

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penggunaan tembakau merupakan salah satu penyebab utama kematian yang dapat dicegah dan juga faktor risiko utama untuk penyakit tidak menular. *World Health Organization* (WHO) memperkirakan bahwa terdapat lebih dari 8 juta orang di dunia yang meninggal setiap tahunnya akibat penggunaan tembakau. Lebih dari 7 juta kematian tersebut disebabkan oleh penggunaan tembakau secara langsung, sementara sekitar 1,2 juta kematian dikarenakan non-perokok yang terpapar oleh asap rokok. Jumlah perokok di seluruh dunia telah mencapai lebih dari 1 miliar, di mana sekitar 80% perokok aktif tersebut tinggal di negara berpenghasilan rendah dan menengah (*World Health Organization*, 2021). Sebanyak 51,4% dari jumlah perokok laki-laki di dunia berada pada tiga negara Asia yaitu Cina, India, dan Indonesia (Reitsma *et al.*, 2017). Hal tersebut menunjukkan bahwa konsumsi rokok di Indonesia termasuk dalam kategori tinggi. Menurut Badan Pusat Statistik (2021), persentase perokok di Indonesia dengan usia di atas 15 tahun pada 2021 adalah sebesar 28,96%. Semakin tinggi angka perokok maka semakin tinggi pula angka beban kesehatan. Lima penyebab utama kematian di Indonesia semuanya berkaitan dengan penggunaan tembakau. Morbiditas terkait penyakit akibat merokok menyumbang lebih dari 21% seluruh kasus penyakit kronis di Indonesia (CISDI, 2021).

Rokok menurut PMK Nomor 28 tahun 2013 adalah suatu produk tembakau yang ditujukan untuk dibakar, dihisap atau dihirup dan berasal dari tanaman *Nicotiana tabacum*, *Nicotiana rustica*, spesies lainnya atau sintetisnya, di mana asapnya mengandung nikotin dan tar, dengan atau tanpa zat aditif. Asap rokok mengandung lebih dari 4000 senyawa kimia yang berpotensi sebagai senyawa adiktif dari tembakau. Namun, senyawa yang paling banyak diketahui sebagai konstituen sifat psikoaktif dalam rokok adalah nikotin (Koob *et al.*, 2014). Nikotin juga diketahui sebagai komponen utama dalam rokok yang bertanggung jawab atas kecanduan dan terutama mengaktifkan reseptor asetilkolin nikotinik (nAChR) untuk menghasilkan efek *reinforcement* dan *reward* (Prochaska dan Benowitz, 2016). Selain itu, nikotin juga merupakan mediator utama dari efek negatif rokok (Wu *et al.*, 2021).

Adiksi nikotin disebabkan oleh paparan nikotin yang berulang, di mana saat asap rokok dihirup, nikotin akan masuk ke paru-paru lalu ke darah arteri dan otak hanya dalam 15 sampai 20 detik (Koob *et al.*, 2014; Prochaska dan Benowitz, 2019). Nikotin bekerja pada reseptor nAChR yang ditemukan di seluruh sistem saraf (Prochaska dan Benowitz, 2019). Adiksi nikotin terjadi melalui tiga tahapan yaitu tahap *binge/intoksikasi*, tahap *withdrawal/efek negatif* dan tahap *preoccupation/antisipasi*. Pada tahap *binge/intoksikasi*, penggunaan nikotin mengaktifkan sistem *reward* otak yang melibatkan basal ganglia yang merupakan bagian penting dari sistem motor ekstrapiramidal (Koob *et al.*, 2014; Koob dan Volkow, 2016). Nikotin yang berikatan dengan nAChR kemudian mengaktifkan sistem *mesocorticolimbic dopamine*, yang terproyeksi dari *Ventral Tegmental Area* (VTA) hingga *nucleus accumbens* (NAc) (Koob *et al.*, 2014). Aktivasi jalur mesolimbik ini menghasilkan pelepasan dopamin di NAc yang mana berperan penting terhadap efek *reward* dan inisiasi proses adiksi (Wittenberg *et al.*, 2020). Tahap *withdrawal* merupakan kombinasi gejala afektif dan somatik tidak menyenangkan yang muncul segera setelah penghentian nikotin, di mana terjadi penurunan stimulasi pada nAChR serta perubahan neurokimia akibat tidak adanya obat sehingga menurunkan efek *reward* dan memunculkan emosi negatif (Koob *et al.*, 2014; McLaughlin *et al.*, 2015). Kondisi ini melibatkan *extended amygdala* yang termasuk dalam komponen utama dari *brain stress system*. Tahap preokupasi/antisipasi melibatkan korteks prefrontal, di mana setelah penghentian paparan nikotin dan kemudian diberi stimulus maka akan timbul dorongan kompulsif yang menyebabkan keinginan untuk mendapatkan nikotin kembali (Koob *et al.*, 2014).

Hanya 15,7% perokok di Indonesia yang berhasil berhenti dari kebiasaan merokok (Edwin, 2018). Keadaan emosi negatif yang dihasilkan oleh penghentian nikotin merupakan faktor utama yang menyebabkan seseorang melanjutkan penggunaan rokok dan penyebab kekambuhan selepas berhenti merokok (Jackson *et al.*, 2014). Setelah paparan kronis nikotin, penghentian nikotin akan menimbulkan gejala *withdrawal* yang tidak menyenangkan (De Biasi dan Dani, 2011; McLaughlin *et al.*, 2015). Pada *nicotine withdrawal*, gejala afektif dan somatik terjadi antara 4 sampai 24 jam setelah penghentian paparan nikotin (McLaughlin *et al.*, 2015). Menurut *The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (DSM-5) terdapat 7 gejala utama yang terkait dengan *nicotine withdrawal*, yaitu *irritability/marah/frustrasi*, kecemasan, suasana hati yang tertekan, sulit berkonsentrasi, nafsu makan meningkat, insomnia, dan gelisah (American Psychiatric Association, 2013). Gejala *nicotine withdrawal* diklasifikasikan menjadi afektif, somatik,

dan kognitif. Gejala afektif termasuk kecemasan, anhedonia, depresi, disforia, hiperalgesia, dan iritabilitas. Gejala somatik meliputi tremor, bradikardia, ketidaknyamanan gastrointestinal, dan peningkatan nafsu makan. Gejala kognitif termasuk sebagai kesulitan berkonsentrasi dan gangguan memori (Heishman *et al.*, 2010).

Gejala *nicotine withdrawal* dengan karakteristik kecemasan dan depresi merupakan penyebab utama dari tingkat kekambuhan yang tinggi (Heishman *et al.*, 2010). Nikotin kronis menyebabkan disregulasi daerah otak yang terlibat dalam stres dan sistem emosional saat penghentian penggunaannya. *Corticotropin releasing factor* (CRF) mempunyai peran sentral dalam pengembangan keadaan afektif negatif selama *withdrawal* (Koob dan Volkow, 2010). Aktivasi sistem CRF menghasilkan perilaku seperti kecemasan pada ketidakadaan obat (Simpson *et al.*, 2020). Perubahan dalam sistem CRF terjadi dalam struktur *extended amygdala*, termasuk *central nucleus of amygdala* (CeA), dan NAc (Bruijnzeel, 2012; Koob, 2010). Selama penghentian nikotin, mRNA CRF diekspresikan secara berlebihan pada CeA (Aydin *et al.*, 2011). *Corticotropin releasing factor* (CRF) merupakan pengatur penting dalam sistem *stress* yang mendorong perilaku seperti kecanduan melalui aktivasi hipotalamus-hipofisis-adrenal (HPA) axis dan *extended amygdala* (Simpson *et al.*, 2020). Substrat neuroendokrin utama dari respons stres adalah HPA axis. HPA axis merupakan loop umpan balik di mana stres akan mengaktifkan jalur hormonal yang menginduksi respons "*fight-or-flight*" terhadap ancaman yang dirasakan (Rothenberg dan Zhang, 2019). Ketika stresor dialami, CRF akan disekresikan dari hipotalamus dan kemudian merangsang hormon adrenokortikotropik (ACTH) yang dilepaskan dari kelenjar hipofisis. ACTH kemudian menstimulasikan pelepasan kortikosteron dan glukokortikoid lainnya dari korteks adrenal. Kortikosteron berfungsi sebagai umpan balik negatif utama yang menghentikan aktivitas HPA axis (Lutfy *et al.*, 2006; Rhodes *et al.*, 2004; Semba *et al.*, 2004). Peningkatan regulasi glukokortikoid menekan ekspresi *Brain-derived neurotrophic factor* (BDNF) yang mengarah ke hipofungsi BDNF dan plastisitas sinaptik yang dilemahkan (Cai *et al.*, 2015). BDNF sendiri merupakan faktor *neurotrophin* yang berperan dalam diferensiasi, pematangan, dan kelangsungan hidup neuron pada sistem saraf serta mempunyai efek neuroprotektif pada kondisi yang merugikan (Bathina dan Das, 2015). BDNF juga diketahui terlibat dalam perilaku seperti kecemasan dan saat keadaan *stress* ekspresi BDNF menurun (Suliman *et al.*, 2013).

Epigallocatechin gallate (EGCG) adalah senyawa polifenol utama dalam teh hijau yang mempunyai efek neuroprotektif terhadap racun, depresi, dan gangguan perilaku yang dirangsang stres (Lee *et al.*, 2018; Zhou *et al.*, 2018). EGCG merupakan katekin yang paling banyak dalam teh hijau, di mana mewakili 50-80% dari total katekin yang terkandung dalam teh hijau (Prasanth *et al.*, 2019). EGCG mengandung banyak gugus hidroksil fenolik dalam struktur kimianya sehingga EGCG dianggap sebagai molekul antioksidan yang kuat pada teh hijau (Zhou *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2020). Pada penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, diketahui bahwa penggunaan senyawa EGCG terbukti dapat menurunkan efek *reward* pada adiksi nikotin (Softyana, 2021). Menurut penelitian Lee *et al.*, 2018, EGCG diketahui dapat mencegah penurunan BDNF yang mana menunjukkan bahwa EGCG dapat menghambat disfungsi HPA axis yang dirangsang oleh stres.

Berdasarkan penjelasan di atas, penelitian ini dilakukan untuk melihat pengaruh dari EGCG terhadap ekspresi mRNA CRF dan perilaku afektif pada hewan coba mencit dalam kondisi *nicotine withdrawal*. Senyawa EGCG diketahui dapat mencegah penurunan BDNF yang menunjukkan bahwa EGCG dapat menghambat disfungsi HPA axis, sehingga diharapkan terjadi penurunan CRF setelah pemberian EGCG. Pada penelitian ini dilakukan uji *behavioral* dan uji molekuler. Uji *behavioral* dilakukan untuk mengamati perubahan afektif yaitu munculnya perilaku seperti kecemasan pada *nicotine withdrawal*. Perilaku seperti kecemasan dinilai dengan menggunakan *elevated plus maze* (EPM) dan *open-field tests* (OFT). EPM merupakan instrumen yang terdiri dari dua lengan yaitu lengan terbuka dan lengan tertutup di mana pada hewan coba yang mengalami perilaku seperti kecemasan akan menghabiskan waktu di lengan terbuka lebih sedikit. Pengujian dengan OFT dilakukan dengan menempatkan hewan uji pada arena persegi dan mengevaluasi *ratio* waktu yang dihabiskan hewan uji pada bagian *center* OFT dengan waktu yang dihabiskan di sepanjang perimeternya (McLaughlin *et al.*, 2015; La-Vu *et al.*, 2020). Setelah uji *behavioral*, bagian otak diambil dan dianalisis untuk level mRNA CRF dengan menggunakan PCR (Torres *et al.*, 2013).

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh *Epigallocatechin gallate* (EGCG) terhadap perilaku afektif hewan coba mencit pada kondisi *nicotine withdrawal* dengan menggunakan EPM dan OFT?
2. Bagaimana pengaruh *Epigallocatechin gallate* (EGCG) terhadap ekspresi mRNA *Corticotropin Releasing Factor* (CRF) pada hewan coba mencit dengan *nicotine withdrawal*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Menganalisis pengaruh *Epigallocatechin gallate* (EGCG) terhadap perilaku afektif hewan coba mencit pada kondisi *nicotine withdrawal* dengan menggunakan EPM dan OFT?
2. Menganalisis pengaruh *Epigallocatechin gallate* (EGCG) terhadap ekspresi mRNA *Corticotropin Releasing Factor* (CRF) pada hewan coba mencit dengan *nicotine withdrawal*.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bagi perokok yang berhenti merokok bahwa penggunaan EGCG dapat menurunkan gejala afektif yang dialami perokok pada kondisi *nicotine withdrawal*.