rendah, baik pejantan dan betina adalah teritorial tetapi dalam lingkungan dengan kepadatan tinggi, jantan mungkin menjadi despotik

(penguasa) dan interaksi didasarkan pada individu dan respon tikus di lokasi sebenarnya (Mark, 2005).

Tabel 2. Data Karakteristik Biologis Tikus

Kriteria	Keterangan
Lama hidup	2-3 tahun dapat sampai 4 tahun
Lama bunting	20-22 hari
Umur sapih	21 hari
Umur dewasa	40-60 hari
Siklus kelamin	Poliestrus
Siklus estrus	4-5 hari
Lama estrus	9-20 jam
Perkawinan	Pada waktu estrus
Berat dewasa	300-400 g jantan ; 250-300 g betina
Berat lahir	5-6 gram
Jumlah anak	Rata-rata 9 (dapat 20)
Suhu (rectal)	36-39 c (rata-rata 37,5 C)
Pernafasan	65-115/menit, turun menjadi 50 dengan anastesi, naik sampai 150 dalam stres
Denyut jantung	330-480/menit, turun menjadi 250 dengan anastesi, naik sampai 550 dalam stress
Tekanan darah	90-180 sistol, 60-145 diastol, turun menjadi 80 sistol, 55 diastol dengan anastesi
Sel darah merah	$7.2 - 9.6 \times 10^6 / \text{mm}^3$
Sel darah putih	$5.0 - 13.0 \times 10^3 / \text{mm}^3$
ALT (SGPT)	17.5 – 30.2 IU/liter
AST(SGOT)	45.7 – 80.8 IU/liter

(Takahashi *et al.*, 2010)

Tikus di alam liar, mungkin mempertahankan wilayah dari penyusup, namun tikus jantan remaja dapat diterima dalam koloni lainnya. Walaupun ada perbedaan yang jelas dalam ukuran dan perilaku antara strain liar dan mencit domestik, perilaku tikus domestik dari segala usia, perilaku liar dengan cepat akan kembali jika diberi kesempatan (Takahashi *et al.*, 2010).

Eutanasi

Definisi

Eutanasia berasal dari bahasa Greek, yaitu *eu* = baik dan *thanatos* = kematian sehingga arti kata eutanasia adalah kematian yang baik. Tandanya adalah kehilangan kesadaran secara cepat diikuti dengan berhentinya detak jantung dan pernafasan serta hilangnya fungsi otak (Javma, 2001). Berdasarkan Avma (2013), eutanasia diartikan sebagai menghilangkan rasa sakit serta kematian yang mudah pada penderita yang sangat menderita atau penyakit yang berat. Menurut Franson (2004) eutanasi adalah kematian yang manusiawi, Rietveld (2003) menyatakan bahwa tujuan eutanasi adalah meminimalkan kesakitan dan ketidaknyamanan pada hewan.

Metode Eutanasi

cervical dislocation (pemutaran leher) merupakan metode euthanasia untuk burung, hewan dengan bobot <125 gr, kelinci dan rodensia dengan BB 125 gr – 1 kg. Hewan yang akan dimatikan harus dalam keadaan telah anaestesi dan tidak boleh dilakukan pada hewan dalam keadaan sadar. Prosedur *cervical dislocation* adalah otak dipisahkan dari tulang belakang pada hewan berukuran kecil, kemudian hewan digenggam di dasar tengkorak dengan satu tangan dan di dasar leher dengan tangan yang lain, dan menarik dengan cepat dan tegas ke arah yang berlawanan dengan kuat.

Metode ini tidak diperbolehkan untuk meng-euthanasia kelinci atau rodensia dengan BB > 1 kg, anjing, kucing, ternak potong (Franson, 2004).

Teknik ini sangat efektif, cepat, murah dan efek terhadap tes diagnostik sangat rendah.



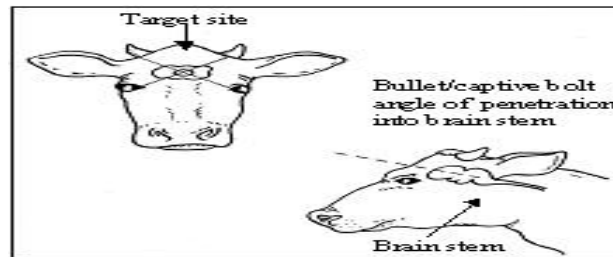
(Franson, 2004)

Gambar 1. *Cervical Dislocation*. Caranya adalah otak dipisahkan dari tulang belakang pada hewan berukuran kecil, kemudian hewan digenggam di dasar tengkorak dengan satu tangan dan di dasar leher dengan tangan yang lain, dan menarik dengan cepat dan tegas ke arah yang berlawanan dengan kuat.

Decapitation (perusakan otak lewat leher) dilakukan dengan jalan memotong kepala hewan dengan menggunakan peralatan tajam dengan tujuan untuk memutus kepekaan saraf tulang belakang (Gambar 1). Hewan yang diperbolehkan untuk di ekapitasi sama dengan pada *cervical dislocation* (Isbago, 1992).

Stunning & exsanguinations (removal blood) dilakukan dengan jalan merusak bagian tengah tengkorak agar hewan menjadi tidak sadar diikuti penyembelihan untuk mengeluarkan darah dengan memotong pembuluh darah utama di bagian leher. Teknik ini sangat cocok untuk diterapkan pada hewan potong serta hanya bisa dioperasikan apabila tes diagnostik pada otak tidak diperlukan (Isbago, 1992).

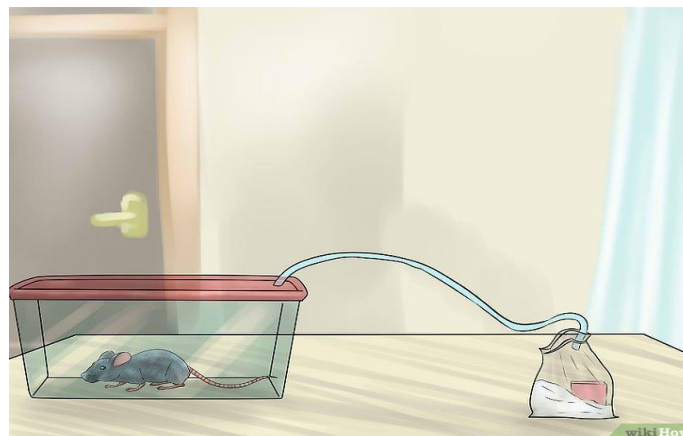
Captive bolt atau *gunshot*, merupakan metode yang umum dipergunakan dirumah potonghewan utamanya kuda, ruminansia dan babi. Pelaksanaannya memerlukan seorang ahli agar tercapai kematian yang manusiawi selain untuk keamanan



(Riedveld, 2003)

Gambar 2. Captive bolt atau gunshot. Caranya adalah hewan dimatikan dengan jalan menembak langsung kepalanya apabila otaknya diperlukan untuk tes diagnostik maka penembakan dilakukan di leher.

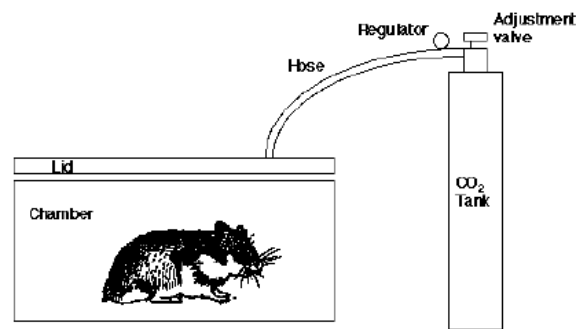
Euthanasia Kimia yaitu memasukkan agen toksin kedalam tubuh dengan suntikan atau inhalasi. Prosedur inhalasi hanya boleh dilakukan oleh operator yang telah mendapat izin untuk menggunakan bahan kimia karena material yang akan digunakan sangat berbahaya bagi manusia.



(Franson, 2004)

Gambar 3. Eutanasia Kimia dengan inhalasi CO₂. Inhalasi CO₂ ditujukan untuk membuat hewan dengan bobot < 7kg. Agen inhalasi yang dipilih menjadikan hewan tidak sadar secara cepat.

Adapun agen yang diperbolehkan adalah *halothane*, *enflurane*, *methoxyflurane*, *nitrous*, *carbondioxide*, *derivat barbiturat*, *magnesiumsulfat*, *KCl*. Sedangkan agen inhalasi yang tidak boleh dipergunakan adalah *chloroform*, gas *hydrogen sianida*, CO, *Chloral hidran*, dan striknin. Meskipun demikian pada kenyataannya CO, *chloroform* maupun *ether* masih tetap dipergunakan terutama apabila jumlah hewan yang akan dieutanasia banyak. Agen inhalasi juga bisa dicelupkan dan diletakkan didalam kotak sampai hewan tidak sadar dan mati apabila fasilitas di bawah ini tidak tersedia (Franson, 2004).



(Franson J, 2004)

Gambar 4. Euthanasia pada Tikus Tabung yang Dialiri Gas CO₂. Teknik ini umum dilakukan untuk euthanasia burung, mencit atau tikus dalam jumlah banyak dengan jalan meletakkan hewan pada kotak yang tertutup plastik yang dialiri gas CO₂ secara bertahap.

Inhalasi dosis letal umum diberikan pada hewan peliharaan yang sudah tua yang menderita sakit. Prosedur ini apabila diterapkan pada hewan percobaan kemungkinan besar akan mempengaruhi hasil akhir penelitian serta karkasnya tidak bisa dikonsumsi (Gambar 4).

Berdasarkan keterangan diatas yang mengacu pada petunjuk pelaksanaan euthanasia, pada dasarnya euthanasia diperbolehkan apabila manfaat yang diperoleh lebih besar dari pengorbanan hewan tersebut serta hewan tidak menderita. Para ahli sepakat bahwa dasar utama euthanasia adalah meminimalkan rasa takut dan

rasa sakit dari hewan. Meskipun demikian dalam pelaksanaannya masih ada unsur moral yang belum diatur sehingga selalu menimbulkan kontroversial (Setiatin, 2004).

Salonii (2004) mengungkapkan bahwa eutanasia apabila diterapkan pada hewan masih bisa diterima sedangkan pada manusia merupakan tindakan ilegal. Perbedaan ini erat kaitannya dengan fungsi hewan dalam menunjang kehidupan manusia. Hal ini menunjukkan bahwa selama hewan tersebut dimanfaatkan untuk kemaslahatan manusia maka eutanasia diperbolehkan. Eutanasia apabila ditinjau dari kajian etiknya sangat dipengaruhi oleh faktor manusia.

Hewan penelitian yang dipergunakan untuk pendidikan hanya 1% sedangkan pemanfaatan terbesar adalah pengujian obat dan bidang biomedis. Hewan percobaan sangat berjasa dalam menunjang keberhasilan di bidang kedokteran. Solusi yang dipilih sangat sulit karena ilmu pengetahuan terus berkembang dan semakin luas berantara ilmu yang dipelajari. Upaya yang bisa meminimalkan efek negatif pemanfaatan hewan untuk uji biologis adalah membuat kultur jaringan atau organ sehingga efek kesakitan yang mungkin timbul sudah bisa diantisipasi terlebih dahulu serta peneliti akan lebih akurat dalam pengamatan dengan melihat efeknya pada organ atau jaringan tertentu (Salonii, 2004).

Alternatif di atas sejalan dengan pemikiran Baumans (2003) yang mengungkapkan bagaimana pemanfaatan hewan secara etik bisa diterima yang dikenal dengan *Three R's* yaitu *Replacement*, *Reduction* and *Refinement*. *Replacement* dilakukan dengan cara hewan hidup diganti dengan teknik *in vitro*,

Reduction dilakukan secara statistik dengan menurunkan jumlah hewan yang akan dipergunakan dengan cara mengestimasi sebelum penelitian, *Refinement* artinya mengurangi rasa tidak nyaman pada hewan yang dieuthasia dengan menggunakan anaestesi, analgesik, perhatian dan keahlian dari operator yang melakukannya.

Permasalahan lain yang terkait dengan prosedur pelaksanaannya masih belum terpecahkan. Prosedur *cervical dislocation* (Gambar 1) dan *decapitation*, misalnya masih menjadi perdebatan antara peneliti biomedis, dokter hewan dan spesialis etik. Eutanasia atau *mercy killing* mempunyai prosedur yang berbeda apabila diterapkan pada hewan kesayangan, penderita penyakit zoonosis, hewan liar, dan hewan yang akan dikonsumsi (Guedel A, 1953).

Nekropsi

Nekropsi (pemeriksaan postmortem) dilakukan untuk menentukan kausa penyakit dengan melakukan diskripsi lesi makroskopis dan mikroskopis dari jaringan dan dengan melakukan pemeriksaan serologi dan mikrobiologis yang memadai. Pemeriksaan postmortem dilakukan bila ditemukan adanya penurunan produksi, terdapat tanda-tanda yang jelas akan sakit atau diketahui adanya peningkatan jumlah kematian, dan atas permintaan klien (Butcher dan Richard, 2003).

Menurut Carlyle dan Chester (1954) pada umumnya ada 2 macam cara nekropsi yaitu : (1) Seksi lengkap, dimana setiap organ / jaringan dibuka dan diperiksa. (2) Seksi tidak lengkap, bila kematian/ sakitnya hewan diperkirakan menderita penyakit yang sangat menular/zoonosis (anthrax, Avian Infuenza,

hepatitis, dsb). Nekropsi harus dilakukan sebelum bangkai mengalami *autolysis*, jadi sekitar 6-8 jam setelah mati.

Tahapan pertama dalam proses nekropsi adalah *Record*/ catatan medis keadaan kulit/bulu, lubang alami, adanya ektoparasit, warna mukosa, dan sebagainya, memeriksa keadaan luar secara umum meliputi jenis hewan, kelamin, umur, keadaan gigi, kondisi kulit, selaput mukosa mata, rongga mulut, bawah lidah, telinga, leher, perut, bagian dalam paha, persendian, telapak kaki, pangkal ekor, sekitar anus dan alat kelamin serta ambing (Hrapkiewicz dan Medina, 2007).

Menurut Davis dan Teresa (2008) Alat dan bahan yang harus dipersiapkan antara lain *glove*/sarung tangan, label, botol, *blade*, *scalpel* dan wadah untuk spesimen serta wadah khusus untuk spesimen yang membutuhkan isolasi. Instrumen lain yang mungkin diperlukan pemotong tulang, gunting bedah, dan jarum suntik. Bahan yang digunakan dalam proses nekropsi adalah *ketamine* untuk anestesi serta larutan bufer formalin 10 % yang digunakan untuk jaringan yang akan diproses *histology*.

Tahap pertama dalam nekropsi tikus adalah melakukan anestesi tikus dianestesi dengan menggunakan *ketamine*. Setelah hewan tidak sadarkan diri, hewan ditempatkan dengan punggung menempel pada meja atau *Styrofoam*. Tiap kaki difiksasi dengan jarum. Seluruh kulit dan rambut dibasahi. Membuat sayatan disepanjang *linea alba* mulai dari region mentalis hingga ketepi *pectin anterior ossis pubis*. Kemudian kulit dipreparir hingga dapat dipatahkan ke samping. Pengamatan dilakukan dalam keadaan *subcutis*. Pembukaan organ abdomen

dilakukan dengan cara otot perut (dinding abdomen) digunting dilinea alba mulai dari ujung tulang dada (*processus xiphoideus*) hingga *pectin ossis pubic*. Setelah pembukaan dinding abdomen dilakukan pengamatan dan diperiksa setiap organ. Pengambilan darah melalui aorta abdominalis dapat dilakukan. Pembukaan rongga dada, tulang rusuk terakhir dipotong kedepan menuju arkus tulang sternum. Pemotongan dilakukan pada sisi kanan maupun sisi kiri. Kemudian rongga dada dibuka dan dilakukan pemeriksaan insitu, pemeriksaan tymus, jantung dan paru-paru. Pengeluaran organ dada dilakukan insisi dimulai dari organ lidah, oesopagus dan *trachea*, *tymus*, jantung dan paru-paru yang dikeluarkan dalam satu kesatuan kemudian diamati. Pembukaan *cranium* dan pengambilan otak. Buat sayatan pada kulit daerah kepala kemudian diikuti dipotong atau digunting daerah di belakang telinga dan dibelakang mata, setelah itu tulang kepala dibuka dan terlihat otak (Clifton, 2011).