

A vibrant photograph of a hummingbird with a purple throat patch hovering near several pink flowers. The background is a soft-focus green, suggesting foliage. The title text is overlaid on the upper right portion of the image.

Panduan Praktikum
FISIOLOGI
HEWAN

Penyusun:
Djohar Maknun, M.Si
Muhimatul Umami, M.Si

JURUSAN TADRIS BIOLOGI
FAKULTAS ILMU TARBIYAH DAN KEGURUAN
IAIN SYEKH NURJATI CIREBON
2021

KATA PENGANTAR

Panduan ini disusun untuk kegunaan praktikum mata kuliah Fisiologi Hewan, yang diberikan untuk mahasiswa S-1. Panduan praktikum ini diharapkan berfungsi sebagai pedoman bagi mahasiswa untuk bekerja di laboratorium.

Praktikum Fisiologi Hewan bertujuan untuk mendapatkan pengertian yang lebih mendalam mengenai materi kuliah yang diberikan dan meningkatkan keterampilan mahasiswa dalam menggunakan alat-alat laboratorium.

Dengan diterbitkannya buku panduan praktikum ini diharapkan dapat meningkatkan keterampilan dasar bagi mahasiswa dalam menangani alat dan bahan kimia, sebab hampir setiap alat dan bahan kimia memerlukan penanganan khusus dengan teknik khusus pula. Dasar teoritik yang tercantum dalam tiap acara praktikum hanya berisi pengetahuan dasar yang sangat minimum sehingga untuk dapat memberikan pengetahuan yang lebih baik mahasiswa harus membaca pokok-pokok pengetahuan teoritis dari referensi lain. Buku Panduan ini mungkin masih banyak kekurangannya, untuk itu akan selalu dilakukan revisi dan perbaikan guna memenuhi tuntutan kurikulum yang berlaku.

Akhir kata, semoga buku ini bermanfaat bagi pengguna, khususnya para mahasiswa S-1 IAIN Syekh Nurjati Cirebon.

Cirebon, Agustus 2021

Penyusun

DAFTAR ISI

| | Hal |
|---|------------|
| KATA PENGANTAR | |
| DAFTAR ISI | |
| PENDAHULUAN | 3 |
| Praktikum 1: Termoregulasi dan Osmoregulasi | 5 |
| Praktikum 2: Respirasi Hewan Poikiloterm dan Homoiterm | 6 |
| Praktikum 3: Sistem Saraf Pusat Hewan | 9 |
| Praktikum 4: Chemoreseptor pada udang | 11 |
| Praktikum 5: Kontraksi Otot Jantung | 13 |
| Praktikum 6: Kontraksi Otot Rangka | 15 |
| Praktikum 7: Hematologi | 18 |
| Praktikum 8: Efek Hormonal pada Fertilisasi dan Perkembangan Embrio Ikan | 28 |
| Daftar Referensi | 30 |

PENDAHULUAN

Panduan praktikum ini disusun sebagai pedoman para mahasiswa untuk melakukan kegiatan Praktikum **Fisiologi Hewan** pada Program S-1 Tadris IPA Biologi IAIN Syekh Nurjati Cirebon. Sasaran yang hendak dicapai meliputi :

1. Sasaran Utama

- a. Memberikan pengalaman dalam melakukan cara-cara eksperimen dan pengamatan
- b. Memberikan beberapa ilustrasi tentang bahan kuliah.
- c. Memberikan pengetahuan yang mendalam tentang Fisiologi Hewan, khususnya mengenai kerangka dasar teori dan cara pemecahan masalah.
- d. Menanamkan kesadaran akan keterkaitan berbagai pengetahuan alam lainnya beserta batasan-batasannya.

2. Sasaran Khusus

- a. Mengembangkan keterampilan dalam melakukan kegiatan praktikum Fisiologi Hewan.
- b. Melatih mengadakan pengamatan dengan cermat.
- c. Melatih keterampilan menggunakan alat dan bahan percobaan dengan tepat.
- d. Melatih menganalisis data eksperimen dan menulis laporan.
- e. Memberikan motivasi dalam melakukan eksperimen.

TATA TERTIB PRAKTIKUM

Dalam melaksanakan praktikum, praktikan diharuskan memperhatikan dan mengikuti ketentuan serta aturan berikut :

ATURAN UMUM

Dalam melaksanakan praktikum, praktikan diharuskan memperhatikan dan mengikuti ketentuan serta aturan berikut :

1. Praktikan diwajibkan mengenakan **Jas laboratorium** berwarna putih disertai label nama masing-masing. Bagi mahasiswi, sebaiknya ujung jilbab dimasukkan ke dalam jas laboratorium walaupun praktikum dilakukan di rumah masing-masing.
2. Acara 1 hingga 4 merupakan acara praktikum offline yang dilakukan oleh praktikan dari rumah masing-masing dengan tetap disiplin patuhi protokol kesehatan; sedangkan acara 5 hingga 8 merupakan acara praktikum online yang telah disiapkan asisten praktikum.
3. Setiap praktikan melakukan 2 project berbasis scientific issue yang telah dibagi oleh asisten praktikum.
4. Setiap praktikan harus mempelajari dan memahami petunjuk percobaan yang akan dilakukan.
5. Sebelum percobaan dilakukan, praktikan mempunyai kesempatan untuk berdiskusi dengan asisten yang berhubungan dengan percobaan yang akan dilakukan.
6. Selama melakukan percobaan, tuliskan semua hasil pengamatan pada lembar pengamatan yang telah disiapkan dalam jurnal.
7. Setiap praktikan diwajibkan membuat laporan dari semua percobaan yang dilakukan sesuai format laporan dengan jadwal yang telah ditentukan

Praktikum 1: TERMOREGULASI DAN OSMOREGULASI

1. Pendahuluan

a. Tujuan Praktikum

Praktikum ini bertujuan untuk: mengetahui pengaruh perubahan suhu lingkungan terhadap suhu tubuh hewan poikiloterm dan homoiterm.

b. Landasan Teori

Berdasarkan hubungan antara suhu tubuh dengan lingkungannya, maka hewan ini dibagi menjadi 2 golongan, yaitu hewan poikiloterm (berdarah dingin) dan homoiterm (berdarah panas). Disebut poikiloterm karena suhu tubuhnya dipengaruhi oleh suhu lingkungan. Suhu tubuh hewan ini sedikit di atas atau di bawah suhu sekelilingnya. Termasuk dalam kelompok ini adalah semua hewan avertebrata dan vertebrata tingkat rendah. Berbeda dengan yang homoiterm, suhu tubuh kelompok ini selalu dipelihara lebih tinggi dari lingkungannya. Termasuk kelompok ini adalah aves dan mamalia.

Perbedaan yang terjadi pada kedua kelompok ini disebabkan sistem pengatur panas tubuh (termoregulasi) pada hewan poikiloterm belum berkembang sempurna, sedangkan pada hewan homoiterm sudah berkembang baik, sehingga suhu tubuhnya relatif konstan.

Kegiatan ini berdasarkan prinsip sebagai berikut: Karena sistem termoregulasi pada hewan poikiloterm belum berkembang sempurna maka perubahan suhu lingkungan akan berpengaruh terhadap suhu tubuhnya.

II. Metode

a. Alat

Gelas piala, termometer,

b. Bahan

Sampel hewan, air es, air panas

c. Prosedur Kerja

- 1) Masukkan katak ke dalam gelas piala, ukur suhu tubuhnya dengan cara memasukkan termometer ke dalam esofagus selama 5 menit. Terlebih dahulu suhu lingkungan dicatat .
- 2) Masukkan wadah yang berisi wadah sampel dengan termometer tetap dalam esofagus ke dalam tempat (bak plastik) yang berisi air es, tunggu sampai suhu wadah turun menjadi sekitar 15°C. Kemudian dibaca skala termometer pada sampel hewan!
- 3) Katak tetap pada posisi no 1 dan 2, kemudian masukkan wadah tersebut ke dalam air panas, tunggu sampai terjadi kenaikan suhu lingkungan dalam gelas piala minimal 35°C. Kemudian dibaca skala termometer pada sampel hewan!

III. Lembar Observasi Hasil Pengamatan

- a. Catat hasil pengamatanmu dalam bentuk tabel atau grafik yang sesuai.
- b. Analisis data yang diperoleh secara statistic

Praktikum 2:

RESPIRASI HEWAN POIKILOTERM DAN HOMOITERM

1. Pendahuluan

a. Tujuan Praktikum :

Praktikum ini bertujuan untuk mengamati:

- 1) Respirasi menghasilkan karbondioksida
- 2) Perubahan suhu medium air berpengaruh terhadap respirasi ikan
- 3) Adakah pengaruh kandungan oksigen lingkungan terhadap respirasi ikan.
- 4) Bagaimana pengaruh kandungan oksigen di dalam air terhadap respirasi ikan.
- 5) Rentang penyesuaian ikan terhadap kandungan oksigen lingkungan.

b. Landasan Teori

Salah satu ciri kehidupan adalah bernafas. Dalam pernafasan terjadi dua fase, yaitu ekspirasi dan inspirasi. Pada waktu ekspirasi, karbondioksida (CO_2) yang dihasilkan dalam metabolisme dikeluarkan dari seluruh jaringan melalui alat pernafasan. Sedangkan pada waktu inspirasi, oksigen (O_2) dihirup dari lingkungan melalui saluran pernafasan, kemudian diedarkan ke seluruh jaringan tubuh. Oksigen sangat berperan dalam penyediaan energi yang sangat dibutuhkan untuk proses-proses kehidupan. Sel-sel organisme memperoleh energi dan reaksi-reaksi enzimatik yang sebagian besar memerlukan oksigen agar dapat berlangsung.

Respirasi eksternal sangat dipengaruhi oleh gas di dalam lingkungan luar organisme yang bersangkutan. Di udara kandungan oksigen maksimum adalah 20.95% atau 159 mm Hg. Di dalam air kandungan oksigen sangat dipengaruhi oleh kelarutan oksigen dalam air. Secara umum kelarutan oksigen di dalam air dipengaruhi oleh tekanan partial oksigen di atas permukaan air ($p\text{O}_2$), suhu air dan kandungan garam dalam air.

Oksigen sangat berperan dalam penyediaan energi yang sangat dibutuhkan untuk proses-proses kehidupan. Sel-sel organisme memperoleh energi dari reaksi-reaksi enzimatik yang sebagian besar memerlukan oksigen yang diperoleh lewat respirasi. Respirasi meliputi dua proses yang penting yaitu: 1) pertukaran gas oksigen dan karbondioksida antara organisme dan lingkungan luar (respirasi eksternal) dan 2) penggunaan oksigen di dalam sel untuk metabolisme molekul organik (respirasi internal). Pada organisme bersel satu pertukaran gas dapat secara langsung lewat permukaan sel, sedang pada organisme tinggi harus melewati suatu organ khusus antara lain paru-paru dan insang.

Jika kandungan oksigen ($p\text{O}_2$) lingkungan berkurang, beberapa golongan hewan melakukan konformitas dan golongan lain mampu melakukan regulasi konsumsi oksigen sehingga konsumsi oksigennya konstan. Jadi pada golongan regulator penurunan $p\text{O}_2$ (sampai batas tertentu) tidak menyebabkan berkurangnya konsumsi oksigen. Hal ini dimungkinkan karena terjadi keseimbangan dua faktor yaitu: (1) ekstraksi oksigen dari lingkungan dan (2) ventilasi.

II. Metode

a. Alat

Bak plastik, wadah sample hewan, thermometer, timbangan, hand counter, panci, pengaduk; kubis merah, clay atau plastisin

b. Bahan

Ikan (yang bersisik), air es, air panas, botol bekas air mineral, selang akuarium.

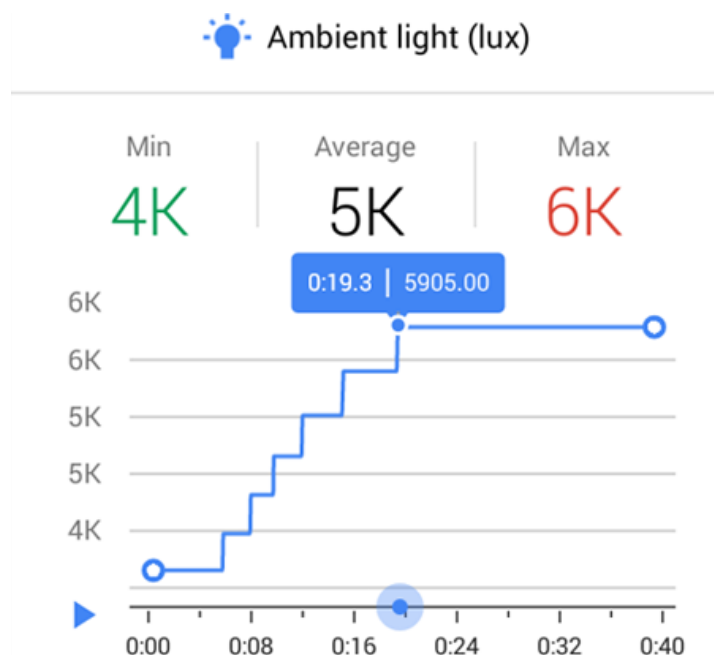
c. Prosedur Kerja

1) Membuat respirometer sederhana dari rumah

1. Buat larutan kubis merah dengan diblender
2. Masukkan larutan ke dalam botol bekas air mineral pertama, sebagai botol control
3. Masukkan larutan ke dalam botol bekas air mineral kedua
4. Masukkan sedotan plastik/selang akuarium plastik
5. Tutup rapat dengan clay atau plastisin
6. Gunakan aplikasi google science journal yang tersedia di App Store atau Play Store dan dapat diunduh secara gratis.
7. Buka aplikasi Science Journal di ponsel dan pilih sensor cahaya.
8. Condongkan ponsel dengan sensor cahaya menghadap ke samping ke arah respirometer (pastikan pencahayaan cukup dan koneksi internet sehingga pembacaan sensor stabil)
9. Tarik napas dalam-dalam dan mulailah menghembuskan napas melalui tabung saluran masuk ke dalam larutan selama mungkin. Coba keluarkan napas dari paru-paru.
10. Pembacaan sensor akan mulai stabil setelah larutan berubah warna dari biru-hijau menjadi kuning-hijau. Berhati-hatilah agar larutan jangan sampai terhisap.
11. Catat hasil yang terbaca pada Science Journal, selanjutnya bandingkan dengan larutan pada botol control
12. Tulis laporan dan kirim hasil laporan sesuai ketentuan



Gambar 1. Respirometer sederhana



Gambar 2. Hasil pembacaan dengan menggunakan aplikasi *science journal*

2) Perubahan suhu medium air berpengaruh terhadap respirasi ikan

a) Pengaruh kenaikan suhu medium air

- ❖ Isi bak plastik dengan air suhu kamar, catat suhunya
- ❖ Timbang ikan atau pilih ikan yang besarnya hampir sama, kemudian masukkan ke dalam bak plastik. Hitung gerak operculum selama 1 menit. Lakukan sebanyak 3 kali (ulangan), kemudian dirata-rata hasilnya.
- ❖ Naikkan suhu sebesar 3°C dengan cara menuangkan air panas ke dalam bak sedikit demi sedikit (jangan sampai terkena ikannya) sampai suhu yang dikehendaki. Hitung gerak operculum permenit (3 kali ulangan).
- ❖ Suhu air dinaikkan terus sampai keseimbangan ikan mulai tidak normal

Pengaruh penurunan suhu medium air

- ❖ Cara kerja seperti pada kegiatan 2a
- ❖ Menurunkan suhu air dikerjakan dengan cara memasukkan air es ke dalam bak sampai tercapai suhu yang dikehendaki (interval suhu juga 3°C)
- ❖ Penurunan suhu dihentikan apabila ikan sudah tidak seimbang

2. Lembar Observasi Hasil Pengamatan

- a. Catat hasil pengamatanmu dalam bentuk tabel atau grafik yang sesuai.
- b. Analisis data yang diperoleh secara statistic

Praktikum 3:

SISTEM SARAF PUSAT HEWAN

1. Pendahuluan

a. Tujuan

Praktikum ini bertujuan untuk mengamati:

- 1) Macam-macam refleks yang dikendalikan oleh otak.
- 2) Macam-macam refleks yang dikendalikan oleh medulla spinalis

b. Landasan Teori

Gerak refleks merupakan respon yang cepat dan tidak disadari terhadap perubahan lingkungan interna maupun eksterna. Refleks dikendalikan oleh sistem saraf pusat yaitu otak (disebut refleks kranial) atau medulla spinalis (disebut refleks spinal) lewat saraf motorik kranial dan spinal. Saraf kranial dan saraf spinal dapat berupa saraf somatik yang mengendalikan refleks otot kerangka atau saraf otonom yang mengendalikan refleks otot polos, jantung dan kelenjar. Meskipun refleks spinal dapat terjadi tanpa keterlibatan otak, tetapi otak seringkali ikut memberikan pertimbangan dalam refleks spinal.

Refleks terjadi lewat suatu lintasan tertentu, disebut lengkung refleks, dengan komponen: reseptor, neuron sensorik, neuron penghubung (di dalam otak dan medulla spinalis), neuron motorik dan efektor. Sebagian besar refleks merupakan refleks yang rumit, melibatkan lebih dari satu neuron penghubung. Kegiatan ini berdasar pada beberapa prinsip ialah:

- 1) Pada umumnya kerusakan pada sistem saraf pusat menyebabkan kelumpuhan sementara semua refleks yang dikendalikan oleh medulla spinalis. Kondisi ini disebut spinal shock, yang lamanya tergantung pada kerumitan sistem saraf suatu organisme.
- 2) Kerusakan salah satu komponen lengkung refleks dapat menyebabkan hilangnya refleks tertentu.

II. Metode

a. Alat

Papan dan alat seksi, bak plastik, lampu spiritus, termometer, gelas piala (600 cc) atau wadah sejenis, stopwatch

b. Bahan

Katak kapas, dan es

c. Prosedur Kerja

1) Katak normal

- 1) Letakkan katak dengan posisi normal pada papan, amati posisi kepala, mata dan anggota gerakannya. Sentuh kornea matanya dengan kapas, apa yang terjadi?
- 2) Hitung frekuensi pernapasan per menit dengan cara menghitung gerakan kulit pada rahang bawah.
- 3) Amati keseimbangannya dengan cara:

- ❖ Letakkan katak dalam posisi terlentang pada papan. Putarlah papan secara horisontal, amati posisi dan gerakan kepala, mata dan anggota gerakannya.
 - ❖ Miringkan papan perlahan-lahan sehingga kepala katak sedikit terangkat. Apa yang terjadi?
- 4) Masukkan katak ke dalam bak berisi air, amati cara berenangannya.
 - 5) Keluarkan katak dari air, raba kekenyalan otot kakinya.
 - 6) Letakkan katak pada posisi normal kembali. Tarik salah satu kakinya kebelakang, raba kekenyalan otot kaki tersebut dan kemudian lepaskan.
 - 7) Cubit jari kaki dengan pinset, apa yang terjadi?
 - 8) Masukkan salah satu kaki ke dalam gelas piala berisi air (suhu kamar), kemudian panaskan . Pada suhu berapa katak bereaksi?
 - 9) Masukkan jari kaki yang lain ke dalam air panas ($\pm 80^{\circ}\text{C}$). Apa yang terjadi?

2) Katak spinal (katak yang sudah mengalami pengrusakan otak)

- a) Rusak otak katak dengan single-pithing, istirahatkan katak selama 5 - 6 menit untuk menghilangkan spinal shock.
- b) Beri perlakuan seperti pada katak normal (9 perlakuan). Amati refleks yang terjadi.

3) Katak yang sudah mengalami pengrusakan otak dan medulla spinalis

- a) Rusak medulla spinalis katak dengan double-pithing, istirahatkan selama 5-6 menit.
- b) Beri perlakuan seperti pada katak normal. Amati refleks yang terjadi.

2. Lembar Observasi Hasil Pengamatan

- a. Catat hasil pengamatanmu dalam bentuk tabel atau grafik yang sesuai.
- b. Analisis data yang diperoleh secara statistik

Praktikum 4: CHEMORESEPTOR PADA UDANG

1. Pendahuluan

a. Tujuan

Praktikum ini bertujuan untuk mengamati dan mengidentifikasi fungsi organ kemoreseptor pada udang.

b. Landasan Teori

Gerak Reseptor adalah neuron atau sel-sel epithelium yang terspesialisasi, terdiri dari sel itu sendiri atau dalam kelompok dengan jenis sel lain di dalam organ, seperti organ sensori (mata dan telinga). Reseptor mendeteksi perubahan beberapa variable lingkungan internal hewan dalam setiap kontrol homeostasis. Sel-sel reseptor mengubah energi stimulus menjadi perubahan dalam potensial membran, kemudian menghantarkan sinyal ke sistem saraf (Villemet et al., 1988).

Hewan dari kelas Crustacea merupakan hewan nokturnal yang mencari makan di malam hari. Hewan nokturnal seperti udang memiliki kelemahan indera penglihatan dalam mencari makan pada kondisi gelap. Hewan ini memiliki sebuah reseptor yaitu antennula yang berfungsi untuk mencium aroma makanan dan merasakan lingkungan sekitar termasuk dalam mendeteksi keberadaan pemangsannya (Campbell, 2004).

III. Metode

a. Alat

Akuarium, stopwatch, dan gunting kecil.

b. Bahan

Udang air tawar (*Macrobrachium rosenbergii*), pakan berupa pelet dan/atau *Tubifex* sp.

c. Prosedur Kerja

- 1) Akuarium diisi air tawar bersih, lalu udang air tawar dimasukkan ke dalam akuarium.
- 2) Udang diberi perlakuan (normal, ablasi mata, ablasi antennula, ablasi total).
- 3) Pakan disajikan di tengah akuarium
- 4) Lampu dimatikan dan udang dimasukkan ke dalam akuarium secara bersamaan, kemudian stopwatch dinyalakan.
- 5) Gerakan-gerakan udang diamati selama 20 menit.
- 6) Pengamatan dilakukan selama 10 menit pertama, dan 10 menit ke dua dengan indentifikasi gerak flicking, withdraw, wipping, rotation, dan pembersihan pakan.
- 7) Waktu masing-masing gerakan udang air tawar dicatat.

3. Lembar Observasi Hasil Pengamatan

- a. Catat hasil pengamatanmu dalam bentuk tabel yang sesuai.
- b. Analisis data yang diperoleh secara statistik

TABEL OBSERVASI

Tabel Hasil Pengamatan Gerakan Antennula Udang Air Tawar sebagai Respon Terhadap Pakan

| No. | Perlakuan | Waktu | <i>Flicking</i> | <i>Withdraw</i> | <i>Rotation</i> | <i>Wiping</i> | <i>Feeding</i> |
|------------|------------------|------------------|------------------------|------------------------|------------------------|----------------------|-----------------------|
| 1. | Ablasi mata | 10 menit pertama | | | | | |
| | | 10 menit kedua | | | | | |
| 2. | Ablasi antennula | 10 menit pertama | | | | | |
| | | 10 menit kedua | | | | | |
| 3. | Ablasi total | 10 menit pertama | | | | | |
| | | 10 menit kedua | | | | | |
| 4. | Normal | 10 menit pertama | | | | | |
| | | 10 menit kedua | | | | | |
| 5. | Normal | 10 menit pertama | | | | | |
| | | 10 menit kedua | | | | | |

Praktikum 5: KONTRKASI OTOT JANTUNG

1. Pendahuluan

a. Tujuan Praktikum

Praktikum ini bertujuan untuk:

- 1) Melihat sifat otomatis dan ritmis dari tiap-tiap bagian jantung.
- 2) Memahami peran sinus venosus pada kontraksi otot jantung.
- 3) Mengamati pengaruh beberapa faktor ekstrinsik terhadap aktivitas jantung.

b. Landasan Teori

Otot jantung berbeda dari otot kerangka dalam hal struktur dan fungsinya. Untuk berkontraksi otot jantung tidak memerlukan stimulus sebab, otot jantung mempunyai sifat otomatis. Pada sel otot jantung dapat terjadi peristiwa depolarisasi secara spontan tanpa ada stimulus. Selain itu otot jantung juga mempunyai sifat ritmis, peristiwa depolarisasi dan repolarisasi berjalan menurut irama tertentu.

Keefektifan kerja jantung dikendalikan oleh faktor intrinsik dan faktor ekstrinsik. Faktor intrinsik adalah sistem nodus, yang mengantarkan rambatan depolarisasi dari pacu jantung (sinus venosus) ke bagian-bagian lain dari jantung. Meskipun kontraksi otot jantung tidak tergantung pada impuls saraf tetapi laju kontraksinya dikendalikan oleh saraf otonom. Selain itu aktivitas jantung juga dipengaruhi oleh bermacam-macam bahan kimia, hormon, ion-ion dan metabolit.

II. Metode

a. Alat

Unit kimograf, papan dan alat seksi, cawan Petri, pipet tetes, benang, jarum pentul.

b. Bahan

Katak, larutan Ringer, atropin 5%, epinefrin 1%, KCl 5%, CaCl_2 2%, NaCl 0,7%.

c. Prosedur Kerja

1) Sifat Otomatis dan Ritmis Jantung

- a) Double-pith seekor katak, cepat buka rongga dadanya. Hitung denyut jantung permenit.
- b) Pisahkan jantung dari tubuh dan letakkan dalam cawan Petri yang berisi larutan Ringer. Hitung denyutnya per menit, dan amati apakah denyutnya berirama atau tidak.
- c) Pisahkan sinus venosus dari jantung, amati dan hitung denyutnya per menit. Bila tidak berdenyut, sentuh pelan-pelan dengan batang gelas.
- d) Pisahkan atrium kanan, atrium kiri dan ventrikel. Amati apakah masing-masing bagian tersebut masih berdenyut dan hitung denyutnya per menit.

2) Pengaruh Faktor Fisik dan Kimia terhadap Aktivitas Jantung

Persiapan jantung katak

- a) Double-pith seekor katak, buka rongga dada sehingga jantung terlihat. Buka perikardium supaya denyut jantung nampak jelas.
- b) Bukalah peniti kecil sehingga membentuk sudut 90°. Ikatkan salah satu ujung benang pada kepala peniti dan tusukkan ujung peniti pada bagian apeks jantung
- c) Ikatkan ujung lain dari benang pada pengungkit otot sehingga apeks jantung agak terangkat (lihat gambar).

Aktivitas normal jantung

- a) Atur kecepatan putaran tromol pada 7 dan magnet sinyal pada 1 per detik.
- b) Rekam 12 - 15 denyut jantung, perhatikan ada dua macam denyutan yaitu denyut atrium dan denyut ventrikel.
- c) Sesuaikan putaran tromol sehingga jarak puncak kontraksi ventrikel 2 cm.
- d) Hitung jumlah denyutan per menit dan selang waktu antara kontraksi atrium dan ventrikel.

Pengaruh suhu dan bahan kimia

- a) Naikkan kecepatan putaran tromol sehingga jarak puncak kontraksi 4- 5 mm
- b) Basahi jantung dengan larutan Ringer 5°C, amati rekaman sampai terjadi perubahan dan hitung denyut jantung per menit.
- c) Hentikan rekaman, buang (dengan pipet) larutan Ringer dingin dan ganti dengan larutan Ringer normal. Rekam lagi sampai terlihat denyut jantung normal.
- d) Basahi jantung dengan larutan Ringer 30°C, amati rekaman sampai terjadi perubahan. Hitung denyut jantung per menit.
- e) Hentikan rekaman, buang larutan Ringer dan ganti dengan larutan Ringer suhu kamar. Tunggu beberapa saat sampai denyutan kembali normal.
- f) Tetesi jantung dengan beberapa tetes atropin. Bila dalam waktu dua menit tidak nampak perubahan, tambahkan atropin. Bila sudah terjadi perubahan, hitung denyutan per menit.
- g) Buang atropin dan ganti dengan larutan Ringer normal. Setelah beberapa saat tetesi jantung dengan epinefrin. Setelah terjadi perubahan hitung denyutan per menit.
- h) Dengan cara yang sama beri perlakuan jantung dengan CaCl₂, NaCl dan KCL.

CATATAN: setiap kali selesai satu perlakuan jantung harus distirahatkan beberapa saat dalam larutan Ringer suhu kamar sampai denyut jantung kembali normal.

2. Lembar Observasi Hasil Pengamatan

- a. Catat hasil pengamatanmu dalam bentuk tabel atau grafik yang sesuai.
- b. Analisis data yang diperoleh secara statistik

Praktikum 6:

KONTRAKSI OTOT RANGKA

1. Pendahuluan

a. Tujuan Praktikum

Praktikum ini bertujuan untuk:

- 1) Menentukan besarnya stimulus threshold.
- 2) Melihat fase laten, kontraksi dan relaksasi dari kontraksi twitch.
- 3) Mengamati pengaruh frekuensi pemberian stimulus terhadap kontraksi otot
- 4) Mengamati pengaruh kekuatan stimulus terhadap kontraksi otot.

b. Landasan Teori

Otot kerangka dapat berkontraksi apabila ada stimulus. Stimulus yang cukup kuat, sama atau lebih besar dari stimulus threshold, dapat membangkitkan potensial kerja yang merambat sepanjang sarkolema. Rambatan potensial kerja ini menyebabkan konsentrasi ion Ca di dalam sel meningkat, memicu terjadinya pergeseran mikrofilamen aktin dan miosin sehingga sel otot secara keseluruhan memendek.

Kontraksi sel otot kerangka mengikuti prinsip "all or none" artinya sel otot akan berkontraksi maksimal bila dikenai stimulus yang cukup kuat (stimulus threshold). Respon otot, yang terdiri atas ribuan sel otot, terhadap stimulus berupa respon bertingkat. Kontraksi otot tergantung pada banyak sedikitnya sel otot yang teraktifkan.

Kontraksi tunggal akibat dari terbangkitnya potensial kerja tunggal disebut kontraksi twitch, yang menunjukkan adanya tiga fase yaitu fase laten, fase kontraksi dan fase relaksasi. Apabila potensial kerja berikutnya terjadi pada saat otot belum relaksasi penuh responnya semakin meningkat, fenomena ini disebut sumasi gelombang. Apabila jarak pemberian stimulus (yang dapat membangkitkan potensial kerja) terlalu dekat sehingga otot tidak pernah mengalami fase relaksasi maka akan terjadi kontraksi dengan kekuatan maksimum yang disebut kontraksi tetanus.

II. Metode

a. Alat

Papan dan alat seksi, unit kimograf, gelas piala (100 cc), gelas arloji, batang gelas, jarum untuk single-pith, pipet tetes,

b. Bahan

Katak, kapas, dan larutan Ringer untuk katak.

c. Prosedur Kerja

- 1) Persiapan otot gastrocnemius.
 - a) Single-pith seekor katak, bedah bagian kaki sehingga nampak otot gastrocnemiusnya. Otot harus selalu dibasahi dengan larutan Ringer.
 - b) Pisahkan otot gastrocnemius berikut tendonnya dari tulang fibiotibula dan otot-otot lain
 - c) Gantungkan otot gastrocnemius pada kimograf yang sudah dirakit (lihat

gambar). Kaitkan tali yang mengikat tendon pada kait pengungkit otot sehingga otot tergantung vertikal.

- d) Gantungkan beban seberat 10 gr pada pengungkit otot sehingga pengungkit tidak bengkok dan dalam posisi horisontal.
- 2) Menentukan Stimulus Minimal (threshold)
 - a) Atur tombol-tombol stimulator sebagai berikut : frekuensi 1 x 1 (satu sentakan per detik dan kertas pencatat berputar 0,1 cm per detik), durasi antara 7 - 15 msec dan voltase pada 0 V.
 - b) Kenakan beberapa stimulus tunggal dengan interval 1-2 detik, dimulai dengan 0,1 V dan selanjutnya dengan kenaikan voltase sebesar 0,1 V sampai terjadi kontraksi yang nampak sebagai gambaran puncak pada kertas rekaman. Catat pada voltase berapa mulai terjadi kontraksi.
 - c) Hentikan putaran tromol perekam, dan pada rekaman beri tanda untuk stimulus threshold, voltase dan waktu.
 - 3) Fenomena Treppe
 - a) Atur kontrol voltase pada 10 V.
 - b) Kenakan beberapa stimulus tunggal dengan interval waktu 1 detik sampai kekuatan kontraksi tidak bertambah lagi.
 - c) Hentikan putaran tromol dan beri tanda pada rekaman treppe.
 - d) Catat jumlah kontraksi dan waktu yang diperlukan untuk mencapai kekuatan kontraksi yang konstan.
 - 4) Respon Bertingkat Otot terhadap Kenaikan Intensitas Stimulus
 - a) Atur tombol voltase pada voltase threshold (hasil percobaan sebelumnya).
 - b) Kenakan beberapa stimulus tunggal dengan interval waktu 1 -2 detik, dan kenaikan voltase berturut-turut sebesar 0,5 V, 1 V sampai 2 V sehingga tinggi kontraksi tidak bertambah lagi dan catat voltasenya.
 - 5) Durasi Fase-fase pada Kontraksi Twitch.
 - a) Atur tombol voltase pada voltase stimulus maksimal (hasil percobaan 4) dan putaran tromol maksimal
 - b) Hitung waktu yang diperlukan untuk gerakan kertas perekam sepanjang 1 mm. Misalnya kecepatan putaran 25 mm per detik berarti tiap mm kertas perekam setara dengan 0,04 detik.
 - c) Kenakan beberapa stimulus tunggal dengan interval waktu 2 - 3 detik untuk mendapatkan rekaman beberapa kontraksi twitch. Hentikan putaran tromol perekam.
 - d) Tentukan durasi fase laten, fase kontraksi dan fase relaksasi dari satu twitch.
 - e) Istirahatkan otot selama 1 -3 menit dan basahi terus dengan larutan Ringer.
 - 6) Sumasi Gelombang dan Tetanus
 - a) Atur putaran tromol perekam pada kecepatan rendah, intensitas stimulus 20V lebih tinggi dari stimulus threshold.
 - b) Rangsang otot dengan 15 - 25 stimulus per detik, yang akan menghasilkan rekaman sumasi gelombang. Catat waktu, voltase dan frekuensi rangsangan.

- c) Rubah frekuensi stimulus menjadi 60 stimulus per detik, hasilnya berupa kontraksi halus yang disebut tetanus.

3. Lembar Observasi Hasil Pengamatan

- a. Catat hasil pengamatanmu dalam bentuk tabel atau grafik yang sesuai.
- b. Analisis data yang diperoleh secara statistik

4. Penugasan/Pertanyaan/Diskusi

- a. Apa yang dimaksud dengan stimulus threshold, treppe, sumasi gelombang dan tetanus?
- b. Mengapa selalu terjadi fase laten, sebelum fase kontraksi?
- c. Jelaskan bagaimana pengaruh intensitas stimulus terhadap kontraksi otot.
- d. Jelaskan bagaimana pengaruh frekuensi pemberian stimulus terhadap kontraksi otot.

Praktikum 7: HEMATOLOGI

1. Pendahuluan

a. Tujuan Praktikum

Praktikum ini bertujuan untuk:

- 1) Mengetahui kecepatan teriadinya hemolisis dan krenasi eritrosit pada medium yang berbeda-beda.
- 2) Mengetahui persentase hemolisis eritrosit pada medium yang berbeda-beda.
- 3) Mengetahui secara kualitatif keberadaan protein, karbohidrat dan lemak di dalam darah, serta unsur Natrium dan klorida.
- 4) Mengetahui perbedaan jumlah eritrosit pada hewan poikilotermik dan homoitermik.

b. Landasan Teori

Sebagian besar vertebrata darahnya berwarna merah, kecuali pada Amphioxus dan Leptocephalus. Sifat darah berbeda dengan air, darah memiliki berat jenis antara 1,050 - 1,060, dan memiliki viskositas sekitar 5 kali lebih tinggi daripada air. Komponen darah terdiri dari 2 bagian yaitu komponen cair yang disebut plasma darah dan komponen seluler yang terdiri dari sel-sel darah. Kedua komponen tersebut dapat dipisahkan bila darah dipusingkan (dicentrifuge). Bagian atas adalah komponen cair (plasma darah) dan bagian bawah adalah komponen seluler.

Plasma darah merupakan cairan transparan yang berwarna kekuning-kuningan, volumenya \pm 55%, sedangkan komponen seluler terdiri dari sel-sel darah yang volumenya \pm 45%. Di dalam plasma darah terdapat 90% air, 7-8% protein yang larut, 1% elektrolit, dan 1-2% berbagai macam zat antara lain glukosa, asam amino, lemak, vitamin, urea, asam urat, gas-gas yang larut dan hormon. Zat lain adalah asam piruvat dan asam laktat yang merupakan "Intermediate metabolit", dan elektrolit yang sangat penting yaitu ion-ion natrium, klorida, dan bikarbonat. Ion-ion lainnya kalium, magnesium, dan fosfat jumlahnya sangat sedikit.

Dibanding dengan zat-zat lainnya protein memiliki persentase paling tinggi karena protein di dalam darah ini memiliki fungsi yang lebih kompleks dibanding dengan zat-zat lainnya. Fungsi protein tersebut antara lain adalah (1) transport CO_2 dan O_2 , (2) memelihara pH (buffer), (3) menarik dan mengikat kation anorganik, (4) berperan dalam proses pembekuan darah, (5) mengikat dan mengedarkan natrium. (6) menyediakan sumber natrium untuk dirinya sendiri, (7) mengatur mekanisme kekebalan tubuh, dan (8) mengatur tekanan darah di dalam pembuluh darah itu sendiri.

Selain itu warna darah juga dapat disebabkan oleh keberadaan protein yang berfungsi sebagai transpor oksigen. Hemoglobin merupakan salah satu protein yang berikatan dengan heme (bentuk porfirin yang mengandung Fe). Hemoglobin memiliki distribusi yang luas dan hampir ditemukan pada semua filum hewan. Pada vertebrata hemoglobin ditemukan di dalam eritrosit, akan tetapi pada hewan invertebrate ditemukan secara bebas atau mirip dengan jaringan lainnya. Pigmen

protein lain selain hemoglobin adalah hemosianin, klorokuinin, hemeritrin, eritrokrorin, dan hemokuprein (Wilson, 1979).

Protein plasma berperan dalam pengaturan pH. Peran ini terlihat pada saat pH darah akan menurun yang dapat membahayakan organisme, maka protein plasma akan mengikat ion hidrogen yang selanjutnya akan bergabung dengan kation anorganik membentuk NaHCO_3 , KHCO_3 , dan fosfat. Adanya ketiga zat inilah yang menyebabkan darah dapat berfungsi sebagai buffer, karena ketiga zat tersebut di dalam jaringan akan mengalami ionisasi.

Pada kegiatan ini anda diharapkan dapat membuktikan bahwa di dalam darah terdapat berbagai macam zat antara lain adalah protein, karbohidrat, dan lemak, sedangkan unsur-unsur yang akan diuji keberadaannya adalah unsur Natrium dan Klorida.

Komponen darah adalah sel darah dan plasma. Sel darah terdiri dari eritrosit, leukosit, dan trombosit. Eritrosit merupakan sel darah yang berperan dalam proses pengangkutan oksigen karena adanya hemoglobin yang mengikat dan membebaskan kembali oksigen. Volume eritrosit lebih kurang sepertiga sampai setengah dari volume darah, tersuspensi di dalam plasma darah yang kaya protein. Hampir semua oksigen yang dibawa oleh darah terikat dan terangkut oleh hemoglobin, sedangkan hanya sedikit saja yang diangkut oleh plasma darah. Hemoglobin di dalam 100 ml darah dapat mengikat ± 20 ml gas oksigen. (Lehninger, 1990)

Hemoglobin memiliki sifat sangat efektif dalam mengangkut oksigen. Sifat efektif ini dapat terlihat bila kita membandingkan daya ikat oksigen, mioglobin, dan hemoglobin. Untuk penjelasan ini diperlukan gambaran kurva kejenuhan mioglobin dan hemoglobin (lihat buku referensi dari Lehninger, 1990). Pada kurva tersebut menunjukkan bahwa mioglobin mempunyai daya ikat yang lebih tinggi terhadap oksigen dibanding hemoglobin. Hal ini terlihat bahwa untuk mencapai 50% jenuh hanya terjadi tekanan O_2 pada 1-2 mmHg, sedangkan hemoglobin terlihat pada tekanan $\pm 20-30$ mmHg.

Dari kurva tersebut juga terlihat bahwa hemoglobin dan mioglobin tersebut telah 95% pada tekanan bagian O_2 di dalam arteri yang meninggalkan paru-paru, hemoglobin hanya 75% jenuh pada otot sedang istirahat dengan tekanan O_2 40 mmHg dan hanya 10% jenuh pada otot yang bekerja dengan tekanan O_2 hanya 10 mmHg. Keadaan inilah yang dapat menyebabkan hemoglobin dapat membebaskan kandungan oksigennya pada otot dan jaringan perifer lainnya secara efektif. Sebaliknya mioglobin $\pm 90\%$ pada tekanan Oksigen 10 mmHg oleh karenanya hanya sedikit saja dapat membebaskan oksigen (Lehninger 1990).

Berdasar hal yang telah diuraikan terlihat bahwa adanya bentuk kurva sigmoid pada hemoglobin menunjukkan bahwa pada awal daya ikat hemoglobin bagi pengikatan O_2 relatif rendah (pada 10 mmHg), akan tetapi pada berikutnya molekul O_2 memiliki daya gabung yang lebih tinggi untuk mengikat O_2 (bahkan sampai 500 x). Dari kejadian ini dapat dijelaskan bahwa sekali subunit polipeptidu hems pada molekul hemoglobin mengikat molekul O_2 maka subunit

tersebut meneruskan informasi kepada subunit lain yang memberi respon dengan meningkatkan daya ikat O_2 yang tinggi (Lehninger 1990, halaman 213).

Sehubungan dengan fungsi eritrosit (dalam hat ini adalah Hb) yaitu antara lain mengikat O_2 yang selanjutnya oksigen ini akan dimanfaatkan untuk aktivitas metabolisms maka keberadaan/jumlah O_2 di dalam tubuh hewan akan dapat pula dipakai sebagai indikator aktivitasnya. Selain itu dengan menggunakan indikator jumlah eritrosit dapat pula dipakai untuk membandingkan kelompok hewan homoitermik dan poikilothermik.

Darah merupakan suatu jaringan cair, yang tersusun dari sel-sel darah yang berada dalam suatu matrik cair yang biasa disebut plasma darah. Sel-sel darah terdiri dari sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit), dan keping darah (trombosit). Bentuk dan ukuran eritrosit tergantung pada jenis hewan. Pada mamalia eritrositnya tidak berinti, umumnya berbentuk bulat bikonkaf. Eritrosit pada Vertebrata yang lain berbentuk lonjong, bikonvek dan berinti. Pada umumnya eritrosit yang tidak berinti mempunyai ukuran lebih kecil daripada eritrosit yang berinti. Di antara eritrosit Vertebrata, eritrosit amfibi memiliki ukuran yang paling besar.

Seperti sel-sel yang lain, eritrosit dibatasi oleh suatu membran yang bersifat semipermeabel atau permeabel selektif, artinya membran dapat ditembus oleh air dan zat terlarut tertentu, tetapi tidak dapat ditembus oleh zat tertentu yang lain. Membran eritrosit umumnya mudah dilalui oleh ion-ion H^+ , OH^- , NH^+ , PO_4^{2-} , HCO_3^- , dan oleh za-zat seperti glukosa, asam amino, urea, dan asam urat. Sebaliknya membran eritrosit tidak mudah ditembus oleh Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Mg^{++} , fosfat organik, dan zat-zat lain seperti hemoglobin dan protein plasma.

Eritrosit dapat melakukan pertukaran zat melalui proses pasif (difusi dan osmosis), dan proses aktif (melalui transport aktif). Tekanan osmotik eritrosit homiotherm sama dengan tekanan osmotik larutan NaCl 0,9%, sedangkan tekanan osmotik eritrosit poikilotherm sama dengan tekanan osmotik larutan NaCl 0,7%. Bila eritrosit dimasukkan ke dalam medium hipotonis, maka air akan masuk ke dalam eritrosit, dan eritrosit akan menggelembung. Apabila batas toleransi osmotik membran eritrosit terlampaui, maka eritrosit akan pecah, isi eritrosit (termasuk di dalamnya hemoglobin) akan keluar, menyebabkan medium menjadi berwarna merah. Peristiwa pecahnya membran eritrosit dan dibebaskannya hemoglobin ke dalam medium, disebut hemolisis.

Kerapuhan membran eritrosit dipengaruhi oleh umur eritrosit, semakin tua umur eritrosit, maka membran selnya semakin rapuh. Di dalam tubuh hewan, eritrosit tua dan muda saling bercampur. Oleh karena itu batas toleransi, osmotik membran eritrosit harus dibedakan menjadi batas atas toleransi dan batas bawah toleransi. Batas bawah toleransi ditunjukkan oleh kepekatan suatu medium, dimana apabila eritrosit dilarutkan ke dalam medium tersebut, sudah nampak eritrosit yang mengalami hemolisis. Sedangkan batas atas toleransi osmotik eritrosit, mengacu kepada kepekatan suatu medium dimana bila eritrosit dilarutkan ke dalam medium tersebut akan mengalami hemolisis sempurna, artinya semua eritrosit sudah mengalami hemolisis.

Kebalikan dari hemolisis adalah peristiwa **krenasi**, yaitu peristiwa mengkerutnya membran sel akibat dari keluarnya air dari dalam sel. Krenasi terjadi apabila eritrosit dimasukkan ke dalam cairan hipertonis dari isi sel.

II. Metode

a. Alat

Bahan kimia yang digunakan dalam kegiatan praktikum ini adalah Na oksalat, asam asetat, larutan Millon, Benedict, perak nitrat, asam klorida, dan aquades. Darah yang akan digunakan adalah darah segar lembu untuk diambil plasma darahnya. Pada kegiatan ini digunakan sentrifuge (alat pemusing) yang berfungsi untuk memisahkan sel darah dari plasmanya. Di dalam sentrifuge terdapat 4, 8 atau 16 tabung reaksi tersusun secara melingkar. Kecepatan putaran berkisar pada 0-10.000 rpm (round per menit), tergantung dari jenis/merknya. Pada saat digunakan maka sentrifuge harus ditutup rapat-rapat dan jangan dibuka sebelum putarannya berhenti (bila putaran mendadak dihentikan) akan berbahaya karena akan menyebabkan zat yang disentrifuge tumpah.

Mikroskop, kaca benda dan kaca penutup, mikro pipet, pipet tetes, papan dan alat seksi, gelas piala, larutan garam fisiologis untuk katak (0,7% NaCl), aquades, berbagai larutan garam dapur dengan konsentrasi 3%, 2%, 1%, 0,9%, 0,7%, 0,5%, 0,3%, 0,1%, anti koagulan (heparin, atau campuran kalium oksalat dengan amonium oksalat).

Alat yang dipakai untuk penghitungan sel darah merah adalah hemositometer dan pengamatan terhadap eritrosit dipakai mikroskop cahaya, dengan pembesaran 100x.

b. Bahan

Hewan percobaan: Katak hijau, bahan kimia yang dipakai untuk kegiatan ini adalah larutan Hayem, alkohol 70% dan 95%, larutan HCl 1%, dan larutan NaHCO₃, bahan amatan darah yang dipakai adalah darah katak dan tikus putih (atau mencit).

c. Prosedur Kerja

1) Pembuatan Filtrat Plasma Oksalat

- a) Campurkan 1 gram Na oksalat ke dalam 20 cc, 0,9% NaCl, lalu tambahkan 500 darah lembu. Aduk dan goyangkan secara perlahan kedua campuran tersebut.
- b) Dari hasil pencampuran tersebut ambillah 25 cc kemudian lakukan pemusingan 2500 rpm selama satu jam. Dari hasil pemusingan ini ambillah cairan bagian atas (Supernatan) dengan menggunakan pipet sehingga residu (sel-sel darah) di bagian bawahnya tidak terambil. Supernatan yang diperoleh disebut "plasma oksalat".
- c) Ambillah 10 cc plasma oksalat, masukkan ke dalam gelas piala lalu tambahkan 5 cc aquades dan panaskan sampai mendidih. Dalam keadaan mendidih tambahkan 1 tetes asam asetat, biarkan dingin selama lebih kurang satu menit, sesudahnya saring dengan kertas saring dan ambillah filtratnya.

2) Pengujian Protein

Untuk pengujian protein masukkan 10 cc filtrat plasma oksalat ke dalam tabung reaksi, tambahkan 1 tetes aquades dan ujilah dengan larutan Millon 10 tetes. Perhatikan dan catatlah perubahan warna yang terjadi pada filtrat plasma oksalat.

3) Pengujian Karbohidrat

Untuk pengujian karbohidrat masukkan 10 cc filtrat plasma oksalat ke dalam tabung reaksi, tambahkan 10 tetes larutan Benedict dan dengan menggunakan penjepit kayu panaskanlah. Perhatikan dan catatlah perubahan warna yang terjadi pada filtrat plasma oksalat di dalam tabung reaksi.

4) Pengujian Unsur Klorida

Dalam menguji keberadaan unsur Cl, tuangkan 10 cc filtrat plasma oksalat ke dalam tabung reaksi, segera tambahkan 10 tetes perak nitrat. Amati perubahan filtrat plasma oksalat di dalam tabung reaksi. Perhatikan warnanya dan keadaan filtratnya.

5) Pengujian Unsur Natrium

Pengujian unsur Natrium dilakukan dengan cara menambahkan berturut-turut 10 tetes asam klorida dan 10 tetes natrium oksalat kepada 10 cc filtrat plasma oksalat yang dituangkan ke dalam tabung reaksi. Amati setiap, perubahan warna yang terjadi pada setiap, penambahan kedua zat tersebut.

Hasil pengamatan uji zat/unsur disajikan seperti tabel berikut.

| No | Uji Zat/Unsur | Zat yang ditambahkan | Perubahan yang terjadi |
|----|---------------|----------------------|------------------------|
| 1 | Protein | | |
| 2 | Karbohidrat | | |
| 3 | Lemak | | |
| 4 | Na | | |
| 5 | Cl | | |

6) Menentukan Golongan Darah

Ada beberapa macam golongan darah pada manusia, salah satu diantaranya ialah menurut sistem ABO. Menurut sistem ABO ini darah manusia dibagi menjadi 4 golongan yaitu : Golongan darah A, B, AB dan O.

- ❖ Golongan darah A, dalam butir darahnya mempunyai aglutinogen A, sedangkan pada plasma darahnya mengandung agglutinin β .
- ❖ Golongan darah B, dalam butir darahnya mempunyai aglutinogen B, sedangkan pada plasma darahnya mengandung agglutinin α .
- ❖ Golongan darah AB, dalam butir darahnya mempunyai aglutinogen A dan B, sedangkan pada plasma darahnya TIDAK mengandung agglutinin.
- ❖ Golongan darah O, dalam butir darahnya TIDAK mempunyai aglutinogen, tetapi pada plasma darahnya mengandung agglutinin α dan β .

- ❖ Bila aglutinogen A bercampur dengan agglutinin α atau aglutinogen B bercampur dengan agglutinin β maka akan terjadi penggumpalan. Dalam transfuse darah yang perlu diperhatikan bagi si donor adalah aglutinogennya.
Cara melakukan percobaan : Sediakanlah sebuah gelas obyek yang bersih. Teteskan serum di sebelah kiri dan serum di sebelah kanan. Tambahkan pada masing-masing serum tadi dengan setetes darah dari ujung jari anda yang telah ditusuk dengan lancet. Aduklah masing-masing campuran serum dan darah anda tadi dengan batang korek api yang berbeda hingga homogen. Perhatikan apa yang terjadi pada keduanya, bila perlu dengan mengamati di bawah mikroskop.

a) Cara memperoleh sediaan eritrosit katak

- i. Lakukan "single-pith" pada katak kemudian bedahlah sehingga nampak jantung dan pembuluh-pembuluh darah besar di sekitarnya. Tusukkan jarum pada salah satu pembuluh besar tersebut kemudian hisaplah dengan pipet darah merah sampai tanda 0,5. Segera, masukkan ujung pipet ke dalam larutan Hayem dan hisap larutan Hayem sampai mencapai angka 101. Kocoklah pipet beberapa menit sampai campuran homogen kemudian buang beberapa tetes larutan pada ujung pipet. Sisa campuran yang terdapat di dalam pipet tersebut adalah sediaan eritrosit yang siap dihitung jumlahnya dengan hemositometer dengan cara menyentuhkan ujung pipet pada ruang antara hemositometer dengan gelas penutupnya.
- ii. Hitunglah jumlah eritrosit pada petak pengamatan.

b) Cara memperoleh sediaan eritrosit tikus putih

- i. Lakukan pembiusan pada tikus putih sampai terlihat tikus lemas (jangan sampai mati). Lakukan pembedahan pada bagian dada sehingga nampak jantung dan pembuluh besar. Cara kerja selanjutnya ikuti seperti pada saat menyediakan sediaan eritrosit katak.
- ii. Hitunglah jumlah eritrosit pada petak pengamatan.

CATATAN:

Apabila bahan yang dipakai burung, maka ambillah pembuluh darah besar pada pangkal ketiakanya.

c) Penjelasan Hemositometer dan Pipet Darah:i. Hemositometer

Terbuat dari sepotong gelas berakuran 3,5 x 7,5 cm. Pada salah satu permukaannya terdapat petak perhitungan, berwarna bening dengan banyak garis.

Di sisi kanan kiri petak ini terdapat bagian yang agak menonjol setinggi 1/10 mm, sehingga jika petak hitung ini ditutup dengan gelas penutup akan terdapat jarak antara petak hitung dengan gelas penutup, setinggi 1/10 mm (Gambar 1).

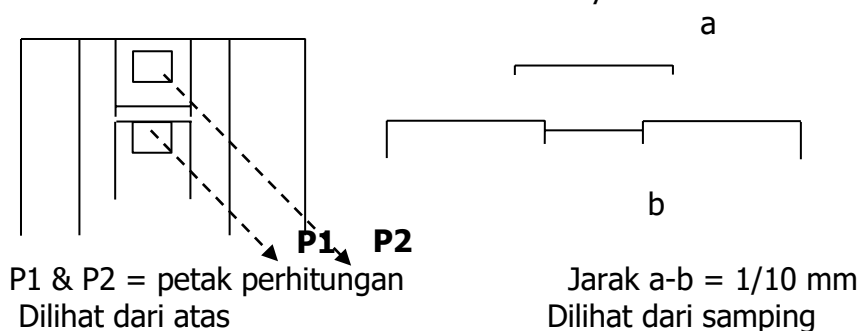
Petak hitung mempunyai luas 3 x 3 mm². Luas tersebut dibagi menjadi 9 petak kecil masing-masing seluas 1 x 1 mm². Untuk perhitungan sel darah merah dipakai petak hitung yang berada di tengah (petak yang dibatasi garis rangkap), sedang untuk perhitungan sel darah putih berada pada keempat sudut petak (Gambar 2). Petak perhitungan sel darah merah terbagi menjadi 25 petak besar (Gambar 3). Petak hitung untuk sel darah putih ini terbagi menjadi 16 petak kecil seluas 1/4 x 1/4 mm².

ii. Pipet darah

Berupa mikropipet yang pada bagian tengahnya terdapat penggelembungan dengan volume 100 x volume pipet di bawahnya (untuk pipet darah merah) dan 10 x (untuk pipet darah putih). Pada bagian yang menggelembung ini terdapat butir kecil warna merah (untuk, pipet darah merah) dan butir putih (untuk pipet darah putih). Pada batang pipet di bawah bagian yang menggelembung tertera angka 0,5 dan 1 (pada pipet merah maupun pada pipet darah putih). Sedangkan sedikit di atas bagian yang menggelembung tertera angka 101 untuk pipet darah merah dan 11 untuk pipet darah putih (Gambar 5 dan 6).

Jika darah dihisap sampai angka 0,5 dan cairan pengencer dihisap sampai angka 11, maka pengencerannya adalah $10/0,5 = 20x$. Jika darah dihisap sampai angka 0,5 dan cairan pengencer dihisap sampai angka 101, maka pengencerannya adalah $100/0,5 = 200x$.

Gambar 1 : Haemocytometer



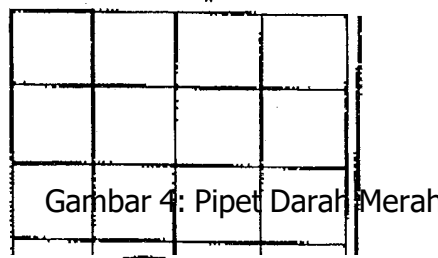
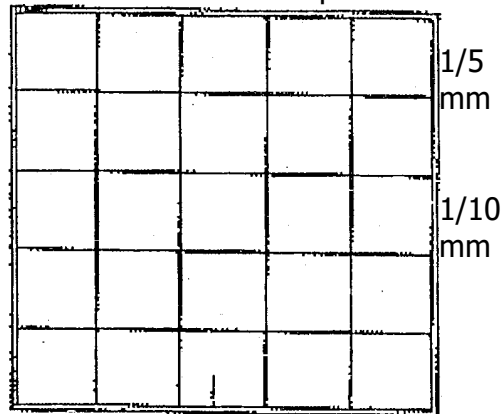
Gambar 2 : P1 dibesarkan

| | | |
|----|----|----|
| Pt | | Pt |
| | Mr | |
| Pt | | Pt |

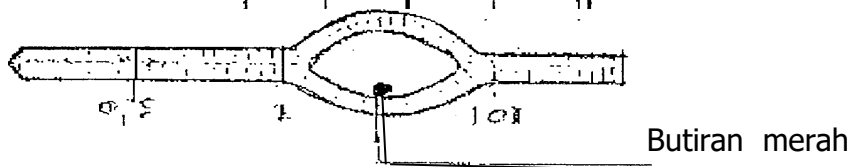
Mr = petak perhitungan sel darah merah

Pt = petak perhitungan sel darah putih

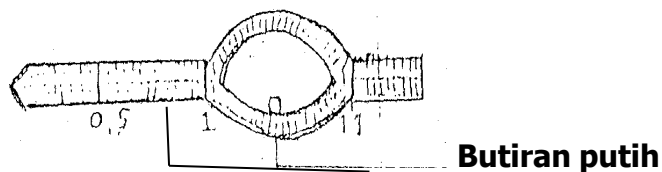
Gambar 3 : Mr diperbesar



Gambar 4: Pipet Darah Merah



Gambar 5: Pipet Darah Putih



Cara membersihkan pipet darah

Apabila saudara gagal pada saat pengambilan darah (misalnya terdapat gelembung udara), maka pipet harus segera dibersihkan dengan cara sebagai berikut:

- 1) Keluarkan darah dari pipet dengan cepat, dengan jalan meniup melalui karet.
- 2) Isi pipet darah dengan aquadest dengan jalan menghisapnya, kemudian keluarkan. Ulangi beberapa kali sampai pipet bersih. Bila dengan cara ini belum bersih (masih ada noda darah), isi pipet dengan HCl 1%, kocok, kemudian HCl dikeluarkan. Cuci kembali dengan aquadest.
- 3) Bila pipet sudah bersih, isi dengan alkohol 95%, kemudian keluarkan. Biarkan beberapa saat.
- 4) Keringkan, dengan air blower (bila perlu).

Analisis Data

Untuk menghitung eritrosit gunakan rumus: Jumlah eritrosit = FP x 50 N butir/mm³

Keterangan:

FP = Faktor pengenceran

50N = Jumlah eritrosit dalam 1 mm³

Hasil penghitungan eritrosit pada 5 petak kecil disajikan seperti tabel berikut.

| Ulangan ke- | Petak atas | Petak bawah |
|-------------|------------|-------------|
| 1 | | |
| 2 | | |
| 3 | | |

Luas 5 petak kecil yang masing-masing terdiri atas 16 petak terkecil = $5 \times 1/5 \times 1/5 \text{ mm}^2 = 1/5 \text{ mm}^2$

Volume darah pada 5 petak kecil tersebut = $1/5 \times 1/10 \text{ mm}^2 = 1/50 \text{ mm}^3$. Misalkan dalam 5 petak kecil tersebut terdapat sel darah merah sejumlah N butir, maka dapat dituliskan sebagai berikut:

- 1) Dalam $1/50 \text{ mm}^3$ darah terdapat N butir eritrosit.
- 2) Maka dalam 1 mm^3 darah terdapat 50 N butir eritrosit
- 3) Karena darah tersebut diencerkan 200 x, berarti dalam 1 mm^3 darah tanpa pengenceran terdapat $200 \times 50 \times N$ butir = 10.000 N butir eritrosit.

Untuk Mengetahui Kecepatan Hemolisis dan Krenasi

- a. Katak disingle pith, kemudian dibedah sehingga nampak jantung dan pembuluh darah besar.
- b. Tusuk salah satu pembuluh darah sehingga darahnya keluar.
- c. Siapkan kaca benda, teteskan larutan 0,7% NaCl pada kaca benda kemudian kepada tetesan NaCl tersebut larutkan sedikit darah koiak. Amati di bawah mikroskop dengan hati-hati kapan telah nampak terjadi hemolisis, catat waktunya (dalam detik).
- d. Lakukan seperti cara kerja nomor 3 untuk larutan 0,5% NaCl, 0,3% NaCl, 0,1 % NaCl, dan aquades. Catat hasilnya, dan buatlah kesimpulannya.
- e. Untuk mengetahui kecepatan terjadinya krenasi, lakukan seperti cara kerja nomor 3 dengan menggunakan larutan NaCl yang lebih pekat daripada 0,7%. Catat hasilnya, dan buat kesimpulan.

2. Menghitung Persentase Hemolisis.

- a. Katak disingle pith, kemudian dibedah sehingga nampak jantung dan pembuluh darah besar.
- b. Tusuk pembuluh darahnya sehingga darahnya keluar.
- c. Tampung \pm 2-5 ml sampel darah dalam suatu tabung reaksi yang telah diberi anti koagulan.
- d. Siapkan 10 tabung reaksi dan masing-masing diisi dengan 0,1 ml sampel darah, beri nomor/label pada tabung reaksi.
- e. Tambahkan kepada darah sampel pada tabung reaksi tersebut dengan larutan NaCl: **Tabung 1** dengan 2 ml 0,7% NaCl, **tabung 2** dengan 2 ml 0,5% NaCl, **tabung 3** dengan 2 ml 0,3% NaCl, **tabung 4** dengan 2 ml 0,1% NaCl, dan **tabung 5** dengan 2 ml aquades.
- f. Diamkan darah dalam tabung reaksi sekitar 10 menit, setelah itu pusingkan selama 5 menit dengan kecepatan 3.000 rpm.

- g. Amati warna dan volume supernatan, serta endapan eritrosit. Supernatan yang berwarna bening (tanpa wana merah) dengan endapan eritrosit. Paling banyak berarti pada larutan NaCl tersebut tidak terjadi hemolisis sama sekali.
- h. Apabila supernatan sudah ada warna merah, dan endapan eritrosit sudah berkurang, berarti pada larutan NaCl ini sudah mulai terjadi hemolisis, maka ini merupakan batas bawah toleransi osmotis membran eritrosit.
- i. Apabila supernatan berwarna merah tanpa endapan eritrosit sama sekali berarti pada larutan NaCl ini terjadi hemolisis sempurna, dan ini merupakan batas atas toleransi osmotis membran eritrosit.

Analisis Data

a. Kecepatan Hemolisis dan Krenasi

Data pengamatan berapa besarnya waktu (dalam menit) kapan mulai nampak terjadi hemolisis atau krenasi. Dari data tersebut kemudian analisis untuk mencari hubungan antara kepekatan larutan NaCl dengan kecepatan terjadi hemolisis atau krenasi. Buat grafiknya.

b. Menghitung Persentase Hemolisis

Dari hasil praktikum saudara, buat grafik hubungan antara, kadar NaCl dengan persentase hemolisis. Pada kadar NaCl berapa % eritrosit masih toleran, dan pada NaCl berapa % terjadi hemolisis sempurna.

3. Lembar Observasi Hasil Pengamatan

- a. Catat hasil pengamatanmu dalam bentuk tabel atau grafik yang sesuai.
- b. Analisis data yang diperoleh secara statistik

4. Penugasan/Pertanyaan/Diskusi

- a. Apakah peranan masing-masing zat/unsur yang diuji tersebut terhadap aktivitas fisiologis di dalam darah dan berapa kadarnya?
- b. Apakah fungsi bahan-bahan berikut dalam memperoleh plasma oksalat?
 - 1) Na oksalat
 - 2) NaCl 10,9 %
- c. Untuk memperoleh filtrat dari plasma oksalat diperlukan asam asetat. Uraikan apa fungsinya?
- d. Adakah perbedaan jumlah eritrosit pada hewan poikilotermik dan homoiotermik? Apabila terdapat perbedaan maka secara fisiologis bagaimana mekanismenya sehingga terjadi perbedaan tersebut.
- e. Dari praktikum di atas, ide penelitian apa yang dapat anda kembangkan. Utarakan ide sebanyak-banyaknya
- f. Selama melakukan praktikum, kesulitan apa yang anda alami, utarakan, dan saran apa yang dapat anda sampaikan untuk akurasi pengambilan data.
- g. Dari hasil pengamatan anda, apakah ada data atau kejadian yang berbeda dengan teori. Bila ada, bahas mengapa dapat terjadi demikian.

Praktikum 8:

EFEK HORMONAL PADA FERTILISASI DAN PERKEMBANGAN EMBRIO IKAN

1. Pendahuluan

a. Tujuan

1. Mengetahui pengaruh hormon untuk merangsang ovulasi dan spermiasi
2. Melakukan proses induksi hormonal sehingga merangsang fertilisasi ikan.
3. Mengamati dan mengidentifikasi perkembangan embrio ikan

b. Landasan Teori

Proses ovulasi dan pemijahan tidak dapat berlangsung jika kondisi lingkungan tidak mendukung. Hal ini dapat terjadi pada ikan-ikan yang sulit memijah secara alami. Salah satu faktor yang diduga menjadi penyebab sehingga ovulasi pada pemijahan tidak berlangsung adalah titer hormon gonadotropin yang rendah dalam darah ikan tersebut. Pada kasus tersebut untuk berlangsungnya proses ovulasi dan pemijahan ikan harus diinduksi dari luar melalui ekstrak kelenjar hipofisis atau hormon gonadotropin sintesis atau GnRH analog. Ikan Nilem matang yang diinduksi dengan GnRH analog Ovaprim 0,3 – 0,5 mL/kg dapat distripping sekitar 6-8 jam setelah pemberian induksi hormon (Simanjuntak dan Wijayanti, 2005).

Keberhasilan induksi hormon dalam memacu pemijahan yaitu ikan yang digunakan harus benar-benar matang kelamin, karena ikan yang matang kelamin kelenjar hipofisisnya mengandung hormon gonadotropin dalam jumlah maksimal. Cara penyuntikan hormon ke ikan resipien juga harus hati-hati sebab apabila terjadi kerusakan atau pelepasan sisik pada ikan yang akan diinduksi (resipien), maka ikan tidak dapat memijah walaupun telah diinduksi dengan hormon. Selain itu, tempat dan media pemijahan (air) harus benar-benar bersih dengan kandungan oksigen cukup tinggi (>5 ppm). Pengaruh kerja hormonal terhadap tingkah laku pemijahan ikan dipengaruhi oleh temperatur air. Temperatur optimum yang diperlukan yaitu 26 – 28°C. Ikan yang sudah mengalami ovulasi (siap dikeluarkan telurnya) menunjukkan gerakan-gerakan gelisah dan sering bergerak ke permukaan air.

II. Metode

a. Bahan:

1. Ikan jantan dan betina yang matang kelamin
2. Sediaan hormon untuk induksi ovulasi dan spermiasi (GnRH analog)
3. Larutan NaCl fisiologis
4. Akuadest

b. Alat

- | | |
|-------------------------|-----------------|
| 1. S spuit injeksi | 4. Cavity slide |
| 2. Kain katun/lap | 5. Mikroskop |
| 3. Akuarium dan aerator | 6. Pipet tetes |

c. Prosedur Kerja

1. Pilihlah ikan yang telah matang gonad. Ikan betina matang gonad ditandai dengan perut yang membesar, terasa lunak bila diraba dan daerah sekitar lubang genitalia agak kemerahan. Sedangkan ikan jantan matang gonad ditandai dengan mudahnya milt keluar jika dilakukukan stripping.
2. Timbanglah ikan jantan dan ikan betina untuk menentukan dosis hormon yang diperlukan untuk induksi ovulasi dan spermiasi. Apabila hormon penginduksian berupa GnRH misalnya Ovaprim, maka dosisnya adalah 0,5 mL/kg berat badan.
3. Suntikkan sedian hormon yang telah disiapkan secara intra muskular didaerah punggung. Pastikan bahwa hormon yang disuntikkan masuk ke dalam jaringan otot dan tidak ada yang keluar.
4. Masukkan induk jantan dan betina yang telah diinduksi ke dalam akuarium yang berisi air bersih dan jernih serta dilengkapi aerasi. Tutuplah bagian atas akuarium dengan kasa atau strimin agar ikan tidak melompat keluar akuarium. Perlu diketahui bahwa ikan yang hampir memijah memiliki kebiasaan melompat ke permukaan air.
5. Amati waktu yang diperlukan sampai ikan memijah.
6. Jika telah memijah, amati perkembangan embrio ikan yang telah diperoleh.
7. Rapihkan dan bersihkan meja kerja jika telah selesai pengamatan.

2. Lembar Observasi

1. Catat waktu yang diperlukan ikan untuk memijah.
2. Amati dan identifikasi perkembangan embrio ikan

4. Penugasan/ Pasca Praktikum

1. Bagaimana proses penyuntikan hormon untuk merangsang ovulasi dan spermiasi? Jelaskan!
2. Jelaskan pengaruh hormon terhadap proses pemijahan ikan!
3. Faktor apa saja yang mempengaruhi keberhasilan dalam pemijahan ikan?
4. Gambarkan tahap perkembangan embrio ikan!

DAFTAR PUSTAKA

- Arthur J Vander. 1986. Human Physiology 4th MC Graw- Hill International Edition
- Campbell N A. Reece CB. Mitchell. 2002. Biology 1. 4thEd. Addison Wesley World Student Series. San Fransisco
- Corbin/Linsey. 1985. Concept of Physical Fitness with Laboratories 5 th ed. Wm C Brown Publisher.
- Fujaya, Y. 2004. Fisiologi Ikan Dasar Teknik Pengembangan Teknik Perikanan. Rinek Cipta. Jakarta.
- Tortora and Anagnostakos. 1990. Principles of Anatomy and Physiology, 5 th ed. Haper International Edition
- Isnaeni, W. 2006. Fisiologi Hewan. Penerbit Kanisius. Yogyakarta