

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia sebagai negara *low middle income* dengan jumlah perokok yang tinggi. Pada tahun 2016 jumlah konsumsi rokok oleh penduduk dewasa per kapita di Indonesia adalah 1796 batang rokok, sedangkan jumlah perokok pria dewasa mengalami kenaikan 2% dari 2015 (Zheng *et al.*, 2018). Hal ini juga menyebabkan Indonesia sebagai negara peringkat pertama dengan jumlah perokok pria terbanyak di Asia Tenggara (Lian dan Dorotheo, 2014). Semakin tinggi jumlah perokok di Indonesia maka berdampak pada makin tingginya beban penyakit akibat rokok dan bertambahnya angka kematian akibat rokok.

Adapun senyawa-senyawa kimia berbahaya dari rokok, seperti tar, karbon monoksida, dan nikotin. Nikotin merupakan senyawa alkaloid alami dari tembakau yang memiliki efek adiksi pada perokok sehingga perokok susah untuk berhenti karena efek ketergantungan yang diberikan (Geiss *et al.*, 2007). Suatu studi menemukan bahwa sebagian besar perokok melaporkan merokok memberikan efek menyenangkan (81%), membantu berkonsentrasi (63%), membuat tenang ketika stres atau kesal (90%), dan membantu menghadapi situasi sulit (82%) (Koob *et al.*, 2014). Hanya 9,5% dari jumlah perokok di Indonesia yang dapat berhenti dari kebiasaan merokok (WHO, 2018).

Sebelum individu mengalami adiksi nikotin terdapat tahapan perilaku merokok, yaitu (1) Tahap *Preparatory*, yakni seseorang mendapatkan gambaran yang menyenangkan mengenai merokok dengan cara mendengar, melihat, atau dari hasil bacaan. Hal ini menimbulkan minat untuk merokok. (2) Tahap *Initiation*/ tahap perintisan, yakni tahapan menimbang apakah seseorang akan meneruskan ataukah tidak terhadap

perilaku merokok. (3) Tahap *becoming a smoker*, yakni apabila seseorang telah mengkonsumsi rokok sebanyak empat batang per hari maka mempunyai kecenderungan menjadi perokok dan (4) Tahap *maintenance of smoking*, pada tahap ini merokok sudah menjadi salah satu bagian dari cara pengaturan diri (*self-regulating*) (Nasution, 2007).

Adiksi nikotin terjadi karena paparan nikotin secara berulang sehingga meningkatkan pelepasan neurotransmitter dopamin di *nucleus accumbens* (NAcc). Pelepasan dopamin pada jalur tersebut berperan terhadap tingkah laku dan menyebabkan efek ketergantungan karena efek *reward* yang didapatkan sehingga memicu untuk terus mengkonsumsi rokok. Proses terjadinya adiksi terjadi dalam tiga tahapan diantaranya yaitu *binge/intoksikasi*, nikotin akan berikatan dengan reseptor asetilkolin nikotinik (nAChRs) sehingga akan memengaruhi sistem *dopamine mesocorticolimbic* yang diproyeksikan dari *ventral tegmental area* (VTA) ke *nucleus accumbens* (NAcc) dan *prefrontal cortex* yang menjadi jalur utama terjadinya efek *reward* (Koob *et al.*, 2014).

Penghentian nikotin secara mendadak pada pecandu rokok menimbulkan perkembangan adiksi yang disebut dengan tahapan *withdrawal*. Pada kondisi *withdrawal* akan terjadi penurunan stimulasi pada nAChRs sehingga mampu menurunkan *brain reward* dan akan memunculkan emosi negatif. Penggunaan nikotin secara kronis akan menurunkan aktivitas neuron dopaminergik (desensitisasi nAChRs), menurunkan *firing rate* pada VTA, menurunkan pelepasan serotonin pada NAcc, dan meningkatkan *corticotropin-releasing factor* (CRF) (Koob *et al.*, 2014). Tahapan adiksi yang terjadi setelah keadaan *withdrawal* adalah tahap *preoccupation/antisipasi* dimana tahap ini melibatkan saraf pada *prefrontal cortex*. Tahap ini terjadi karena penghentian penggunaan nikotin secara berkepanjangan dan menimbulkan keinginan untuk

menggunakan kembali sehingga timbul dorongan kompulsif (*craving*) dan memicu terjadinya kekambuhan (*relapsing*) (Koob dan Volkow, 2010).

Penggunaan nikotin secara berkelanjutan pada pecandu rokok tembakau yang pada akhirnya menyebabkan masalah kesehatan lainnya seperti penyakit jantung, penyakit paru-paru, dan kanker, serta meningkatnya kerentanan terkena penyakit menular lainnya. Berhenti merokok pada usia berapapun akan mengurangi faktor risiko penyakit tersebut. Namun, diperkirakan sekitar 80% dari perokok yang berhenti merokok mengaku mengalami *relapse* dan mampu bertahan tidak merokok hanya selama satu bulan, sedangkan 3% yang lainnya dapat bertahan selama enam bulan (Benowitz, 2009). Persentase kejadian *relapse* dapat menunjukkan tingginya tingkat kecanduan rokok. Sebagian besar penelitian adiksi nikotin pada hewan coba digunakan nikotin karena merupakan zat yang paling banyak terkandung dalam tembakau. Namun, diketahui bahwa nikotin merupakan *reinforcer* yang kurang sebanding dengan potensi adiksi dari rokok (Manzardo *et al.*, 2002; Mello dan Newman, 2011). Terdapat sekitar >7000 zat kimia yang terkandung dalam asap rokok yang berkontribusi dalam terjadinya adiksi (U.S. Department of Health and Human Services, 2010). Pada hewan coba mencit, untuk memperoleh efek potensi adiksi dari asap rokok dapat menggunakan metode *cigarette smoke extract* (CSE) (Harris *et al.*, 2010; Small *et al.*, 2010; Brennan *et al.*, 2013; Costello *et al.*, 2014). CSE merupakan metode yang digunakan untuk melarutkan semua kandungan senyawa pada asap rokok termasuk senyawa alkaloid minor (Gellner *et al.*, 2016).

Telah diketahui bahwa produksi ROS dalam neuron NAcc tikus telah terbukti berkontribusi terhadap *drug addiction*. Peningkatan ROS setelah paparan akut dan kronis dikenal sebagai mediator toksik yang menghasilkan kerusakan fungsional dan struktural pada sistem dopaminergik (Jang *et al.*, 2015). Dalam penelitian sebelumnya,

konsentrasi nikotin 1 μM menginduksi peningkatan ROS dalam jumlah yang signifikan dalam *mesencephalic cell* tikus. Studi dari laboratorium pada otak tikus juga menyatakan bahwa paparan asap rokok jangka panjang menginduksi ROS di berbagai wilayah otak (Barr *et al.*, 2007). Selain nikotin, senyawa dalam rokok seperti tar rokok mengandung konsentrasi radikal bebas yang sangat tinggi (sekitar 10^{17} spin g^{-1}) dengan masa hidup yang sangat lama (Pryor, 1993).

Dalam penelitian adiksi kokain, konsep baru telah ditemukan bahwa peningkatan ROS pada konsentrasi rendah dalam sistem *reward* dapat dikorelasikan dengan respons psikomotorik kokain. Pada kasus adiksi kokain, pemberian kokain akut atau kronis akan meningkatkan ROS di daerah NAcc, PFC, dan striatum. Bukti ini mendukung peran penting untuk ROS, terutama radikal superoksida, dalam efek *cocaine reinforcement*. Radikal superoksida dapat diproduksi dari neuron intraseluler sebagai respons terhadap peningkatan dopamin atau metabolisme kokain dan metabolit oksidatifnya. Di antara organel intraseluler, mitokondria adalah sumber utama ROS intraseluler, terutama radikal superoksida yang dihasilkan oleh gangguan rantai pernapasan (Pomierny-Chamiolo *et al.* 2013). Sama halnya dengan kokain, nikotin dan rokok akan menginduksi pembentukan ROS di berbagai wilayah otak, utamanya di bagian NAcc yang berperan dalam *drug addiction*. Peningkatan ROS setelah paparan nikotin dan rokok mungkin terlibat dalam *reward signaling* di jalur dopaminergic mesolimbik yang terkait dengan efek *nicotine reinforcement*.

Sebagai respon adanya senyawa ROS, sel akan meningkatkan pertahanan antioksidannya melalui aktivasi *nuclear factor erythroid 2-related factor* (Nrf2). Nrf2 akan bertranslokasi ke nukleus dan berikatan dengan *antioksidan response elements* (ARE) pada gen target untuk mengaktifkan pertahanan antioksidan melalui peningkatan ekspresi dari berbagai antioksidan endogen seperti SOD, glutathion, dan katalase (Maes *et*

al., 2012; Baird & Dinkova-Kostova, 2011; Singh *et al.*, 2010). Stres oksidatif dapat dikendalikan jika kadar antioksidan didalam tubuh seimbang dengan level ROS maupun radikal bebas lain.

Kuersetin merupakan flavonoid alami yang dikenal sebagai antioksidan kuat dalam mengurangi jumlah ROS dan ditemukan dalam jumlah tinggi dalam buah dan sayuran (Webb *et al.*, 2003). Saat ini, senyawa alami seperti kuersetin telah dikenal sebagai agen penting untuk mencegah dan menyembuhkan kanker karena kinerjanya yang dapat diprediksi, potensi terapeutik yang tinggi dan toksisitasnya yang rendah. Kuersetin memainkan peran penting sebagai agen anti-proliferatif dan antikanker dan juga merangsang apoptosis (Srivastava *et al.*, 2016). Kuersetin telah terbukti menekan proliferasi kanker seperti kanker lambung (Yoshida *et al.*, 1990), kanker payudara (Choi *et al.*, 1990), kanker kolorektal (Richter *et al.*, 1999), kanker mulut (ElAttar dan Virji, 1999), kanker hati (Wang *et al.*, 2012), kanker prostat (Nair *et al.*, 2004), dan kanker paru-paru (Zheng *et al.*, 2012). Kuersetin juga memiliki kemampuan dalam menambah mekanisme pertahanan antioksidan dalam tubuh dengan dosis 50 mg/kg BB yang diberikan melalui rute parenteral (Ogundajo *et al.*, 2014).

Kuersetin lebih potensial dibandingkan dengan antioksidan lainnya, seperti vitamin C, vitamin E, dan β -karoten termasuk besi (Dong *et al.*, 2014). Kuersetin memiliki nilai log P yaitu 1.82 yang menunjukkan bahwa kuersetin memiliki sifat lipofilisitas yang tinggi (Rothwell *et al.*, 2005). Obat akan berpenetrasi melalui sawar darah otak ketika nilai-nilai LogP berada dalam kisaran 1,5-2,7, sedangkan nilai logP yang maksimal untuk menembus BBB adalah 2,1 (Hansch dan Leo, 1979). Kuersetin telah dilaporkan dapat melewati BBB serta memperlambat progresifitas penyakit degeneratif dengan cara melindungi neurologis dari peningkatan kadar ROS yang dapat mempercepat kemajuan penyakit degeneratif (Li *et al.*,

2014). Hal ini dapat membuktikan kuersetin mampu terdistribusi hingga ke otak dan berpeluang dalam mengurangi kadar ROS di otak.

Penelitian ini dilakukan untuk menganalisis pengaruh pemberian nikotin dan CSE terhadap tingkat adiksi nikotin dengan metode CPP. Dosis nikotin dan CSE yang digunakan sebesar 0,5 mg/kg BB merupakan dosis yang menunjukkan efek *rewarding* pada uji CPP (Rogers *et al.*, 2008). Sedangkan dosis kuersetin yakni 50 mg/kg BB merupakan dosis yang bisa menambah mekanisme pertahanan antioksidan dalam tubuh pada lokasi yang terjadi peningkatan ROS (Ogundajo *et al.*, 2014).

Hewan coba yang digunakan adalah mencit jantan galur Balb/c dalam kondisi normal dan sehat. Skor hasil uji CPP diamati sebagai *reward effect* yang menjadi parameter terjadinya adiksi nikotin.

Evaluasi *reward effect* pada obat diamati dengan menggunakan metode *conditioned place preference* (CPP) (Bardo *et al.*, 2015). Metode ini terdiri dari tiga tahap yaitu, *pre-conditioning*, *conditioning*, dan *post-conditioning*. Pada tahap *conditioning* dapat dilihat fase *acquisition* yang mewakili tahap *binge/intoksikasi* pada siklus awal terjadinya adiksi. Selanjutnya pada fase *extinction* dilihat lama bertahannya perilaku *drug-seeking* terhadap efek putus obat (*withdrawal*), sehingga dapat diketahui tingkat kekuatan obat dalam menyebabkan adiksi. Fase berikutnya adalah *reinstatement* yang mewakili tahap *preoccupation/antisipasi* pada siklus adiksi, dimana perilaku *drug-seeking* muncul kembali setelah pemaparan ulang obat (Koob dan Volkow, 2010).

Berdasarkan uraian diatas, menunjukkan kuersetin merupakan golongan antioksidan yang memiliki efek penurunan ROS di NAcc terhadap adiksi. Adanya pemberian kuersetin sebagai antioksidan dapat mengurangi jumlah ROS yang terbentuk akibat stres oksidatif melalui mekanisme penangkapan radikal bebas dan memodulasi antioksidan endogenus. Peneliti ingin mengkaji lebih lanjut terkait hal tersebut, dimana

studi sebelumnya, antioksidan hanya diberikan pada kasus-kasus keganasan. Skor hasil uji CPP diamati sebagai parameter terjadinya adiksi nikotin.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh pemberian kuersetin terhadap risiko adiksi nikotin?

1.3 Tujuan Penelitian

Menganalisis pengaruh pemberian kuersetin terhadap tingkat adiksi nikotin dengan metode *Conditioned Place Preference* (CPP) pada hewan coba mencit.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran alternatif terapi lain untuk mengurangi adiksi nikotin menggunakan alkaloid alami yaitu kuersetin.
2. Dapat dijadikan data dasar untuk melakukan penelitian selanjutnya terkait manfaat lain kuersetin pada kasus adiksi nikotin.