

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Merokok dapat menyebabkan masalah kesehatan hingga kematian. Pada tahun 2016, merokok menyebabkan lebih dari 7,1 juta kematian di seluruh dunia (5,1 juta pada pria dan 2,0 juta pada wanita). Kematian sebagian besar terjadi pada perokok yaitu 6,3 juta kematian dan juga pada perokok pasif sebesar 884.000 kematian (Drope *et al.*, 2018). Selain itu, merokok berada pada urutan kedua risiko utama penyebab tingginya kematian dini dan tahun hidup dengan kondisi disabilitas pada tahun 2017 (Stanaway *et al.*, 2017). Indonesia menduduki peringkat pertama sebagai jumlah perokok dewasa tertinggi di ASEAN dengan presentase 53,40% dari total perokok dewasa di ASEAN (Lian dan Dorotheo, 2018). Prevalensi merokok penduduk Indonesia pada populasi usia 10-18 tahun pada tahun 2013 sebesar 7,2% (Riskesdas, 2013), pada tahun 2016 sebesar 8,8% (Sirkesnas, 2016), dan pada tahun 2018 mencapai 9,1% (Riskesdas, 2018). Prevalensi perokok laki-laki dewasa (lebih dari 15 tahun) meningkat dari 66% pada tahun 2013 menjadi 68,1% pada tahun 2016 (Zheng *et al.*, 2018).

Asap tembakau dapat meningkatkan risiko terjadinya kanker, emfisema, gangguan bronkial, dan penyakit kardiovaskular (National Institute on Drug Abuse, 2014). Seiring dengan dampaknya terhadap kesehatan, merokok juga berdampak pada peningkatan beban masalah ekonomi di Indonesia. Merokok dapat menyebabkan risiko kehilangan pendapatan, mengurangi produktivitas tenaga kerja, dan kemiskinan akibat pengobatan terkait penyakit yang ditimbulkan oleh rokok (Zheng *et al.*, 2018). Konsekuensi negatif dari perilaku adiksi dapat mencakup gangguan kinerja sehari-hari (pekerjaan, kegiatan sosial, atau hobi), gangguan

hubungan sosial, gangguan fisik, kehilangan keuangan, atau trauma emosional (Sussman *et al.*, 2011).

Drug addiction merupakan kelainan kronis yang ditandai dengan keinginan kuat mengonsumsi obat, kehilangan kontrol akibat pembatasan penggunaan zat, serta keadaan emosi negatif seperti rasa tertekan, cemas, dan *irritability* ketika penggunaan obat dicegah (Koob *et al.*, 2014). Banyak senyawa yang dapat menyebabkan adiksi, salah satunya yaitu nikotin. Nikotin merupakan stimulan adiktif yang ditemukan dalam rokok maupun bentuk tembakau lainnya (National Institute on Drug Abuse, 2014). Nikotin menjadi komponen psikoaktif dari tembakau yang mempertahankan penggunaan yang terus menerus dan bertanggung jawab atas perilaku dan neurokimia serta menyebabkan peningkatan efek dan menginduksi ketergantungan (Kohut, 2017).

Nikotin merupakan zat kimia adiktif utama dalam asap tembakau yang berperan terhadap penggunaan tembakau secara terus-menerus dan kompulsif. Melalui asap rokok, nikotin memasuki sirkulasi otak dan berikatan dengan *nicotinic acetylcholine receptors* (nAChR). Dua subunit nAChR yang paling umum diekspresikan di otak adalah $\alpha 4\beta 2$ atau $\alpha 7$ nAChR (Herman *et al.*, 2014). Aktivasi subunit $\alpha 2\beta 4$ dan subunit $\alpha 7$ nAChR secara langsung atau tidak langsung merangsang pelepasan dopamin di *nucleus accumbens* (NAcc) (Hamada *et al.*, 2004; Koob, 2014). Peningkatan pelepasan dopamin oleh nikotin di NAcc dapat menghasilkan efek *reward* yang dianggap sebagai mekanisme penting untuk mengawali dan mempertahankan *nicotine addiction* (Herman *et al.*, 2014).

Nikotin meningkatkan pelepasan dopamin di NAcc melalui aksi langsung pada neuron dopamin dan aktivasi neuron glutamat (D'Souza dan Markou, 2013; Koob, 2014). Aktivasi langsung subunit $\alpha 2\beta 4$ nAChR dapat merangsang pelepasan dopamin dari neuron dopamin (Hamada *et al.*, 2004). Nikotin memodulasi pelepasan dopamin secara tidak langsung dengan

mengikat nAChR yang terletak pada neuron glutamat (D'Souza and Markou, 2011). Nikotin yang berikatan dengan $\alpha 7$ -nAChR pada neuron glutamat di VTA menyebabkan peningkatan pelepasan glutamat di VTA (D'Souza dan Markou, 2013; Koob, 2014). Glutamat berikatan dengan reseptor *N-methyl-D-aspartate* (NMDA) dan reseptor *amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate* (AMPA) yang berada pada neuron dopamin di VTA (D'Souza dan Markou, 2011, 2013). Hal tersebut dapat meningkatkan pelepasan dopamin di VTA.

Dopamin dapat berikatan pada reseptor dopamin yang merupakan *G protein-coupled receptors* (GPCRs) (Beaulieu dan Gainetdinov, 2011). Aktivasi reseptor dopamin heteromer D1-D2 yang berpasangan dengan $G\alpha_q$ menghasilkan pelepasan kalsium intraseluler yang bergantung pada phospholipase C (PLC) (Perreault *et al.*, 2014). Aktivasi PLC dapat memproduksi inositol trisfosfat (IP3) yang berasal dari *phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate* (PIP2) (Beaulieu dan Gainetdinov, 2011; Hohendanner *et al.*, 2014). IP3 akan berikatan dengan *inositol 1,4,5-trisphosphate receptor* (IP3R) yang terdapat pada membran dalam dan luar dari *nuclear envelope* (NE) dan retikulum sarkoplasma (SR) yang merupakan tempat penyimpanan Ca^{2+} intraseluler (Hohendanner *et al.*, 2014). Hal tersebut menyebabkan pelepasan Ca^{2+} dan meningkatkan Ca^{2+} intraseluler (Beaulieu dan Gainetdinov, 2011). Peningkatan Ca^{2+} dapat mengaktifkan *calmodulin-dependent protein kinase* (CaMK) dan menstimulasi fosforilasi protein *cAMP-response element binding* (CREB) pada serin 133 di nukleus. Fosforilasi CREB juga dapat disebabkan oleh aktivasi reseptor dopamin D1 yang berpasangan dengan $G\alpha_{s/olf}$, sehingga menstimulasi produksi *cyclic-adenosine monophosphate* (cAMP) oleh *adenylyl cyclase* (Beaulieu dan Gainetdinov, 2011). Peningkatan cAMP akan mengaktifkan protein kinase A (PKA), sehingga dapat menyebabkan fosforilasi CREB. Fosforilasi CREB dapat menstimulasi transkripsi *corticotropin-releasing*

factor (CRF) (Aguilera dan Liu, 2012). Pemberian nikotin kronik meningkatkan pelepasan CRF di VTA (Grieder *et al.*, 2015). CRF merupakan molekul yang menjadi pusat untuk respon stres dan komponen utama dalam *hypothalamic-pituitary-adrenal* (HPA) axis (Keck, 2006; Logrip *et al.*, 2011). Keberadaan neuron CRF di VTA yaitu mengalami kolokalisasi dengan neuron dopamin (Grieder *et al.*, 2015).

Aktivasi reseptor dopamin D1 selain menstimulasi transkripsi CRF juga dapat menstimulasi transkripsi *pro-opiomelanocortin* (POMC). Aktivasi reseptor dopamin D1 yang berpasangan dengan $G\alpha_{s/olf}$ dapat menstimulasi produksi cAMP oleh *adenylyl cyclase* (Beaulieu dan Gainetdinov, 2011). Peningkatan cAMP akan mengaktifkan PKA, sehingga dapat menyebabkan fosforilasi CREB (Aguilera dan Liu, 2012). CREB yang terfosforilasi akan menstimulasi transkripsi c-fos (West *et al.*, 2002). C-fos merupakan *immediate early gene* (IEG) yang dapat menstimulasi transkripsi POMC (Boutillier *et al.*, 1991; Refojo dan Holsboer, 2009). POMC merupakan pro-hormon yang dapat menjadi beberapa peptida dan hormon yang aktif, seperti *adrenocorticotropic hormone* (ACTH), α -, β - dan γ -*melanocyte stimulating hormone* (MSH) dan β -*endorphin* (Cone, 2006; Toda *et al.*, 2017). Pemberian nikotin dapat meningkatkan ekspresi mRNA POMC di hipotalamus (Tapinc *et al.*, 2017).

Asap rokok mengandung lebih dari 4000 senyawa kimia yang berpotensi menimbulkan adiksi pada tembakau (Koob, *et al.*, 2014). Asap rokok mengandung nikotin sekitar 95-97% dari total alkaloid dan beberapa alkaloid minor seperti *cotinine*, *anabasine*, *nornicotine*, *tabagisine*, *moysmine* yang menunjukkan struktur dan efek farmakologi hampir serupa dengan nikotin serta diperkirakan juga berpotensi memicu terjadinya adiksi (Khalki *et al.*, 2012; Costello *et al.*, 2014). Rokok memiliki potensi *addiction* yang kuat dan tidak dapat disamakan dengan menggunakan nikotin saja. Oleh karena itu, dikembangkan *cigarette smoke extract* (CSE) untuk

mengukur adiksi pada rokok. CSE merupakan larutan yang mengandung semua *aqueous constituents (directly inhaled)* pada asap rokok (Gellner *et al.*, 2017). Asap tembakau menghasilkan suatu neuroadaptasi yang tidak terjadi pada pemberian nikotin yaitu penghambatan *monoamine oxidase* (MAO). MAO merupakan enzim yang dapat memetabolisme dopamin. CSE mempunyai aktivitas penghambatan MAO yang kuat. Salah satu kandungan pada asap tembakau yaitu alkaloid *β -carboline*, harman dan norharman. Harman menghambat MAO-A dan norharman menghambat MAO-B. Sedangkan nikotin yang diberikan secara sistemik tidak menghambat aktivitas MAO (Brennan *et al.*, 2014). Oleh karena itu, CSE memiliki efek *addiction* yang lebih kuat daripada nikotin.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian nikotin dan CSE terhadap ekspresi CRF dan POMC pada otak mencit dalam kondisi *reward* secara molekuler dengan metode PCR. Area otak yang digunakan yaitu *midbrain* yang didalamnya meliputi VTA dan *ventral striatum* yang didalamnya meliputi NAcc. Pada otak bagian VTA dan NAcc berperan dalam jalur mesolimbik. Jalur mesolimbik mempunyai peran utama dalam *reward*. Jalur ini berasal dari VTA yang merupakan bagian otak kaya neuron dopamin dan terletak di *midbrain*. Akson neuron dopamin dari VTA diproyeksikan menuju NAcc di *ventral striatum* (Gardner dan Ashby, 2000). Dosis nikotin dan CSE yang digunakan sebesar 0,5 mg/kg BB. Pada dosis tersebut menunjukkan efek *reward* oleh induksi nikotin (Kota *et al.*, 2007; Rogers *et al.*, 2008). Evaluasi efek *reward* pada obat diamati dengan menggunakan metode *conditioned place preference* (CPP). Metode ini terdiri dari tiga tahap yaitu, *pre-conditioning*, *conditioning*, dan *post-conditioning* (Bardo *et al.*, 2015). Hewan coba yang digunakan adalah mencit jantan galur Balb/c dalam kondisi normal dan sehat.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh pemberian nikotin dan *Cigarette Smoke Extract* (CSE) terhadap ekspresi mRNA CRF dan POMC pada otak mencit dalam kondisi *reward*?

1.3 Tujuan Penelitian

Mengkaji pengaruh pemberian nikotin dan *Cigarette Smoke Extract* (CSE) terhadap ekspresi mRNA CRF dan POMC pada otak mencit dalam kondisi *reward* dengan metode PCR.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran mengenai pengaruh pemberian nikotin dan *Cigarette Smoke Extract* (CSE) terhadap ekspresi mRNA CRF dan POMC pada otak mencit dalam kondisi *reward*.