

PRAKTIKUM RESEPTOR KOLINERGIK DI USUS

Penulis: Dr. dr. Fathiyah Safithri, M.Kes

I. Tujuan Belajar

1. Memahami prinsip – prinsip percobaan farmakologi dengan menggunakan sediaan jaringan usus terpisah
2. Memahami efek farmakologis obat agonis dan antagonis pada jaringan usus terpisah
3. Menghitung afinitas dan seletifitas obat terhadap reseptor pada sediaan usus terpisah

II. Prerequisite knowledge

Sebelum melakukan praktikum mahasiswa harus:

1. Memahami konsep interaksi agonis antagonis dengan reseptor
2. Memahami konsep mekanisme sinyal transduksi
3. Memahami prinsip neurotransmisi kolinergik
4. Memahami konsep afinitas dan efisiensi obat

III. Kegiatan Pembelajaran

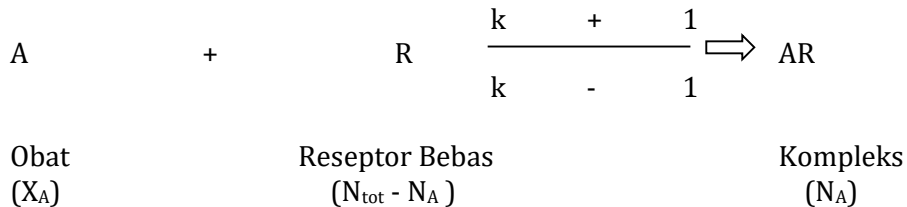
Pembelajaran dilakukan dalam tahapan sebagai berikut:

Tahapan pembelajaran	Lama	Metode	Pelaksana/ Penanggung Jawab
Pre tes dan Pengantar	15 menit		Dosen
Persiapan, Pelaksanaan percobaan dan mencatat hasil	70 menit	Praktikum menggunakan tikus percobaan	Asisten Dosen/Dosen
Penjelasan cara pelaporan hasil praktikum	15 menit		Dosen

IV. Sumber belajar

Pada prinsipnya semua bagian dari fraktus gastrointestinal dapat digunakan untuk percobaan organ terpisah (esofagus, gaster, ileum, kolon dan bahkan rektum)

Percobaan ini digunakan untuk mengetahui efek obat terhadap organ yang secara tidak langsung menunjukkan kerja obat di reseptornya. Apabila jumlah reseptor obat pada organ adalah N_{total} , konsentrasi obat yang diberikan X_A maka reseptor yang ditempati oleh obat ini adalah N_A . Reaksi ini dapat digambarkan sebagai berikut :



Ada 2 macam metoda organ terpisah, yaitu yang disertai saraf dan tidak disertai saraf. Dengan metoda ini dapat diamati respon organ terhadap pemberian obat.

Respon organ terhadap obat dapat diukur secara kualitatif dan kuantitatif sehingga dapat digunakan untuk menghitung afinitas obat terhadap reseptor. Pada praktikum ini digunakan beberapa konsentrasi obat untuk melihat efeknya terhadap organ terpisah (usus)

V. Hal-Hal yang harus diperhatikan pada praktikum ini:

1. Memahami cara pengambilan ileum marmut
2. Memahami preparasi praktikum sediaan ileum terpisah
3. Memahami prosedur untuk menjaga viabilitas ileum
4. Memahami komponen dalam organbath dan kymograph
5. mekanisme perekaman kontraksi usus dengan kymograph
6. Memahami cara menginterpretasi hasil rekaman kymograph

VI. Alat-alat yang dibutuhkan

1. *Organ bath*
2. Kymograph dan levernya
3. Pompa udara
4. Spuit 1 ml
5. Alat bedah

VII. Bahan yang dibutuhkan

1. Ileum marmut sepanjang 3-4 cm
2. Larutan thyrode
3. Metacolin berbagai konsentrasi
4. Atropin

VIII. Prosedur Kerja

1. Preparasi sediaan Ileum Terpisah

- Marmut dieuthanasia dengan eter
- Melakukan pemotongan ileumnya sepanjang 3-4 cm

- Ileum dimasukkan ke dalam organ bath yang berisi larutan tyrode dengan temperatur 37⁰ C dan diaerasi dengan udara dari pompa udara

2. Perekaman perubahan tonus dan kontraksi otot polos ileum

- Ujung ileum dikaitkan ke kawat yang ada di dasar organ bath, sedangkan ujung yang lain dari ileum dikaitkan pada pengait benang yang dihubungkan dengan ujung lever dari kymograph. Ujung yang lain dari lever dipasang jarum berisi tinta yang dapat merekam / mencatat gelombang kontraksi-relaksasi otot polos ileum
- Peningkatan tonus dan kontraksi ileum akan menyebabkan ileum mengkerut dan memendek. Hal ini secara otomatis akan menyebabkan ujung lever yg terhubung dengan benang tertarik ke bawah sehingga ujung lever yang berisi jarum tinta akan bergerak naik sedemikian rupa sehingga membentuk gambaran di kymograf berupa garis naik
- Ileum yang masih viable akan menunjukkan gerakan kontraksi-relaksasi ileum secara bergantian, dan ini akan tergambar pada kymograph sebagai gelombang kontraksi-relaksasi (base line)
- Injeksikan agonis kolinoseptor (metakolin) berbagai dosis secara bergantian ke dalam organ bath, mulai dari dosis paling rendah hingga dosis paling tinggi. Jika saat dosis pertama diinjeksikan belum tampak peningkatan gelombang kymograf, maka langsung disambung dengan dosis kedua. Jika saat menginjeksikan dosis yang kesekian tampak gambaran gelombang naik, maka tunggulah (jangan masukkan dulu dosis berikutnya) sampai gelombang yang terbentuk mulai datar, baru masukkan dosis yang berikutnya. Lakukan sampai dosis metakolin paling tinggi. Setiap kali melakukan injeksi, catat jamnya dan tandai pada kertas kymographnya

No.	Konsentrasi Metakolin (M)	Volume Metakolin (cc)	Konsentrasi Metakolin dlm organ bath (M)
1.	$2,5 \times 10^{-6}$	0,2	10^{-8}
2.	$2,5 \times 10^{-6}$	1,8	10^{-7}
3.	$2,5 \times 10^{-5}$	1,8	10^{-6}
4.	$2,5 \times 10^{-4}$	1,8	10^{-5}
5.	$2,5 \times 10^{-3}$	1,8	10^{-4}
6.	$2,5 \times 10^{-2}$	1,8	10^{-3}

- Lakukan washing atau gantilah larutan dengan volume yang sama setelah kontraksi usus mulai turun (lebih kurang 1 menit). Tunggu aktivitas ileum kembali normal (sampai gambaran base line), lebih kurang 3 menit, sebelum mulai melakukan perekaman berikutnya dg antagonis kolinoseptor
- Injeksikan antagonis kolinoseptor (atropin) sebesar 0,2 ul dengan konsentrasi 3×10^{-6} M. Konsentrasi atropin dalam organ bath 3×10^{-8} M (volume larutan 25ml). Tunggu 1 menit
- Injeksi agonis kolinoseptor sesuai langkah pada poin d)

3. Menginterpretasi rekaman kymograph

- a) Lakukan interpretasi gelombang kymograf. Besar kontraksi ditunjukkan oleh amplitudo gelombang
- b) Ukur dan catat amplitudo gelombang yang terbentuk setiap kali metakolin diinjeksikan.

IX. TUGAS :

1. Buatlah kurva dosis-efek Metakolin tanpa atropin
2. Buatlah kurva dosis-efek Metakolin dengan atropin
3. Bahaslah hasil praktikum,, sesuaikan dengan teori/jurnal yang ada ?
 - a) Prinsip praktikum sediaan organ terpisah (isolated organ)
 - ✓ Syarat viabilitas isolated organ
 - b) Prinsip Kontraksi Usus sebagai organ otonomik
 - ✓ Persarafan otonomik usus
 - ✓ Isolated usus – masih ada efek kontraksi (pada praktikum)
 - c) Prinsip Kerja Obat pada Reseptor
 - ✓ Teori Okupansi
 - d) Prinsip kerja Agonis
 - ✓ Hasil Praktikum bgm (lihat grafik kymograf dan kurva dosis-efek Metakolin)
 - ✓ Mekanisme sinyal transduksi Metakolin s.d timbul efek kontraksi
 - e) Prinsip Kerja antagonis
 - ✓ Hasil Praktikum bgm (lihat grafik kymograf)
 - ✓ Mekanisme sinyal transduksi Atropin
 - f) Membandingkan afinitas dan efisiensi Metakolin jika diberikan metakolin saja dengan jika diberikan Atropin dulu kemudian Metakolin
 - ✓ Prinsip kerja antagonis kompetitif dan non kompetitif
 - ✓ Hasil praktikum bgm (lihat grafik kymograf dan kurva dosis-efek Atropin +metakolin)
 - ✓ Tentukan Kerja Atropin sebagai antagonis kompetitif atau non kompetitif berdasarkan hasil afinitas dan effikasinya.
 - ✓ Kesimpulan : bgm pengaruh pemberian suatu antagonis kompetitif non kompetitif terhadap afinitas dan efisiensi agonis.
 - g) Buatlah laporan per kelompok dalam bentuk makalah dan siapkan ppt nya untuk dipresentasikan di depan kelas

X. RUBRIK PENILAIAN

Penilaian praktikum terdiri dari :

Rerata nilai pretes 1 dan 2 MCQ	= (0-100) x 10%
Nilai Laporan dan Diskusi	= (0-100) x 10% rubrik
Nilai ujian MCQ	= (0-100)x 80%

DAFTAR PUSTAKA

- Brunton Laurence, 2018, Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics, 13 ed, , McGraw Hill education
- Katzung and Trevor, Basic and Clinical Pharmacology, 13 ed, Lange MCGraw Hill
- Wells BG, Dipiro JT, Dipiro CV, Schwinghammer TL, 2009, Pharmacotherapy Handbook
- Mary Anne Koda-Kimble et al, 2009, Applied therapeutics : the clinical use of drugs – 9th ed. Lippincott Williams & Wilkins
- Katz, 2011, Pharmacotherapy Principles & Practice Study Guide: A Case-Based Care-Plane Approach, thre McGraw Hill Companies
- Wells BG, 2015, Pharmacotherapy Handbook nineth edition

Garg GR, 2015, Review of Pharmacology, ninth edition
Bardal S, 2011, Applied Pharmacology, Elsevier & Saunders
Tripathi KD, 2013 Essentials of Medical Pharmacology, seventh edition, Jaypee brothers medical
Publisher
Rotter JM, 2008 A Textbook of Clinical Pharmacology and Therapeutics, fifth edition
Ion Walker, 2012, Clinical Pharmacy and Therapeutics, fifth edition
Schwinghamerr, 2009, Casebook a patient-focused approach, seventh edition
Clark, 2012 Lippincott's Illustrated Reviews: Pharmacology, fifth edition