

SKRIPSI

**EFEK CuSO_4 DAN MgSO_4 PADA KONSTIPASI
YANG DISEBABKAN OLEH MORFIN**



PUTRI RIZQIYAH

FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA

DEPARTEMEN FARMASI PRAKTIS

SURABAYA

2021

Lembar Pengesahan

**EFEK CuSO_4 DAN MgSO_4 PADA KONSTIPASI YANG
DISEBABKAN OLEH MORFIN**

SKRIPSI

**Dibuat Untuk Memenuhi Syarat
Mencapai Gelar Sarjana Farmasi Pada
Fakultas Farmasi Universitas Airlangga**

2021

Oleh:

Putri Rizqiyah

NIM. 051711133058

**Skripsi ini telah disetujui
pada tanggal 13 September 2021 oleh:**

Pembimbing Utama



apt. Mahardian R., S.Si., M.Sc., Ph.D.

NIP. 198103142005011002

Pembimbing Serta



apt. Dewi W.S., S.Farm., M.Farm.Klin

NIP. 198510182008122002

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Putri Rizqiyah

NIM : 051711133058

adalah mahasiswa Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Naskah Tugas Akhir/Skripsi yang saya tulis dengan judul:

Efek CuSO_4 dan MgSO_4 pada Konstipasi yang Disebabkan oleh Morfin

adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Apabila di kemudian hari diketahui bahwa isi Naskah Skripsi ini merupakan hasil plagiasi, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 13 September 2021

Yang membuat pernyataan,



Putri Rizqiyah

NIM. 051711133058

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Putri Rizqiyah

NIM : 051711133058

menyatakan bahwa demi kepentingan perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui abstrak Skripsi yang saya tulis dengan judul:

Efek CuSO_4 dan MgSO_4 pada Konstipasi yang Disebabkan oleh Morfin

untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu *Digital Library* Perpustakaan Universitas Airlangga untuk kepentingan akademik, sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 13 September 2021

Yang membuat pernyataan



Putri Rizqiyah

NIM. 051711133058

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah *rabbil 'aalamiin*, puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan naskah skripsi dengan judul “EFEK CuSO_4 DAN MgSO_4 PADA KONSTIPASI YANG DISEBABKAN OLEH MORFIN” dalam rangka memenuhi syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada:

1. apt. Mahardian Rahmadi, S.Si., M.Sc., Ph.D. selaku pembimbing utama dan apt. Dewi Wara Shinta, S.Farm., M.Farm.Klin selaku pembimbing serta yang telah sabar dan ikhlas membimbing, memberi masukan, nasihat, dan motivasi kepada penulis selama penyusunan naskah skripsi ini.
2. Prof. Dr. Mohammad Nasih, SE., MT., Ak., CMA., selaku rektor Universitas Airlangga beserta wakil rektor yang telah menyediakan fasilitas pendidikan selama perkuliahan dan penelitian skripsi.
3. Prof. apt. Junaidi Khotib, S.Si., M.Kes Ph.D. selaku dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga sekaligus dosen penguji pertama yang telah memberi masukan, saran, dan kritik atas penyusunan skripsi.
4. apt. Andi Hermansyah, S.Farm., M.Sc., Ph.D. selaku ketua Departemen Farmasi Praktis yang turut membantu kelancaran penelitian.
5. Dra. apt. Aniek Setiya Budiatin, M.Si. selaku dosen penguji kedua yang telah memberi saran, masukan, dan kritik atas penyusunan skripsi.
6. Dr. apt. Tutiek Purwanti, selaku dosen wali yang selalu memberikan dukungan dan motivasi kepada penulis sehingga penulis bisa menyelesaikan studi.
7. apt. Chrimawan Ardianto, S.Farm., M.Sc., Ph.D. selaku koordinator Program Studi Sarjana Farmasi yang telah membantu kelancaran studi dan memberi masukan selama pelaksanaan penelitian.
8. Orang tua penulis Bapak Saiful Bahri dan Ibu Ida Fitriyati yang telah sabar mendampingi, memberikan dukungan, kasih sayang, dan doa yang tiada henti selama menjalani studi dan menyusun skripsi.

9. Saudara penulis Muchammad Aminuddin, Annisa Rusydiana, Anis Sakinah, dan lain-lain yang tidak dapat disebutkan satu persatu atas dukungan selama menjalani studi.
10. Sahabat penulis Iva Ladzdzah Malikah, Qory Pramita, Putri Diana Yusuf, Nada Firdaus, dan Fina Rahmawati yang selalu menyemangati, membantu, dan saling mendoakan antar sesama selama menjalani studi.
11. Anggota tim penelitian Biomedik, Rifqi Anindita Karunia, Ikbar Nanda Pratama, Fakhriyah Dinina, Saidah Usman Balbeid, Mirza Aprilia, Ahmad Dzulfikri Nurhan, Baiq Risky, Nurrahmi, Dian Suasana, Ilham Bagus Sagitaras, Lailisa Afifah Nikmaturohmi, I Nengah Budi Sumartha, dan lain-lain yang telah memotivasi, memberi semangat, dan banyak membantu selama melaksanakan penelitian.
12. Seluruh teman Heroin angkatan 2017 khususnya kelas B Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah menemani selama menempuh pendidikan sarjana farmasi.
13. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat banyak kekurangan dalam penulisan naskah skripsi ini, saran dan kritik yang bersifat membangun akan sangat membantu menyempurnakan skripsi yang penulis susun. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan bagi seluruh pihak yang membaca.

Penulis

RINGKASAN**Efek CuSO₄ dan MgSO₄ pada Konstipasi yang Disebabkan oleh Morfin**

Putri Rizqiyah

Morfin merupakan golongan opioid yang direkomendasikan sebagai analgesik pada terapi nyeri sedang hingga berat. Namun golongan opioid, termasuk morfin memiliki beberapa efek samping yang mempengaruhi kualitas hidup pasien yang mengonsumsinya. Salah satu efek yang paling sering terjadi yaitu *Opioid-Induced Constipation* (OIC), dapat terjadi pada 40-70% pasien yang menggunakan morfin. Hal ini disebabkan oleh aktivasi μ -*opioid receptor* (MOR) pada sistem saraf pusat dan sistem saraf perifer oleh morfin. Selain itu, morfin juga diketahui menyebabkan peningkatan ekspresi transporter AQP3 di kolon sehingga absorpsi air dari lumen usus ke dalam vaskular meningkat. Morfin diduga merangsang sekresi serotonin (5-HT) dari sel enterokromafin. 5-HT yang disekresi berlebihan, dibawa ke dalam sel oleh *Serotonin Reuptake Transporter* (SERT), kemudian dimetabolisme. Metabolit dari serotonin berperan sebagai agonis/ligan bagi reseptor nuklear PPAR γ yang kemudian mengaktifasi PPAR γ . PPAR γ bertranslokasi menuju ke nukleus setelah berikatan dengan ligan. Peningkatan aktivasi dan translokasi PPAR γ yang terjadi dapat merangsang peningkatan ekspresi AQP3.

Untuk mengatasi konstipasi yang disebabkan oleh morfin, dapat diberikan terapi laksatif. MgSO₄ merupakan salah satu golongan laksatif osmotik yang bekerja pada kolon dengan cara meningkatkan tekanan osmotik dalam lumen usus sehingga air keluar dari vaskular ke lumen usus mengakibatkan kadar air feses meningkat dan terjadi defekasi. Selain itu, efek laksatif dari MgSO₄ juga berkaitan dengan peningkatan transporter AQP3 di kolon melalui jalur sinyal PKA/pCREB, menyebabkan peningkatan transpor air ke lumen usus sehingga kadar air feses meningkat. Magnesium (Mg²⁺) juga diketahui dapat menyebabkan aktivasi PPAR γ pada otot tikus yang diinduksi diabetes. Namun hingga saat masih belum terdapat penelitian yang mengamati pengaruh MgSO₄ terhadap aktivasi PPAR γ yang berkaitan dengan mekanisme peningkatan AQP3 yang memperantarai efek laksatif dari MgSO₄.

Penelitian ini merupakan studi lanjutan dari penelitian sebelumnya untuk membuktikan bahwa peningkatan ekspresi AQP3 yang terjadi pada pemberian morfin secara fungsional berdampak pada efek konstipasi yang ditimbulkan, dibuktikan dengan penambahan agen inhibitor AQP3 serta mengamati pengaruh MgSO₄ terhadap ekspresi mRNA PPAR γ yang berkorelasi dengan mekanisme peningkatan ekspresi AQP3 pada kondisi konstipasi yang diinduksi oleh morfin, dikaitkan dengan parameter konstipasi, antara lain jumlah feses, berat feses, dan kadar air feses. Perlakuan diberikan secara akut terhadap 72 ekor mencit jantan sehat galur BALB/c yang dibagi ke dalam empat kelompok besar, yaitu kelompok kontrol negatif yang hanya diberi normal saline, kelompok morfin 10 mg/kg BB, kelompok morfin + CuSO₄ 2 mg/kg BB, dan kelompok morfin + MgSO₄ 200 mg/kg BB. Masing-masing kelompok tersebut dibagi menjadi tiga sub-kelompok berdasarkan waktu pengamatan, yaitu kelompok yang diamati pada jam ke-1, jam ke-2, dan jam ke-3 setelah induksi morfin. Perubahan ekspresi mRNA PPAR γ

diamati dari kolon desenden mencit menggunakan metode *Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa morfin (10 mg/kg BB) mampu menginduksi konstipasi pada model mencit ditandai dengan penurunan parameter jumlah feses ($p < 0,001$), berat feses ($p < 0,0001$), dan kadar air feses ($p < 0,0001$) hingga nilai yang lebih rendah signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Pemberian agen inhibitor AQP3 CuSO_4 2 mg/kg BB ($p < 0,05$) mampu menghambat fungsi AQP3 yang menjadi perantara mekanisme efek konstipasi dari morfin, dilihat dari peningkatan rerata persentase kadar air feses. Namun, CuSO_4 tidak mempengaruhi parameter jumlah feses dan berat feses. Sementara itu, pemberian terapi laksatif MgSO_4 mampu mengatasi kondisi konstipasi yang diinduksi morfin, dengan meningkatkan kadar air feses ($p < 0,05$) dan berat feses ($p < 0,05$) hingga berbeda signifikan dibanding kelompok morfin. Namun, MgSO_4 tidak mempengaruhi parameter jumlah feses. Data ekspresi mRNA PPAR γ menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok.

Berdasarkan uraian tersebut, dapat disimpulkan bahwa penghambatan fungsi AQP3 oleh CuSO_4 terbukti dapat menurunkan efek konstipasi yang disebabkan oleh morfin dengan parameter kadar air feses. Sementara itu, pemberian laksatif osmotik MgSO_4 mampu mengatasi konstipasi yang diinduksi oleh morfin dengan parameter berat feses dan kadar air feses. CuSO_4 dan MgSO_4 menurunkan efek konstipasi dengan mempengaruhi perubahan mekanisme transpor air, namun tidak mempengaruhi perbaikan terhadap frekuensi defekasi atau gerakan peristaltik usus. Selain itu, dapat disimpulkan pula bahwa inhibitor AQP3 CuSO_4 dan laksatif osmotik MgSO_4 tidak mempengaruhi perubahan tingkat ekspresi PPAR γ .

ABSTRACT

Effects of CuSO₄ and MgSO₄ on Constipation Caused by Morphine

Putri Rizqiyah

Morphine often causes Opioid-Induced Constipation (OIC) due to the activation of μ -opioid receptor, and the activation & translocation of PPAR γ which stimulates the AQP3 expression resulting in increased water transport from the intestinal lumen side to the vascular side.

The aim of this study was to confirm that the AQP3 is functionally contributes to the onset of morphine-induced constipation using an AQP3 inhibitor (CuSO₄) treatment, and to analyze the effect of the laxative osmotic (MgSO₄) on PPAR γ expression. Mice were divided into four treatment groups: the negative control group, the morphine group, the morphine + CuSO₄ group, and the morphine + MgSO₄ group. The degree of constipation were evaluated 1h, 2h, and 3h after morphine administration. PPAR γ mRNA expression levels were analyzed using the RT-PCR method.

The results showed that morphine caused constipation in mice by decreasing the fecal pellet number, weight, and water content. The AQP3 inhibitor agent, CuSO₄ was able to inhibit the function of AQP3 in morphine-induced constipation mice by increasing the fecal water content 2h after morphine administration. Meanwhile, the osmotic laxative MgSO₄ was able to improve morphine-induced constipation by increasing the fecal water content and the fecal weight 2h after morphine administration. PCR data of PPAR γ expression level showed no significant difference among all groups.

In conclusion, CuSO₄ and MgSO₄ relieve morphine-induced constipation by influencing the water transport, but do not affect the frequency of defecation. CuSO₄ and MgSO₄ do not affect PPAR γ mRNA expression.

Keywords: Acute constipation, Morphine, AQP3 inhibitor, MgSO₄, PPAR γ

DAFTAR ISI

	Halaman
Lembar Pengesahan	ii
KATA PENGANTAR	v
RINGKASAN	vii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.4 Manfaat Penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Morfin	8
2.1.1 Asal dan struktur kimia.....	8
2.1.2 Farmakokinetik	9
2.1.3 Farmakodinamik	10
2.1.4 Interaksi obat.....	13
2.1.5 Toleransi dan ketergantungan.....	13
2.2 Konstipasi.....	15
2.2.1 Konstipasi secara umum	15
2.2.2 Konstipasi yang disebabkan morfin (<i>opioid-induced constipation</i>).....	17

2.3	Anatomi dan Fisiologi Saluran Cerna	20
2.3.1	Pada manusia	20
2.3.2	Pada mencit.....	27
2.4	Manajemen Terapi Konstipasi yang Disebabkan Opioid.....	30
2.5	Laksatif (Pencahar)	31
2.5.1	<i>Bulk-forming agents</i>	31
2.5.2	Laksatif osmotik	32
2.5.3	Laksatif stimulan.....	34
2.5.4	Pelunak feses.....	35
2.5.5	Lubrikan.....	36
2.5.6	<i>Chloride channel activators</i>	36
2.5.7	Antagonis reseptor opioid / <i>peripherally acting μ-opioid receptor antagonists</i> (PAMORA).....	36
2.5.8	Agonis reseptor serotonin 5-HT ₄	37
	Agonis guanilat siklase	38
2.5.9	Agen agonis kolinergik	38
2.6	Parameter Konstipasi pada Hewan Coba	38
2.6.1	Jumlah dan berat feses	38
2.6.2	Kadar air feses	38
2.7	Mekanisme Transpor Air	39
2.7.1	Transporter aquaporin.....	39
2.7.2	Inhibitor aquaporin-3	41
2.7.3	<i>Peroxisome proliferator-activated receptor</i> (PPAR).....	45
2.8	<i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	47
2.8.1	Pengertian PCR.....	47
2.8.2	<i>Reverse transcription-polymerase chain reaction</i> (RT-PCR)	47
2.8.3	Bahan yang dibutuhkan	48

2.8.4	Tahapan dalam <i>polymerase chain reaction</i> (PCR)	49
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL		
3.1	Uraian Kerangka Konseptual	51
3.2	Skema Kerangka Konseptual	54
3.3	Hipotesis Penelitian.....	55
BAB IV METODE PENELITIAN		
4.1	Rancangan Penelitian	56
4.2	Alat Penelitian.....	56
4.3	Bahan Penelitian.....	57
4.4	Subjek Penelitian.....	57
4.5	Tempat Penelitian.....	58
4.6	Uji Kelayakan Etik.....	58
4.7	Protokol Penelitian	58
4.7.1	Rancangan penelitian	58
4.7.2	Kerangka operasional	59
4.8	Variabel Penelitian	60
4.9	Definisi Penelitian.....	60
4.9.1	Hewan coba.....	60
4.9.2	Injeksi morfin.....	60
4.9.3	Inhibitor AQP3	61
4.9.4	Senyawa laksatif osmotik	61
4.9.5	Pengamatan terhadap konstipasi melalui jumlah feses, berat feses, dan kadar air feses	61
4.9.6	Pengukuran jumlah ekspresi PPAR γ	61
4.10	Prosedur Penelitian.....	62
4.10.1	Penanganan hewan coba	62
4.10.2	Perhitungan dosis morfin	62

4.10.3	Perhitungan dosis inhibitor AQP3 (CuSO ₄)	62
4.10.4	Perhitungan dosis laksatif osmotik (MgSO ₄).....	62
4.10.5	Prosedur kerja	63
4.11	Analisis Data	71
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN		
5.1	Pengukuran Ekspresi mRNA PPAR γ	73
5.2	Pengukuran Persentase Kadar Air Feses.....	77
5.3	Pengukuran Jumlah dan Berat Feses.....	80
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN		
6.1	Kesimpulan	86
6.2	Saran.....	86
DAFTAR PUSTAKA		87
LAMPIRAN.....		92

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
II.1 Subtipe reseptor opioid, fungsi, dan afinitas peptida opioid endogen	11
II.2 Interaksi obat opioid	13
IV.1 Urutan primer dari PPAR γ dan β -actin	64
IV.2 Komponen sintesis cDNA	68
IV.3 Komponen <i>GoScript Reverse Transcription System</i>	69
IV.4 Komponen amplifikasi sampel	69
V.1 Ekspresi relatif mRNA PPAR γ	74
V.2 Gambar penampang band PPAR γ sampel kolon pada PCR	74
V.3 Persentase kadar air feses.	78
V.4 Data jumlah feses	81
V.5 Data berat feses	83

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Struktur umum morfin	8
2.2 Mekanisme toleransi opioid yang melibatkan jalur signaling protein G dan β -arrestin2	15
2.3 Jalur signaling yang diaktivasi oleh agonis reseptor opioid pada sistem saraf enterik (ENS)	19
2.4 Mekanisme konstipasi yang diinduksi morfin melalui AQP3 pada kolon tikus	20
2.5 Sistem pencernaan dan kelenjar eksokrin yang terlibat	21
2.6 Anatomi usus halus	21
2.7 Anatomi usus besar manusia	23
2.8 Penampang sagital dari area anorektal saat istirahat (A) dan selama mengejan (B)	26
2.9 Anatomi sistem pencernaan mencit	27
2.10 Usus besar dari mencit (A) mirip dengan tikus (B)	29
2.11 Persimpangan anorektal hewan pengerat (mencit)	29
2.12 Manajemen terapi konstipasi yang disebabkan oleh opioid	30
2.13 Mekanisme MgSO_4 dalam meningkatkan ekspresi AQP3 intestinal	34
3.1 Skema kerangka konseptual	54
4.1 Kerangka operasional pengukuran jumlah, berat, kadar air feses, dan ekspresi $\text{PPAR}\gamma$ pada jam ke-1, jam ke-2, dan jam ke-3	59
5.1 Ekspresi relatif mRNA $\text{PPAR}\gamma$ pada kolon mencit ($\pm\text{SEM}$) diukur pada jam ke-1 dan jam ke-2 setelah pemberian morfin	75
5.2 Persentase kadar air feses ($\pm\text{SEM}$) diukur pada jam ke-1, jam ke-2, dan jam ke-3 setelah pemberian morfin	79
5.3 Rata-rata jumlah feses ($\pm\text{SEM}$) diukur pada jam ke-1, jam ke-2, dan jam ke-3 setelah pemberian morfin	84
5.4 Rata-rata berat feses ($\pm\text{SEM}$) diukur pada jam ke-1, jam ke-2, dan jam ke-3 setelah pemberian morfin	85

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 Sertifikat Uji Etik	93
2 Data Pengamatan Jumlah Feses	94
3 Perhitungan Statistik Jumlah Feses	97
4 Data Pengukuran Berat Feses	100
5 Perhitungan Statistik Berat Feses	103
6 Data Pengukuran Kadar Air Feses	106
7 Perhitungan Statistik Kadar Air Feses	109
8 Data Hasil Pengukuran Ekspresi Relatif mRNA PPAR γ	112

DAFTAR SINGKATAN

5-HT	: 5-Hidroksitriptamin
βNAD	: beta- <i>Nucotinamide adenin dinucleotide</i>
AC	: <i>Adenylate cyclase</i>
AQP	: Aquaporin
AQP3	: Aquaporin-3
ATP	: <i>Adenosine triphosphate</i>
BAB	: Buang air besar
cAMP	: <i>cyclic adenosine monophosphate</i>
ClC-2	: <i>Chloride channel-2</i>
CMC	: <i>Carboxymethyl cellulose</i>
EC	: <i>Enterochromafin</i>
ENS	: <i>Enteric nervous system</i>
GABA	: <i>Gamma-aminobutyric acid</i>
GLIP	: <i>Glycerol-transporting integral protein</i>
hERG	: <i>human Ether-a-go-go-Related Gene</i>
IBS	: <i>Irritable bowel syndrome</i>
M3G	: Morfin-3-glukoronida
M6G	: Morfin-6-glukoronida
mRNA	: <i>messenger-ribonucleic acid</i>
OIC	: <i>Opioid-Induced Constipation</i>
PAMORA	: <i>Peripherally Acting μ-Opioid Receptor Antagonists</i>
pCREB	: <i>Phosphorylation of cAMP response element-binding</i>
PEG	: Polietilen glikol
PKA	: Protein kinase A
PPARγ	: <i>Peroxisome Proliferator-Activated Receptor gamma</i>
RT-PCR	: <i>Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction</i>
SERT	: <i>Serotonin Reuptake Transporter</i>
SMIT	: <i>Sodium myo-inositol transporter</i>
SSP	: Sistem saraf pusat
TauT	: <i>Taurine transporter</i>
VIP	: <i>Vasoactive intestinal peptide</i>