

## METODE UJI FARMAKODINAMIK SEBAGAI SALAH SATU PEMBUKTIAN KHASIAT OBAT BAHAN ALAM SEBAGAI ALTERNATIF PILIHAN TERAPI THALASEMIA

NURFITRI., L VENITA

Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia

Email : [fisna\\_2000@yahoo.com](mailto:fisna_2000@yahoo.com), [venitaku@yahoo.com](mailto:venitaku@yahoo.com)

### ABSTRAK

Uji farmakodinamik merupakan pembuktian khasiat produk pada hewan uji secara ilmiah. Metode ini selanjutnya digambarkan dalam model hewan coba yang berfungsi menggantikan subjek manusia yang dimodelkan. Pemilihan model hewan coba berperan penting untuk memahami khasiat obat bahan alam sebagai alternatif pilihan terapi thalassemia dan selanjutnya digunakan sebagai dasar pelaksanaan uji klinik. Penelitian mengenai thalassemia terus dilakukan sebagai upaya mencari solusi alternatif penanganan kasus thalassemia, strategi pengobatan yang tepat dan membantu meringankan beban negara BPJS. Obat bahan alam diharapkan dapat berperan sebagai adjuvant ataupun menggantikan obat standar thalassemia yang mahal. Penelitian untuk menemukan strategi pengobatan harus dimulai dari serangkaian uji farmakodinamik, sehingga diperlukan model hewan yang sesuai dengan keadaan atau penyakit yang ada pada manusia untuk mendapatkan gambaran pola yang mirip dengan manusia. Penelitian pustaka adalah kegiatan yang meliputi mencari, membaca dan menelaah bahan Pustaka yang memuat teori-teori yang relevan dengan penelitian yang akan dilakukan. Penelitian ini akan membahas mengenai berbagai jenis model hewan coba yang biasa digunakan pada penelitian Thalassemia. Harapan dari studi literatur ini diperoleh metode uji farmakodinamik yang tepat untuk pembuktian khasiat obat bahan alam sebagai alternatif pilihan terapi thalassemia.

**Kata Kunci :** metode uji farmakodinamik, model hewan, thalassemia,

### ABSTRACT

Pharmacodynamic test is scientific proof of product efficacy in test animals. This method is further described in an experimental animal model that functions to replace the human subject being modeled. The selection of experimental animal models plays an important role in understanding the efficacy of natural medicine as an alternative to thalassemia therapy and is then used as a basis for carrying out clinical trials. Research on thalassemia continues to be carried out in an effort to find alternative solutions for handling thalassemia cases, appropriate treatment strategies and to help ease the burden on the state of BPJS. Natural medicines are expected to act as adjuvants or replace expensive standard thalassemia drugs. Research to find treatment strategies must start from a series of pharmacodynamic tests, so that animal models are needed that are suitable for conditions or diseases that exist in humans to get a pattern similar to humans. Literature research is an activity that includes searching, reading and studying library materials that contain theories relevant to the research to be carried out. This research will discuss various types of experimental animal models commonly used in thalassemia research. It is hoped that from this literature study the appropriate pharmacodynamic test method will be obtained to prove the efficacy of natural medicine as an alternative to thalassemia therapy.

**Keywords:** pharmacodynamic test methods, animal models, thalassemia,

## PENDAHULUAN

Uji farmakodinamik praklinik obat tradisional berdasarkan BPOM, 2021 merupakan bagian dari pembuktian khasiat secara ilmiah melalui uji untuk mempelajari efek obat tradisional terhadap fungsi organ tubuh pada hewan coba. Uji farmakodinamik dapat dilakukan terhadap bahan baku dan / atau produk jadi. Model hewan coba menjadi pilihan dalam uji farmakodinamik dengan membuat model yang dapat meniru patogenesis penyakit, diagnosis, serta perlakuan/ pengobatan yang mirip dengan manusia. Model hewan coba sering digunakan dalam proses pengembangan obat, alat kesehatan, studi toksikologi, penentuan dosis efektif dan mempelajari efek samping suatu produk secara *in vivo* untuk kemudian digunakan pada manusia sebagai pertimbangan etik (Mukherjee ; 2022). Hal ini penting dilakukan sebagai dasar pelaksanaan uji klinik.

Thalasemia merupakan penyakit kelainan darah yang diturunkan dari kedua orangtua ditandai dengan gangguan sintesis hemoglobin (Hb) khususnya rantai globin yang mengakibatkan sel darah tidak berfungsi sebagaimana mestinya. Penyakit ini ditandai dengan menurunnya atau tidak adanya sintesis salah satu rantai alfa ( $\alpha$ ), beta ( $\beta$ ) dan atau rantai globin yang membentuk struktur normal molekul hemoglobin utama pada orang dewasa.

Prevalensi Thalasemia terbanyak dijumpai di daerah Mediterania, Timur Tengah, Asia Selatan, Semenanjung Cina, Asia Tenggara, serta Kepulauan Pasifik. Saat ini insidensi Talasemia menyebar secara cepat ke berbagai daratan termasuk Amerika, Eropa, dan Australia. Hal ini akibat migrasi penduduk yang semakin meluas dan perkawinan antara kelompok-kelompok etnis yang berbeda. *World Health Organization* (WHO) memperkirakan sekitar 7 % dari populasi global (80 sampai 90 juta orang) adalah pembawa Talasemia  $\beta$ , dengan sebagian besar terdapat di negara berkembang. Thalasemia  $\beta$  tersebar di daerah mediterania, timur tengah, asia selatan, semenanjung cina asia tenggara dengan frekuensi *carrier* (pembawa) tertinggi adalah Siprus (14 %), Sardinia (10,3 %) dan Asia Tenggara. Frekuensi pembawa sifat Thalasemia di Indonesia dilaporkan adalah sebagai berikut Medan dengan pembawa sifat Thalasemia  $\beta$  sebesar 4,07 %, Yogyakarta 6 %, banyumas 8 %, Ujung pandang 8 % Bangka 6 % dan beberapa daerah memiliki prevalensi hingga 10 % (Lantip ; 2019).

Manifestasi klinis yang ditimbulkan akibat Thalasemia bervariasi mulai dari asimtomatik hingga gejala yang berat (Kemenkes ; 2018). Kemenkes ; 2018 menjelaskan pengelompokan Thalasemia berdasarkan gejalanya dibagi menjadi 3 jenis yaitu

1. Thalasemia mayor umumnya diketahui sejak bayi, dengan gejala antara lain : tampak pucat, lemah, lesu, sering sakit, kadang disertai perut yang membuncit. Pasien ini membutuhkan transfusi terus menerus seumur hidupnya setiap 2 – 4 minggu sekali
2. Thalasemia intermedia biasanya baru terdiagnosis pada anak yang lebih besar dan biasanya tidak membutuhkan transfusi darah rutin.
3. Thalasemia minor tidak bergejala, tampak normal, namun pada pemeriksaan darah dapat ditemukan kadar Hb yang sedikit dibawah normal.

Diagnosis thalasemia ditegakkan berdasarkan gejala, pemeriksaan fisik dan pemeriksaan hematologi. Thalasemia mayor ditandai dengan kadar Hb rendah  $< 7$  g/ dL, kadar MCV (50 – 60 fL) dan MCH rendah (12-18 pg).

Di Indonesia Thalasemia termasuk salah satu penyakit katastropik yaitu penyakit yang membutuhkan perawatan medis yang lama dan berbiaya tinggi disamping penyakit lain yaitu jantung, gagal ginjal, kanker, stroke, sirosis hati, leukemia dan hemofilia. Program Jaminan Kesehatan Nasional – Kartu Indonesia Sehat (JKN-KIS) menghabiskan anggaran sebesar Rp. 581 Milyar untuk 258.347 kasus Thalasemia (BPJS; 2022). Sampai saat ini diketahui bahwa pengobatan yang menyembuhkan secara total terhadap thalasemia belum ditemukan. Tata laksana bersifat simptomatik berupa transfusi darah seumur hidup. Transfusi darah beresiko menyebabkan penumpukan zat besi yang berlebih dan ketidakmampuan tubuh menjadi faktor

utama *iron overload* pada pasien thalasemia. Selanjutnya diikuti gangguan fungsi organ secara sistemik seperti gangguan jantung (aritmia, gagal jantung), gangguan endokrin, gangguan pertumbuhan, gangguan sistem syaraf dan gangguan skeletal (Lantip ; 2019).

Pemberian obat kelasi besi salah satu upaya untuk mengekskresikan zat besi dari tubuh pasien yang mendapatkan transfusi berulang. Satu kantong darah 250 ml terdapat 200 mg besi (Fe), sedangkan zat besi keluar dari tubuh hanya 1-3 mg/ hari. Ketersediaan obat kelasi besi di setiap rumah sakit Indonesia tidak sama karena biaya obat mahal, sehingga banyak pasien yang tidak mendapat obat sesuai penatalaksanaan penanganan thalasemia (Kemenkes ; 2018). Pemberian obat kelasi besi Deferoksamin, Deferipron dan Deferasirox menjadi kebutuhan wajib pasien thalasemia. Ketersediaan produk tersebut masih belum merata di seluruh daerah karena terkendala harga yang mahal dan produk masih impor dari luar negeri. Kondisi ini mendorong peneliti, akademisi dan pelaku usaha untuk mencari alternatif pilihan obat kelasi besi dengan berbasis obat bahan alam dalam upaya mengurangi ketergantungan terhadap obat konvensional. Selain itu diharapkan produk berbasis bahan alam dapat mengurangi efek samping yang ditemukan pada pemberian obat konvensional.

Pemanfaatan obat bahan alam untuk jadi obat herbal terstandar dan atau fitofarmaka sejalan dengan Instruksi Presiden No 6 tahun 2016 tentang Percepatan Pengembangan Industri Farmasi dan Alat Kesehatan dalam mewujudkan kemandirian dan meningkatkan daya saing industri farmasi dan alat kesehatan dalam negeri melalui percepatan pengembangan industri farmasi dan alat kesehatan. Badan POM berperan aktif dalam mendorong inovasi berbasis bahan alam melalui pendampingan dan penyiapan regulasi. Keberhasilan pendampingan akan terwujud apabila difasilitasi dengan regulasi. Peraturan BPOM No. 18 tahun 2021 tentang Pedoman Uji Farmakodinamik Praktikum Obat Tradisional saat ini masih terbatas pada sepuluh kelas terapi yaitu antihipertensi, antidiabetes, antiobesitas, antihiperurisemia, antihiperlipidemia, antidiare non spesifik, antiinflamasi, pereda batuk, pereda nyeri dan pereda demam. Namun belum ada pembuktian khasiat untuk kelas terapi thalasemia yang dapat dijadikan acuan peneliti dan pelaku usaha. Studi ini dilakukan dengan tujuan untuk memaparkan gambaran pilihan penggunaan model hewan coba untuk pengembangan obat bahan alam menjadi obat herbal terstandar dan fitofarmaka dalam upaya mencari alternatif penanganan thalasemia.

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian ini menggunakan metode penelitian pustaka (*library research*). Penelitian dengan studi literatur adalah sebuah penelitian yang persiapannya sama dengan penelitian lain, akan tetapi sumber dan metode pengumpulan data dengan mengambil data di pustaka, membaca, mencatat dan mengolah bahan penelitian (Melfianora; 2019). Hal ini sejalan dengan penjelasan yang disampaikan oleh Milya and Asmendri, 2020 menyatakan bahwa penelitian pustaka didapat dari berbagai literatur seperti buku referensi, artikel, hasil penelitian yang sesuai, catatan, dan berbagai jurnal yang informasi-informasi dari literatur tersebut dikumpulkan yang sesuai dengan kegiatan penelitian.

Subjek penelitian adalah peneliti baik dalam negeri dan luar negeri yang selanjutnya dikaitkan dengan regulasi yang ada di Indonesia. Judul penelitian Metode Uji Farmakodinamik sebagai Salah Satu Pembuktian Khasiat Obat Bahan Alam Sebagai Alternatif Pilihan Terapi Thalasemia. Metode penelitian yang akan digunakan untuk pengkajian adalah studi literatur. Jenis data yang digunakan pada penelitian adalah data sekunder. Teknik pengumpulan data sekunder dikumpulkan dengan melakukan studi pustaka berupa makalah, artikel ilmiah, regulasi, jurnal *online*, *e-book* dan sejenisnya sebagai sumber rujukan penelitian yang berkaitan dengan judul penelitian. Penelitian ini dilakukan secara sistematis sehingga diperoleh data selanjutnya dikompilasi, diolah dan disimpulkan sehingga mendapatkan kesimpulan dari

beberapa penelitian terdahulu untuk menjawab masalah terkait beberapa pilihan metoda hewan coba untuk mengetahui keamanan produk obat bahan alam yang ditujukan untuk penanganan thalasemia.

Penelitian dilakukan di Jakarta dengan durasi penelitian Januari 2023. Penelitian ini diharapkan dapat memberi pandangan dan pengetahuan bagi peneliti, akademisi dan pelaku usaha terkait pilihan penggunaan model hewan coba untuk pengembangan obat bahan alam menjadi obat herbal terstandar dan fitofarmaka dalam upaya mencari alternatif penanganan thalasemia. Selain itu diharapkan dapat menjadi masukan dalam penyusunan kebijakan berupa pedoman uji farmakodinamik.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Hasil Penelitian**

Pada pasien thalasemia yang mendapatkan transfusi darah seumur hidup membutuhkan obat kelasi zat besi secara rutin. Obat kelasi zat besi ditujukan untuk menyeimbangkan laju akumulasi zat besi dalam tubuh dengan meningkatkan ekskresi besi dalam urin dan/ atau feses. Tantangan utama terapi kelasi ini adalah ekskresi zat besi berlebihan, padahal zat besi merupakan zat esensial secara fisiologis. Kepatuhan pasien untuk mengkonsumsi obat kelasi menjadi tantangan lainnya karena hal ini terkait dengan biaya pengobatan (Porter : 2022). Mobarra ; 2016 membandingkan tiga obat kelasi besi yang sering digunakan di layanan kesehatan yaitu Deferoksamin, Deferipron dan Deferasirox berdasarkan cara pemberian, dosis lazim, aturan pakai, efek samping, kelebihan dan kelemahan penggunaan produk. Perbandingan tersebut dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Perbandingan Obat kelasi besi (Mobarra; 2016)

	<b>Deferasirox</b>	<b>Deferipron</b>	<b>Deferoksamin</b>
<b>Rute</b>	Oral	Oral	Subkutan, intravena
<b>Cara pemberian</b>	20-30 mg/Kg BB/ hari	75 mg/kg BB/ hari	25-50 mg/kgBB/hari
<b>Aturan pakai</b>	1 kali sehari	3 kali sehari	1 hari setelah 8-24 jam, 5 hari perminggu
<b>Efek samping</b>	Gangguan pencernaan (mual, nausea dan diare), gagal ginjal	Gangguan pencernaan , agranulocytosis/neutropenia, arthalgia	Kemerahan, gangguan penglihatan dan gangguan pendengaran
<b>Kelebihan</b>	Pemberian secara oral dan 1 kali sehari	Efektif mengekskresikan zat besi di jantung	Menurunkan kadar ferritin serum dan kadar zat besi dihati
<b>Kelemahan</b>	Tidak ada informasi	Monitoring darah	Toksik

Informasi Mobarra 2016 tentang perbandingan obat kelasi besi seperti yang ditampilkan pada tabel 1 sejalan dengan Safitri ; 2018 yang menjelaskan bahwa pemberian obat kelasi zat

besi pada pasien thalasemia dapat diberikan secara oral dengan dosis yang relative tinggi ataupun diberikan secara subkutan atau intra vena tapi menimbulkan rasa sakit pada bagian yang diinjeksi apalagi pasien anak-anak. Berdasarkan hal tersebut perlu dicarikan obat kelasi alternatif dengan harga yang lebih murah, nyaman dan efek samping yang lebih ringan.

Berdasarkan hasil studi pustaka dari makalah, artikel, jurnal *online*, *e-book*, dan penelitian terdahulu, diketahui model hewan coba dapat diklasifikasikan menjadi dua yaitu model hewan yang dimodifikasi genetik (hewan transgenik) dan model hewan yang diinduksi secara eksperimental. Hewan transgenik adalah hewan yang dibuat khusus dengan cara menggabungkan informasi genetik manusia untuk kondisi patologis tertentu ke hewan embrio hewan (Mukherjee ; 2022). Kondisi ini akan mengubah status fisiologis hewan yang semula normal, namun saat disuntikkan gen tertentu ke dalam gen hewan penerima selanjutnya akan mengekspresikan kualitas yang diinginkan selama pertumbuhan dan perkembangan gen hewan penerima sehingga memiliki efek pathogen mirip dengan kondisi pada manusia (Shankar; 2014 dan Mukherjee ; 2022). Sementara Model eksperimental (non genetik) lebih sering digunakan karena biaya lebih murah, ketersediaan hewan lebih banyak, metode induksi dan pemeliharaan lebih mudah (Maurer & Quimby ; 2015). Model eksperimental adalah hewan yang dalam keadaan normal tidak mengalami thalasemia, namun saat diberi induksi dengan perlakuan tertentu hewan mengalami thalasemia.

Pemilihan model hewan coba pada penelitian dipengaruhi banyak faktor, kriteria yang paling penting dipertimbangkan adalah pemilihan hewan yang memiliki kemiripan dengan manusia ditinjau dari aspek fisiologi dan patofisiologi. Selain itu ketersediaan hewan coba, ukuran dan rentang hidup juga menjadi pertimbangan. Pilihan hewan yang tepat berperan penting untuk menghasilkan data penelitian yang valid dan akurat (Mukherjee ; 2022)

Rodensia atau hewan coba pengerat merupakan hewan coba yang banyak digunakan dalam penelitian medis hingga mencapai 95 % penelitian medis karena ukuran kecil, murah dan mudah ditangani, pemeliharaan mudah, rentang hidup singkat, mudah beradaptasi pada kondisi sekitarnya dan tingkat reproduksi yang cepat sehingga memungkinkan untuk penelitian biomedik pada semua tahap siklus hidup (Delwatta et al;2018). Tikus dan mencit merupakan hewan coba yang banyak digunakan dalam penelitian di bidang fisiologi, farmakologi, toksikologi, patologi dan histopatologi. Tikus dan mencit sangat cocok untuk penelitian penyakit pada manusia karena memiliki kemiripan genetik, karakteristik reproduksi mirip dengan mamalia lain, struktur anatomi dan fisiologi. Tikus juga memiliki kesamaan respon terhadap penyakit yang dialami manusia. (Delwatta et al : 2018 ; Artaria ;2016 dan Herman :2019)

### **Model Hewan Coba Thalasemia**

Pembuktian kemanfaatan obat bahan alam pada Thalasemia dapat dilakukan melalui uji pra klinik pada hewan coba maupun uji klinik. Model hewan coba thalassemia dapat menggunakan hewan transgenik maupun hewan eksperimental. Model hewan coba untuk penelitian thalasemia idealnya mempunyai fenotip yang dapat menggambarkan patogenesis thalasemia yang sama dengan yang terjadi di manusia apalagi thalasemia merupakan penyakit yang diturunkan secara genetik dari orang tua. Namun sampai saat ini belum ada metode uji farmakodinamik yang tepat untuk dilakukan karena keterbatasan dan kesulitan untuk memperoleh hewan transgenik yang menggambarkan kondisi yang banyak dialami oleh pasien thalasemia di Indonesia.

Beberapa model hewan coba untuk pembuktian kemanfaatan produk ditujukan untuk thalassemia :



### A. Model Hewan Coba Transgenik

Model hewan coba yang akurat yang merekapitulasi fenotip dan genotip pasien Thallasemia  $\beta$  dapat digunakan pada pengembangan produk sebagai pendekatan terapi (Jamsai : 2005). Beberapa pilihan hewan transgenik yang pernah digunakan antara lain :

1. Penggunaan hewan coba transgenik yang memiliki gen penyebab thalasemia cocok untuk digunakan sebagai pendekatan dalam melihat efek terapi suatu produk. Mencit transgenik TG-  $\beta$ -globin IVSI-6 dapat digunakan sebagai model *in vivo* karena *carrier* IVSI 6 yang ditemukan pada gen manusia. Mutasi  $\beta$ -globin IVSI-6 banyak ditemukan di daerah Timur Tengah, Itali dan Yunani (Breveglieri et al:2015)
2. *Mouse model* dengan mutasi pada codon 41- 42 (-TTCT)  $\beta$ - Thallasemia yang ditempelkan  $\beta$ -globin manusia. Mutasi ini terjadi pada 40 % dari Thallasemia  $\beta$  yang ditemukan di Cina Selatan dan Thailand. Hasil penelitian menunjukkan tingkat produksi  $\gamma$ -globin rendah dari mutant lokus pada 18 hari memiliki produksi yang sama dengan mutan  $\beta$ -globin pada mRNA manusia (Jamsai : 2016).
3. Mencit Hbb<sup>th-3</sup> berkurangnya ekspresi dari *iron -regulatory hormone hepcidin*. Mencit ini dapat digunakan untuk meneliti gangguan metabolisme besi pada Thallasemia  $\beta$ . Tantangan penggunaan hewan transgenik adalah identifikasi efek farmakologis dan pendekatan genetik yang cocok untuk dapat digunakan dan diterima secara luas pada pasien thalasemia di dunia. Berikut beberapa model transgenik Thalasemia  $\beta$  yaitu Hbb<sup>th-1</sup> , Hbb<sup>th-2</sup>, Hbb<sup>0</sup>, Hbb<sup>th-4</sup>,  $\gamma\beta^0$  (Bradley; 2016).
4. *Mouse model* HH berhubungan dengan kelainan genetik yang disebabkan mutase gen pada encode hepcidin (HAMP) atau protein transactivate gen HAMP di hepatocytes, termasuk HFE, TFR2 dan HJV. HH dikarakterisasi dengan rendahnya kadar hepcidin tubuh atau kegagalan regulasi dari protein FPN1 yang mengakibatkan peningkatan zat besi di usus dan orhan (jantung, hati, sendi, gonad dan kulit). Berikut *mouse model* yang ada yaitu Hfe<sup>-I-Hfe<sup>C282Y/C282Y</sup>Hfe<sup>C282Y/H63D</sup></sup>, HJV<sup>-I-</sup>, Hamp1<sup>-I-</sup>, Tfr2<sup>-I-</sup>, Fpn<sup>ffe</sup> (Wang X; 2019)

### B. Model Hewan Coba Eksperimental

Model hewan coba eksperimental untuk uji farmakodinamik thalasemia dapat dilakukan dengan cara hewan coba di induksi zat besi berlebihan atau dikenal *iron overload*. Model ini merupakan pendekatan terhadap kondisi pasien thalasemia yang mengalami transfusi darah berkelanjutan. *Iron overload* terjadi ketika asupan zat besi meningkat baik akibat dari transfusi sel darah merah rutin atau akibat penyerapan zat besi melalui saluran pencernaan, sementara ekskresi sedikit atau bahkan tidak diekskresikan. Berdasarkan skema transfusi darah untuk pasien thalasemia mayor setara dengan 100 – 200 ml sel darah merah/ kgBB/tahun. Ini setara dengan 116 – 232 mg besi /kgBB/ tahun atau 0,32 – 0,64 mg/kg BB/ hari atau dapat di asumsikan 200 mg zat besi terkandung di setiap unit donor. Pada pasien thalasemia yang tergantung pada transfusi kontribusi absorpsi zat besi yang diserap melalui saluran pencernaan kecil dibandingkan melalui transfusi darah. Normal penyerapan zat besi usus sekitar 1-2 mg/ hari. Namun kondisi ini berbalik dengan pasien thalasemia yang tidak menerima transfusi darah, penyerapan zat besi melalui pencernaan meningkat beberapa kali hingga mencapai 5 kali lipat. Pasien yang tidak menerima transfusi darah, mengalami peningkatan zat besi 3-5 mg/ hari atau lebih yang setara dengan 1-2 g zat besi per tahun (Porter : 2022)

Beberapa metode digunakan untuk mengevaluasi tingkat kelebihan zat besi yaitu kadar ferritin serum, konsentrasi zat besi dihati yang di biopsi, menggunakan alat *Quantum Interference Device* (SQUID) dan *Magnetic Resonance Imaging* (MRI). Metode yang paling sederhana untuk mengukur kelebihan zat besi adalah pemeriksaan kadar ferritin serum yang berkorelasi dengan simpanan besi dalam tubuh (Mobarra ; 2016).

Model hewan coba dapat dilakukan sesuai dengan tujuan penelitian untuk menggantikan obat kelasi zat besi (substitusi) atau diberi bersama obat kelasi besi (adjuvan). Hewan coba yang digunakan adalah tikus strain *Sprague Dawley* atau *Wistar*. Hewan coba dikelompokkan menjadi beberapa kelompok dengan jumlah 5-8 ekor per kelompok. Berdasarkan penelusuran pustaka model hewan coba adalah substitusi pernah dilakukan oleh Safitri; 2002 dan Estuningtyas; 2018. Hewan coba dikelompokkan menjadi beberapa kelompok sebagai berikut:

1. Kelompok kontrol normal (hewan uji normal) diberi pakan standar dan diberikan pembawa sediaan uji yang bersifat inert dan tidak mempengaruhi respon imun
2. Kelompok kontrol negatif diberi pakan standar dan diinduksi *iron overload*.
3. Kelompok kontrol positif atau kelompok pembanding, diberi pakan standar dan diinduksi *iron overload* serta diberi obat kelasi zat besi dengan konversi dosis terapi manusia. Obat pembanding tersebut dilarutkan dalam pembawa yang sama dengan sediaan uji.
4. Kelompok perlakuan diberi pakan standar dan diinduksi *iron overload* serta diberi sediaan uji minimal tiga kelompok dosis

Induksi *iron overload* dapat dilakukan dengan pemberian *iron dextran* dosis 60 mg/kg BB secara oral tiap 3 hari sekali selama 28 hari (Safitri ; 2018) atau melalui injeksi intraperitoneal 0,3 ml *iron dextran* yang mengandung 15 mg zat elemen besi tiap 3 hari sekali selama 21 hari (Estuningtyas; 2018). Penelitian Dela ; 2022 menginduksi tikus *iron overload* selama 3 minggu namun pemberian iron overload dan sediaan uji lebih lama yaitu hingga mencapai 8 minggu. Induksi dilakukan dengan pemberian *iron sucrose* mengandung 15 mg elemen zat besi secara intra peritoneal setiap 3-4 hari dengan total dosis zat besi yang diterima 225 mg per tikus

Penelitian Safitri; 2018, keberhasilan induksi diketahui dari pemeriksaan kadar ferritin, transferrin, kadar zat besi hati atau *Hepatic Iron Concentration* (HIC), kadar besi serum, kadar *Total Iron Binding Capacity* (TIBC) dan saturasi transferrin. Ferritin merupakan protein dalam tubuh yang mengikat zat besi. Sebagian besar zat besi yang tersimpan dalam tubuh terikat dengan protein tersebut. Transferrin merupakan beta globulin serum yang mengikat dan mengangkut besi dalam tubuh. *Total Iron Binding Capacity* adalah pemeriksaan untuk mengetahui kapasitas total penyimpanan besi dalam darah. Pengukuran kadar ferritin dan transferrin dilakukan menggunakan metode *Enzyme – Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), kadar zat besi serum dan kadar zat besi organ hati menggunakan metode *Atomic Absorption Spectrophotometry* (AAS).

Parameter pengamatan pada penelitian Estuningtyas; 2018 dilihat dari kadar zat besi plasma, kadar zat besi urin, kadar malondialdehid (MDA) plasma dan aktifitas *Superoxide Dismutase* (SOD) darah. Pengukuran kadar zat besi plasma dan urin menggunakan metode AAS. Sementara pengukuran kadar MDA dan SOD menggunakan metode spektrofotometer UV.

Dela;2022 melakukan pengamatan pada profil hematologi seperti hemoglobin (Hb), jumlah eritrosit (*Red Blood Cell/RBC*), jumlah leukosit (*White Blood Cell/WBC*), persentase granulosit, limfosit, platelet, perhitungan tetapan darah yaitu: *Mean Corpuscular Volume* (MCV), *Mean Corpuscular Hemoglobin* (MCH), *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration* (MCHC) dan penetapan deferensial leukosit.

Setelah induksi berhasil, selanjutnya sediaan uji diberikan sesuai dengan desain studi ketiga peneliti tersebut diatas berkisar 7 – 28 hari. Darah, urin dan organ yang akan dilakukan pengamatan kadar zat besi organ dan untuk pengamatan histopatologi diambil pada hari terakhir pemberian sediaan uji. Selama masa pengujian hewan uji ditimbang setiap hari.

Kelompok pembanding atau kelompok kontrol positif merupakan kelompok uji yang diberi obat standar yang digunakan secara klinis. Penelitian Safitri : 2018 ; Estuningtyas :2018 dan Dela: 2022 menggunakan Deferiprone sebagai pembanding. Pada penelitian biomedis

kelompok pembanding bukan ditujukan untuk membandingkan dengan sediaan uji tapi ditujukan untuk validasi metode pemilihan model hewan coba.

## Pembahasan

Fitofarmaka merupakan salah satu kategori obat bahan alam selain jamu dan obat herbal terstandar dengan klaim khasiat yang terbukti secara ilmiah berdasarkan uji pra klinik dan uji klinik (BPOM ; 2004). Dokumen uji pra klinik berupa data uji toksisitas dan data uji farmakodinamik merupakan bagian penting yang perlu disiapkan pada saat penyusunan protokol uji klinik. Data uji toksisitas merupakan data keamanan produk baik pada pemakaian tunggal maupun pemakaian berulang. Sedangkan uji farmakodinamik merupakan data kemanfaatan produk sesuai klaim khasiat yang akan dibuktikan. Model hewan coba merupakan hal penting perlu disiapkan sebelum penelitian dimulai. Hal ini sejalan dengan pendapat Mukherjee ; 2022 yang menyatakan pemilihan model hewan coba poin penting disamping sediaan uji dan hewan uji. Pemilihan model hewan coba yang tidak tepat menghasilkan data penelitian yang salah dan membuang sumber daya yang ada secara sia-sia.

Berdasarkan studi literatur diatas diketahui idealnya model hewan coba yang tepat untuk thalasemia adalah hewan transgenik karena thalasemia merupakan penyakit yang diturunkan atau penyakit genetik. Pemilihan hewan transgenik sebaiknya menggunakan fenotip yang sering ditemukan di Indonesia. Namun kondisi ini sulit dilakukan karena hewan transgenik sulit diperoleh, membutuhkan penanganan spesifik dan fasilitas laboratorium yang memadai. Sehingga pendekatan model hewan coba eksperimental yang dapat dilakukan di Indonesia adalah model hewan coba yang telah diinduksi *iron overload*. Selain Wang X; 2019 menyampaikan kelemahan penggunaan hewan transgenic yaitu patofisiologi mencit berbeda dengan manusia karena mencit memiliki masa hidup yang lebih pendek dan tingkat metabolisme basal yang lebih tinggi. Sementara kerusakan seluler akibat radikal bebas membutuhkan waktu yang lama hingga bertahun-tahun.

Pemilihan model hewan coba dapat dilakukan berdasarkan tujuan penelitian, kondisi klinis yang selanjutnya dikonversikan ke hewan coba. pemilihan model hewan coba *iron overload* dapat digunakan untuk pembuktian kemanfaatan obat bahan alam untuk dikonsumsi oleh pasien thalasemia yang mendapatkan transfusi darah secara rutin. Kondisi *iron overload* pada hewan coba perlu dilakukan optimasi aturan pakai dan dosis *iron dextran* yang tepat untuk menghasilkan kondisi thalasemia. Parameter pengamatan pada model hewan coba yang diinduksi dengan *iron overload* dapat dibagi menjadi tiga yaitu pengamatan data profil besi (kadar ferritin, transferrin, kadar zat besi hati, kadar besi serum dan saturasi transferrin), data hematologi rutin dan data histopatologi organ hati, limfa, ginjal dan jantung. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Safitri : 2018 ; Estuningtyas:2018 dan Dela : 2022. Parameter pengamatan ini sejalan dengan yang disampaikan oleh Wang; 2019 yaitu kadar ferritin

Penelitian Ozbolat dan Alizadeth ; 2021 sedikit berbeda dengan ketiga penelitian diatas mulai dari dosis senyawa induksi yang digunakan pada tikus yaitu *iron dextran* 1000 mg/ kgBB diberikan secara intraperitoneal, lama induksi dan parameter pengamatan. Parameter pengamatan Ozbolat dan Alizadeth ; 2021 dilakukan terhadap :

1. Enzim penanda fungsi hati (Alanine aminotransferase (ALT) dan aspartate aminotransferase (AST).
2. Enzim penanda efek antioksidan (malondialdehyde (MDA), Total Oxidant Status (TOS), Total antioxidant Status (TAS)
3. Hematologi (Hemoglobine (Hb), Hematokrit, sel darah merah, sel darah putih, MCV, MCH, MCHC
4. Zat besi (kadar zat besi serum, transferrin, TIBC, ferritin dan saturasi transferrin



Penggunaan sediaan uji yang dipilih oleh Safitri, Estuningtyas dan Dela adalah obat bahan alam yang banyak ditemukan di Indonesia dan tidak perlu impor bahan baku dari luar negeri. Hal ini sejalan Instruksi Presiden No 6 tahun 2016 untuk mendukung kemandirian bahan baku serta Kemenkes; 2022 dimana salah satu program prioritas untuk meningkatkan ketahanan sektor farmasi dan alat kesehatan adalah riset dan uji klinik bahan baku obat, obat, dan obat tradisional produksi dalam negeri (Kemenkes ; 2022). Sementara obat bahan alam yang digunakan oleh Ozbolat dan Alizadeth ; 2021 adalah Curcumin dan penelitian dilakukan di Sudan.

## KESIMPULAN

Uji farmakodinamik untuk membuktikan kemanfaatan obat bahan alam membutuhkan model hewan coba yang sesuai. Saat ini belum ada pengobatan yang menyembuhkan secara total terhadap thalasemia secara klinis. Hal yang sama juga terjadi pada pengujian menggunakan hewan coba, belum ada model hewan coba yang dapat menjelaskan secara keseluruhan pathogenesis thalasemia. Pada saat peneliti akan mendesain penelitian perlu diperhatikan desain penelitian dan tujuan penelitian. Setiap model hewan coba memiliki kelebihan dan kekurangan. Berbagai model hewan coba menggunakan hewan transgenik dan hewan eksperimental dapat digunakan dan dipilih metode yang sesuai serta mempertimbangkan feasibilitas untuk dilakukan di laboratorium. Optimasi atau uji pendahuluan diperlukan pada model hewan eksperimental untuk mengetahui keberhasilan dan kestabilan induksi *iron overload* sebelum diberikan sediaan uji.

## DAFTAR PUSTAKA

- Artaria M dan Rahmad Q (2016) : Penggunaan dan Penanganan Hewan Coba Rodensia dalam Penelitian Sesuai dengan Kesejahteraan Hewan. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peterernakan.
- BPJS Kesehatan (2022) : Penyakit Katastropik Berbiaya Mahal Tetap dijamin Program JKN – BPJS. Media Info BPJS Kesehatan Edisi 104.
- BPOM (2004) : Ketentuan Pokok Penggolongan Obat Bahan Alam Indonesia, Jakarta, Indonesia.
- BPOM (2021) : Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan No. 18 tahun 2021 tentang Pedoman Uji Farmakodinamik Pratinak Obat Tradisional.
- Bradley MC, Jim V (2016) : Animal Models of  $\beta$ -hemoglobinopathies : utility and limitations. *Journal of Blood Medicine* 2016;7, 263-274
- Breveglieri G, Mancini I, Biachi N et all (2015) : *Generation and Chracterization of a Transgenic Mouse Carrying a fuctional Human  $\beta$ -Globin Gene with the IVSI-6 Thalassemia Mutation*. Hindawi Publishing Corporation . *Biomed Research International* Vol 2015, Article ID 687635.
- Delwatta S, Gunatilake M, Bauman V, Bauman V et all (2018) : *Reference values for selected hematological, biochemical and physiological parameters of Spraque Dawley Rats at the Animal House, Faculty of Medicine, University of Colombo, Sri Lanka*. *Animal Model Experimental Med* 2018;1:250-254
- Dela F, Estuningtyas A (2022) ; *Hematological Profile of Iron Overload in Rats Administered with Fruit Extract of Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa)*. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)* 2022;8 (2):117-123
- Estuningtyas A, Wahyuni T, Wahidayat PA, Poerwaningsih et all (2019) : *Mangiferin and mangiferin-containing leaf extract from Mangifera foetida L for therapeutic attenuation of experimentally induced iron overload in rat models*. *Journal of Herbmed Pharmacology* 2019; 8(1) : 21-27

- Herrmann K, Pistollato F, Stephens ML (2019) : *Beyond the 3Rs: expanding the use of human relevant replacement methods in biomedical research*. *Altex* 36(3): 343-352
- Instruksi Presiden Republik Indonesia No.6 tahun 2016 tentang Percepatan Pengembangan Industri Farmasi dan Alat Kesehatan
- Jamsai D, Zaibak F, Khongnium W, et all (2005) : *A Humanized Mouse Model for a Common  $\beta$ -Thalassemia Mutation*. *Elsivier*, vol 85, issue 4, pages 453-461.
- Porter J (2021) : *Iron Overload : Pathophysiology, Diagnosis and Monitoring. Guidelines for the Management of Transfusion Dependent Thalassemia 4<sup>th</sup> Edition*. *Thalassaemia International Federation*
- Kementerian Kesehatan (2018) : Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. HK.01.07/Menkes/1/2018 tentang Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran Tata Laksana Talasemia
- Kementerian Kesehatan (2022) : Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. HK.01.07/MENKES/1163/2022 tentang Formularium Fitofarmaka
- Lantip (2019) : *Buku Talasemia : Genetik Dasar dan Pengelolaan Terkini*. Universitas Jenderal Soedirman
- Maurer, K. J., & Quimby, F. W. (2015). chapter 34 - *Animal Models in Biomedical Research. Laboratory Animal Medicine: Third Edition* (Third Edit). Elsevier Inc.<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409527-4.00034-1>
- Melfianora. (2019). *Penulisan Karya Tulis Ilmiah Dengan Studi Literatur*. Diakses dari: [osf.io/efmc2](https://osf.io/efmc2)
- Mukherjee M, Roy, Ghosh and Nandi (2022). *Role of Animal models in Biomedical Research : a review* . *Laboratory Animal Research* (2022) 38:18.
- Mobarra, N., Shanaki, M., Ehteram, H., Nasiri, H., Sahmani, M., Saeidi, M., Goudarzi, M., Pourkarim, H., & Azad, M. (2016) : *A Review on Iron Chelators in Treatment of Iron Overload Syndromes. International Journal of Hematology-Oncology and Stem Cell Research 5 Review Article IJHOSCR*, 10(4).
- Ozlobat G, Alizadeh AY (2021) : *Effect of Curcumin on Iron Overload in Rats*. *Sudan Journal of Medical Sciences*. Vol 16, issue no 4, DOI 10.18502/sjms.v16i4.9944
- Rafika, Marwoto D, Hayati L (2019). Korelasi Kadar Ferritin Serum dan Status Gizi Pasien Talasemia- $\beta$  Mayor. *Biomedical Journal of Indonesia : Jurnal Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya* vol 5, No.2, Mei 2019
- Safitri R, Maskoen AM, Syamsunarno MRAA, Ghozali M, Panigoro R (2018) *Iron chelating activity of Caesalpinia sappan L. extract on iron status in iron overload rats (Rattus norvegicus L.)*. *AIP Conf Proc [Internet]*. 2018 Aug 15;2002(1):20050. Available from: <https://aip.scitation.org/doi/abs/10.1063/1.5050146>
- S. Milya and Asmendri, (2020)“Penelitian Kepustakaan (Library Research) dalam Penelitian Pendidikan IPA,” *Jurnal Pendidikan IPA*, Nat. Sci. J. Penelit. Bid. IPA dan Pendidik. *IPA*, vol. 6, no. 1, pp. 917– 929.
- Shankar, Mehendale (2014). *Encyclopedia of Toxicology* (Third Edition). Module in Biomedical Sciences 802-803. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00356-0>
- Wang X, Garrick MD, Collins JF (2019): *Animal Models of Normal and Disturbed Iron and Copper Metabolism* .*American Society of Nutrition* ; doi : // <https://doi.org/10.1093/jn/nxz172>