

METODE SAMPLING HEWAN RODENSIA



Panduan Pelatihan Sehari

Workshop Anima Handling Pelaksana Program Lompatan Kreatif:

*Innovation Program on Neuroscience and Medical Animal Laboratory for
the Development of Brain Research*

di Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta, 27 November 2022

Diah Nugrahani Pristihadi 199110092020122006

Amaq Fadhholli 202208199503041001

SEKOLAH KEDOKTERAN HEWAN DAN BIOMEDIS

2022

A. Koleksi Sperma

1. Koleksi Sperma tanpa Mengorbankan Testis (Aspirasi)

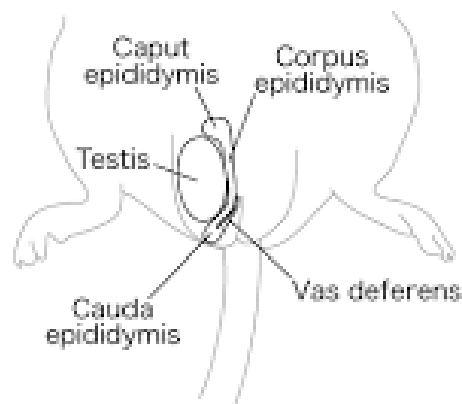
a. Lakukan anestesi pada hewan

Mencit : Ketamine 120 mg/kg BB / Xylazine 16 mg/kg BB (via i.m / i.p)

Tikus : Ketamine 70 mg/kg BB / Xylazine 6 mg/kg BB (via i.m / i.p)

b. Lakukan desinfeksi area scrotum

c. Lakukan fiksasi scrotum menggunakan jari untuk memudahkan biopsi sperma di area cauda epididymis (ciri khas: warna yang lebih pucat)



Gambar 1 Anatomi testis rodensia

d. Lakukan aspirasi menggunakan *syringe* 3 cc + *needle* 23 G

e. Bilas *syringe* tersebut dengan larutan NaCl fisiologis atau *phosphate buffered saline*

f. Untuk mendapatkan sperma motil dan hidup lebih lama, siapkan larutan NaCl fisiologis atau *phosphate buffered saline* dalam kondisi hangat (37 °C)

2. Koleksi Sperma dengan Mengorbankan Testis

Juga merupakan teknik membuat jantan steril.

Ada 2 teknik yang dapat dilakukan.

a. Pengambilan testis dengan *scrotal approach*

Metodenya :

- 1) Lakukan pencukuran rambut di scrotum (jika perlu) dan desinfeksi area pembedahan
- 2) Insisi pada *scrotal septum* menggunakan blade hingga testis dapat dikeluarkan dari rongga scrotum
- 3) Jika testis tidak berada di rongga skrotum, lakukan pendorongan testis yang ada di abdomen ke rongga skrotum secara perlahan
- 4) Lakukan *cauterisasi* atau pengikatan + pemotongan funikulus spermatikus
- 5) Berikan antibiotika
- 6) Tutup bekas luka dengan jahitan

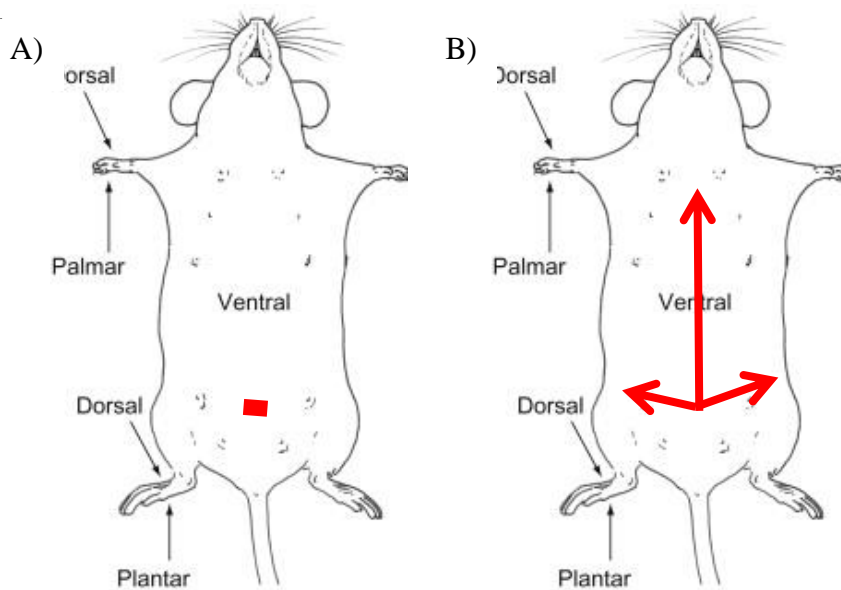
b. Pengambilan testis dengan *lower abdominal approach*

Metodenya :

- 1) Lakukan pencukuran rambut di *lower abdomen* dan desinfeksi area pembedahan
- 2) Buat insisi maksimal 1 cm, hingga rongga abdomen terbuka
- 3) Keluarkan testis dengan menggerakkan testis ke area insisi
- 4) Lakukan *cauterisasi* atau pengikatan + pemotongan funikulus spermatikus
- 5) Berikan antibiotika
- 6) Tutup bekas luka dengan jahitan

B. Pembukaan Ruang Abdomen Tikus / Mencit untuk Sampling Non-Kultur tanpa Perfusi

1. Mencit / tikus dianestesi
2. Setelah hewan hilang kesadaran, lakukan pembukaan ruang abdomen dengan cara menoreh menggunakan blade atau sedikit menggunting pada *lower abdomen* (Gambar 2A).
3. Dari celah yang ada, lakukan pengguntingan kulit dan otot-otot adominal ke lateral dua sisi tubuh dan mid-section ke arah cranial (dapat dilanjutkan hingga ke thoraks tergantung *approach* yang akan dilakukan) (Gambar 2B)

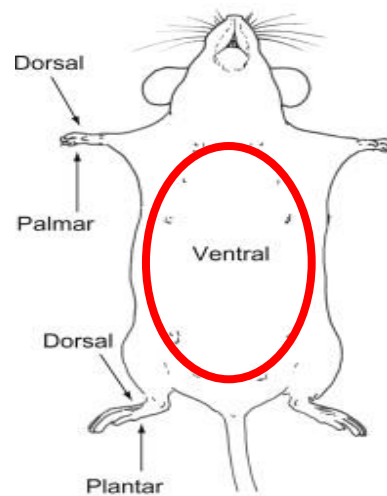


Gambar 2 Skema titik (A) dan arah pembukaan rongga abdomen mencit / tikus (B)

C. Pembukaan Ruang Abdomen Tikus / Mencit untuk Kultur

Untuk tikus :

1. Anestesi sesuai dosis yang disarankan
2. Setelah teranestesi, lakukan pencukuran rambut untuk di regio ventro abdomen
3. Desinfeksi area menggunakan antiseptik (povidone iodine atau alkohol 70%)



Gambar 2 Area pencukuran rambut dan desinfeksi

4. Lakukan pembukaan ruang abdomen seperti metode sebelumnya (Gambar 2B)

Untuk mencit :

1. Lakukan anestesi
2. Setelah teranestesi, tidak perlu dilakukan pencukuran rambut
3. Lakukan penorehan kulit pada *lower abdomen* (seperti yang dilakukan pada Gambar 2A), dengan tidak menoreh otot abdominalis
4. Lakukan penguakkan kulit dengan cara:
 - a. Tahan kaki kanan mencit dengan jari manis, ekor dengan dengan jari tengah, dan kaki kiri dengan telunjuk tangan kiri
 - b. Angkat kulit dari area sobekan ke arah kranial menggunakan telunjuk dan ibu jari
5. Setelah meminimalisir ada ikutan rambut, buka otot abdomen seperti Gambar 2B menggunakan pinset dan gunting steril

D. Perfusi Rodensia (Tikus)

1. Anestesi hewan sesuai dosis yang disarankan
2. Siapkan :
 - a. Infus NaCl serta selang infusnya
 - b. Cairan *buffered neutral formaline* 10% yang dihubungkan dengan selang infus
3. Lakukan pembukaan rongga thoraks dengan cara mengangkat os sternum dengan pinset, dilanjutkan dengan insisi ke arah lateral kanan dan kiri. Upayakan setelah proses ini jantung dapat dijangkau dengan mudah.
4. Pasang infus pada ventrikel kiri
5. Sayat atrium kanan
6. Lakukan pembilasan cairan tubuh tikus hingga paru-paru berwarna putih (500 mL untuk tikus dewasa)
7. Lakukan pembilasan kedua menggunakan BNF 10% atau fiksatif lainnya dengan jumlah kira-kira 250 mL

E. Pengambilan Organ setelah Pembukaan Rongga Abdomen

1. Untuk pengambilan organ viscera secara menyeluruh:
 - a. Organ abdomen : lakukan diseksi ligamentum hepatoduodenal (yang mengikat organ ke dorsal tubuh) ke bagian caudal hingga ke rektum.
 - b. Organ thoraks : diseksi diafragma, lalu lakukan pemotongan saluran trakhea

Simpan organ di dalam larutan preservasi seperti *Buffered Neutral Formaline* 10% atau Bouin 10% dengan rasio 1:10.
2. Pengambilan Otak
 - a. Lakukan insisi di bagian cranium untuk menguakkan kulit dan rambut yang ada di sekitar os frontal dan parietal
 - b. Lakukan pemotongan os nasalis yang menghubungkan antara kedua foramen optikus
 - c. Teruskan pemotongan tulang hingga ke sendi atlanto-occipital (foramen magnum) baik ke arah kanan ataupun kiri, sehingga melingkari cranial
 - d. Setelah tulang penutup otak selesai terpotong, kuakkan tulang tersebut dan lakukan koleksi otak dengan memisahkan otak dari syaraf percabangannya di sekitar cranium