

BAB I**PENDAHULUAN****1.1 Latar Belakang**

Analgesik opioid merupakan golongan obat yang direkomendasikan oleh WHO untuk terapi nyeri kanker sedang hingga berat (Tokoro, *et al.*, 2019; Kalso, *et al.*, 2004). Selain nyeri kanker, analgesik opioid juga digunakan dalam pengobatan nyeri kronis selain kanker, seperti nyeri muskuloskeletal dan neuropatik (Kalso, *et al.*, 2004). Kondisi nyeri kronis sedang hingga berat sangat memengaruhi kualitas hidup seseorang yang mengalaminya. Secara global, analgesik opioid telah banyak diresepkan dan diperkirakan sebanyak 365 juta kopi resep untuk opioid telah ditulis pada tahun 2005 (Panchal, *et al.*, 2007). Berdasarkan tujuan penggunaannya, analgesik opioid dibagi menjadi golongan opioid untuk nyeri ringan hingga sedang (misalnya kodein) dan golongan opioid untuk nyeri sedang hingga berat (misalnya morfin) (WHO, 1996). Morfin memberikan efek analgesik melalui reseptor μ -opioid (MOR) yang ada di sistem saraf pusat. Meski demikian, reseptor opioid diekspresikan di saraf pusat maupun saraf tepi (Kon, *et al.*, 2015).

Meskipun opioid merupakan pereda nyeri *gold standard* ketika analgesik lain tidak adekuat, opioid memiliki beberapa efek samping yang membatasi manfaat klinisnya sebagai analgesik dan bahkan dapat memperburuk kualitas hidup pasien yang mengonsumsinya (Panchal *et al.*, 2007). Beberapa efek samping yang umum terjadi pada penggunaan opioid antara lain *opioid-induced bowel problems*, mual dan muntah, pruritus, delirium, depresi pernapasan, gangguan motorik dan kognitif, serta sedasi. Di antaranya, efek samping yang paling sering terjadi yaitu gangguan usus (*opioid-induced bowel problems*), yang mana *Opioid-Induced Constipation* (OIC) merupakan gangguan usus yang paling umum terjadi (Gyawali *et al.*, 2015). Konstipasi dapat terjadi bervariasi pada 40%-70% pasien yang menggunakan morfin oral (Cherny *et al.*, 2001).

Konstipasi didefinisikan sebagai suatu kondisi usus yang menyebabkan terbentuknya feses keras dan kering serta pengeluarannya sulit dan tidak teratur. Mekanisme patofisiologis terjadinya konstipasi yang mungkin dapat diuraikan meliputi transit kolonik yang lambat akibat kegagalan gerak peristaltik untuk memindahkan isi luminal melewati usus besar yang menghasilkan lebih banyak waktu untuk penyerapan air dari feses sehingga frekuensi buang air besar dan berat feses berkurang. Mekanisme kedua yaitu terjadinya obstruksi fungsional saluran keluar feses, di mana fungsi yang tidak normal dari rektum dan anus menyebabkan obstruksi sementara dan *dyschezia*. Konstipasi dapat disebabkan akibat permasalahan medis lain atau mungkin idiopatik, dan juga dapat disebabkan karena efek samping dari obat, misalnya opioid (Schiller, 2001).

Konstipasi yang diinduksi morfin kemungkinan besar disebabkan karena terhambatnya pergerakan peristaltik usus. Namun, mekanisme lain masih belum banyak diketahui (Kon *et al.*, 2015). Efek konstipasi yang ditimbulkan oleh obat golongan opioid, termasuk morfin dapat disebabkan karena aktivasi reseptor opioid di saluran cerna oleh opioid eksogen (misalnya morfin) yang menyebabkan motilitas dan sekresi saluran cerna terganggu (Panchal *et al.*, 2007). Aktivasi μ -*opioid receptor* (MOR) pada sistem saraf pusat dan perifer oleh morfin dapat menurunkan pelepasan neurotransmitter asetilkolin yang menyebabkan penurunan pergerakan peristaltik usus, menunda pengosongan lambung, dan menurunkan fluiditas isi usus sehingga terjadi kesulitan dalam defekasi atau disebut juga dengan konstipasi (Galligan & Akbarali, 2014; Kumar *et al.*, 2014; Liang *et al.*, 2016). Pemberian morfin 1 mg/kg berat badan atau 3 mg/kg berat badan secara subkutan pada tikus dua kali sehari selama tiga hari diketahui dapat menurunkan jumlah feses yang dikeluarkan (Niwa *et al.*, 2002). Pemberian morfin dengan dosis 10 mg/kg BB dan 20 mg/kg BB tidak lebih menyebabkan konstipasi dibandingkan dengan dosis 5 mg/kg BB secara oral pada tikus (Jurna *et al.*, 1992). Dosis morfin yang dibutuhkan untuk memberikan efek analgesiknya jauh lebih tinggi dibandingkan untuk menimbulkan efek sampingnya pada saluran gastrointestinal, yaitu sekitar lima puluh kali lebih tinggi pada manusia dan sekitar empat kali pada hewan coba (Matsumoto *et al.*, 2016). Oleh karena itu, hampir setiap pasien yang menggunakan morfin akan mengalami konstipasi (Kon *et al.*, 2015).

Studi terkini yang banyak dilakukan terhadap mekanisme konstipasi yang diinduksi oleh morfin hanya berfokus pada penghambatan gerak peristaltik usus. Peningkatan absorpsi air pada saluran intestinal belum ditetapkan secara ilmiah sebagai faktor penyebab konstipasi. Berdasarkan sebuah penelitian, morfin diketahui juga dapat menyebabkan konstipasi melalui peningkatan ekspresi Aquaporin-3 (AQP3) pada kolon (Kon *et al.*, 2015). Aquaporin (AQP) merupakan suatu famili protein membran intrinsik yang berfungsi sebagai saluran selektif air pada membran plasma sel pengangkut air. Saat ini terdapat tiga belas tipe AQP yang telah diketahui, yaitu AQP0 hingga AQP12 yang diekspresikan di berbagai jaringan tubuh manusia. Tipe AQP utama yang diekspresikan dalam sel epitel mukosa kolon adalah AQP3, AQP4, dan AQP8. Di antaranya, AQP3 adalah yang paling dominan diekspresikan di kolon dan dipercaya berperan penting dalam proses transpor air pada kolon dan regulasi kadar air feses (Ikarashi *et al.*, 2012; Kon *et al.*, 2015). Pada penelitian yang dilakukan oleh Kon *et al.* (2015) terkait peran AQP3 di kolon selama terjadi konstipasi yang diinduksi oleh morfin, ditemukan bahwa terjadi peningkatan ekspresi AQP3 pada kolon tikus seiring dengan menurunnya kadar air feses. Ketika tingkat ekspresi AQP3 meningkat, maka akan semakin banyak air yang diabsorpsi dari lumen usus.

Selain itu, ditemukan pula bahwa morfin merangsang aktivasi *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor gamma* (PPAR γ) yang dapat memicu peningkatan ekspresi AQP3 sehingga pada akhirnya mengakibatkan konstipasi. Morfin diduga dapat merangsang sekresi serotonin (5-hidroksitriptamin/5-HT) dari sel enterokromafin (EC cell). Serotonin (5-HT) yang disekresi berlebihan dibawa ke dalam sel oleh *Serotonin Reuptake Transporter* (SERT), kemudian dimetabolisme menjadi ligan bagi reseptor nuklear PPAR γ yang menyebabkan aktivasi PPAR γ . Setelah berikatan dengan ligan, PPAR γ bertranslokasi menuju ke nukleus. Pengaktifan dan translokasi PPAR γ yang terjadi dapat menstimulasi peningkatan ekspresi AQP3 (Kon *et al.*, 2015). PPAR merupakan sekelompok protein reseptor hormon nuklir yang diaktifkan oleh suatu ligan tertentu, yang berperan sebagai faktor transkripsi gen target. Reseptor PPAR terdiri dari tiga subtipe, antara lain PPAR α , PPAR γ , dan PPAR β/δ (Tyagi *et al.*, 2011). Di antara ketiga subtipe tersebut, PPAR γ adalah yang paling berpengaruh dalam menstimulasi ekspresi AQP3 (Jiang *et*

al., 2011). Serotonin (5-HT) merupakan suatu molekul sinyal ekstraseluler yang mengaktifkan reseptor spesifiknya pada membran plasma. 5-HT terdapat di saluran cerna dalam jumlah tinggi. Metabolit dari serotonin berperan sebagai salah satu agonis endogen/ligan yang bekerja pada PPAR γ dan mengaktivasi PPAR γ (Waku *et al.*, 2010).

Pada penelitian sebelumnya, telah ditemukan bahwa pada mencit konstipasi yang diinduksi oleh morfin terjadi peningkatan ekspresi AQP3 (Chasanah, 2020; Krismonika, 2020). Namun, perubahan tingkat ekspresi AQP3 tidak selalu bersifat fungsional. Perubahan tingkat ekspresi AQP3 ternyata tidak selalu berkorelasi dengan efek yang ditimbulkan dan dapat menghasilkan efek yang berbeda. Hal ini ditunjukkan pada beberapa hasil penelitian yang berbeda terkait efek agen yang menyebabkan konstipasi atau diare terhadap perubahan tingkat AQP3. Misalnya, morfin meningkatkan ekspresi AQP3 yang terkait dengan peningkatan absorpsi air dari lumen usus ke vaskular sehingga terjadi konstipasi (Kon *et al.*, 2015). Sedangkan, pada mencit yang diinduksi konstipasi oleh loperamid terjadi penurunan tingkat ekspresi AQP3 hingga setengah dari kelompok kontrol (Yin *et al.*, 2018). Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Ikarashi *et al.* (2011), laksatif stimulan bisakodil memberikan efek laksatif dengan menurunkan tingkat ekspresi AQP3 yang berkaitan dengan pengurangan transfer air dari sisi lumen usus ke vaskular sehingga terjadi retensi air pada saluran intestinal dan diare. Sedangkan laksatif naringenin (Yin *et al.*, 2018) dan laksatif osmotik magnesium sulfat (MgSO₄) (Ikarashi, Mochiduki, *et al.*, 2011; Ikarashi, Ushiki, *et al.*, 2011) diketahui menyebabkan peningkatan ekspresi AQP3 dalam meredakan gejala konstipasi. Oleh karena itu, untuk menunjukkan bahwa peningkatan ekspresi AQP3 secara fungsional memediasi efek konstipasi yang ditimbulkan akibat pemberian morfin, maka perlu dibuktikan dengan penambahan suatu agen inhibitor AQP3. Pemberian inhibitor AQP3 bertujuan untuk membuktikan bahwa penghambatan AQP3 secara fungsional mampu menghambat efek konstipasi yang ditimbulkan oleh morfin.

Senyawa yang telah diketahui memiliki efek sebagai inhibitor AQP3 pada mamalia dapat berupa molekul kecil, ion logam berat, dan antibodi monoklonal. Phloretin, senyawa DFP00173, dan senyawa Z433927330 merupakan beberapa contoh molekul kecil yang diketahui dapat menghambat

fungsi AQP3 (Abir-Awan, 2019). Namun, penelitian terhadap molekul-molekul tersebut masih sampai pada tahap pengujian secara *in vitro* dan belum terdapat penelitian terkait perannya terhadap penghambatan AQP3 pada saluran gastrointestinal, khususnya pada kolon. Sedangkan, senyawa logam berat yang telah diketahui dapat menghambat AQP3 antara lain merkuri klorida, ion tembaga (misalnya tembaga sulfat), nikel klorida, dan senyawa *gold* (AuPhen dan senyawa kompleks Au(III) lainnya, seperti Auterpy).

Di antara beberapa contoh agen inhibitor AQP3 tersebut, HgCl_2 telah lama dikenal memiliki aktivitas sebagai inhibitor yang efektif terhadap beberapa AQP (termasuk AQP3). Namun, di samping itu merkuri dan senyawanya juga diketahui toksik karena bersifat non-spesifik sehingga dapat menimbulkan efek lain di luar target (Abir-Awan *et al.*, 2019). Sementara itu, tembaga (CuSO_4) merupakan inhibitor reversibel yang poten terhadap transpor air dan gliserol dari aquagliseroporin AQP3 (Zelenina *et al.*, 2004). CuSO_4 diketahui memiliki efek yang lebih poten daripada NiCl_2 terhadap penghambatan transportasi air dan gliserol oleh AQP3 (Fang *et al.*, 2017). Upaya untuk mengurangi toksisitas senyawa tembaga dapat diatasi dengan menggunakan sistem nanopartikel (Abir-Awan, 2019). Senyawa HgCl_2 dan CuSO_4 telah diketahui dapat menghambat fungsi AQP3 pada kolon, yaitu menghambat transpor air dari sisi lumen kolon ke sisi vaskular yang menyebabkan diare, ditunjukkan dengan adanya peningkatan kadar air feses, namun tidak menyebabkan perubahan tingkat ekspresi AQP3 (Ikarashi *et al.*, 2012).

Pada penelitian sebelumnya juga telah ditemukan bahwa pemberian beberapa laksatif, seperti laksatif stimulan bisakodil dapat menurunkan absorpsi air dari lumen usus ke vaskular dengan cara menurunkan ekspresi AQP3 di kolon (Chasanah, 2020). Sementara itu, penelitian yang dilakukan oleh Syafira (2019) menunjukkan bahwa tingkat ekspresi mRNA PPAR γ dari kelompok hewan yang hanya diinduksi konstipasi dengan morfin lebih tinggi signifikan secara statistik dibandingkan dengan kelompok hewan konstipasi yang diberi terapi laksatif osmotik laktulosa. Rendahnya tingkat ekspresi PPAR γ menandakan kemungkinan bahwa tidak terjadi peningkatan dari ekspresi AQP3 oleh laktulosa. Hasil dari kedua penelitian tersebut bertentangan dengan salah satu pernyataan dari Ikarashi, Ushiki, *et al.*, (2011)

bahwa laksatif osmotik magnesium sulfat (MgSO_4) menyebabkan peningkatan ekspresi AQP3 pada tikus normal. Mekanisme utama terjadinya efek laksatif dari MgSO_4 yaitu melalui peningkatan tekanan osmotik dalam lumen kolon. Secara fisiologis, air berpindah dari lumen usus ke vaskular karena tekanan osmotik di lumen kolon lebih rendah daripada di pembuluh darah. Oleh karena tekanan osmotik di lumen kolon meningkat akibat pemberian MgSO_4 , maka air bergerak keluar dari vaskular menuju ke lumen kolon mengakibatkan kadar air feses meningkat. Mekanisme lain yang telah diusulkan oleh Ikarashi, Mochiduki, *et al.*, (2011) yaitu MgSO_4 diketahui meningkatkan ekspresi AQP3 melalui jalur sinyal PKA/pCREB, menyebabkan semakin banyak air yang berpindah dari vaskular ke lumen kolon sehingga kadar air feses meningkat dan terjadi diare. Magnesium (Mg^{2+}) juga diketahui dapat menyebabkan aktivasi dan meningkatkan ekspresi PPAR γ dalam otot pada kasus hiperglikemia (Khosravi *et al.*, 2018). Namun hingga saat ini masih belum terdapat penelitian yang mengamati pengaruh MgSO_4 terhadap PPAR γ yang berkontribusi dalam mekanisme peningkatan AQP3 yang menyebabkan efek laksatif dari MgSO_4 .

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka dilakukan studi penelitian yang 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. Di samping itu, studi penelitian ini juga dilakukan untuk mengetahui mekanisme transpor air dari laksatif MgSO_4 yang diamati melalui pengaruhnya terhadap ekspresi PPAR γ . Efek dari inhibitor AQP3 dan efektivitas terapi laksatif osmotik MgSO_4 pada konstipasi yang diinduksi morfin diukur melalui parameter jumlah feses, berat feses, dan kadar air feses. Kemudian dilakukan pengukuran tingkat ekspresi PPAR γ untuk menghubungkan antara perubahan fisiologis yang tampak dengan reaksi biomolekular yang terjadi.

Penelitian ini diharapkan akan bermanfaat dalam memberikan pengetahuan baru terkait mekanisme konstipasi yang disebabkan oleh morfin dan dapat membantu dalam pengembangan obat laksatif yang sesuai dengan mekanisme konstipasi yang disebabkan morfin.

1.2 Rumusan Masalah

- (1) Bagaimana efek inhibitor AQP3 (CuSO_4) dan laksatif osmotik (MgSO_4) pada mencit konstipasi yang diinduksi oleh morfin dengan parameter jumlah feses, berat feses, dan kadar air feses?
- (2) Bagaimana pengaruh inhibitor AQP3 (CuSO_4) dan laksatif osmotik (MgSO_4) terhadap tingkat ekspresi mRNA PPAR γ pada kolon mencit konstipasi yang diinduksi oleh morfin?

1.3 Tujuan Penelitian

- (1) Menganalisis parameter jumlah feses, berat feses, dan kadar air feses yang terjadi akibat pemberian inhibitor AQP3 (CuSO_4) dan laksatif osmotik (MgSO_4) pada mencit konstipasi yang diinduksi oleh morfin.
- (2) Menganalisis pengaruh pemberian inhibitor AQP3 (CuSO_4) dan laksatif osmotik (MgSO_4) terhadap mekanisme transpor air yang dinilai dengan tingkat ekspresi mRNA PPAR γ pada mencit konstipasi yang diinduksi oleh morfin.

1.4 Manfaat Penelitian

Diperoleh pengetahuan baru mengenai mekanisme efek samping konstipasi yang disebabkan morfin dan mekanisme dari laksatif osmotik MgSO_4 , sehingga hal ini dapat menjadi dasar dalam pengembangan terapi untuk mengatasi konstipasi oleh obat golongan opioid, khususnya morfin.