

# Polimorfisme Gen Sitokrom P450 2A6 Alel \*1, \*4, \*7, dan \*9 pada Subjek Uji Perokok Suku Tionghoa Indonesia

Christine Patramurti<sup>1</sup>, Evan Julian Candaya<sup>2</sup>, Stella Felina Kiatarto<sup>2</sup>, dan Agnes Kurniati Karut<sup>2</sup>

**ABSTRACT :** The CYP2A6 gene, encodes the CYP2A6 enzyme, has a highly polymorphism. These enzyme have played a role in nicotine metabolism, one of the active compounds in cigarettes that causes of cigarette dependence. The active form of the CYP2A6 gene allele is \*1 allele and some inactive forms of the CYP2A6 gene allele are \*4, \*7, and \*9 alleles. The inactive alleles would reduce the activity of the CYP2A6 enzyme. The genotypes of CYP2A6 gene (CYP2A6\*1, \*4, \*7, and \*9) among Chinese Indonesian smokers were determined by allele-specific polymerase chain reaction (PCR) followed by electrophoresis method. The cigarette dependence was analyzed using the Fagerstrom Test for Nicotine Dependence (FTND) method. This study showed that there are CYP2A6 polymorphism genes among 30 smokers who participate in these study. The frequencies of the genotypes of CYP2A6 alleles were CYP2A6 \*1/\*1 (46.7%), CYP2A6 \*1/\*4 (16.7%), CYP2A6 \*1/\*7 (3.3%), CYP2A6 \*1/\*9 (10%), CYP2A6 \*1/\*4/\*7 (6.7%), CYP2A6 \*1/\*4/\*9 (10.0%), CYP2A6 \*1/\*7/\*9 (3.3%) and CYP2A6 \*4/\*7/\*9 (3.3%). The presence of inactive alleles can reduce the activity of the CYP2A6 enzyme in metabolizing nicotine, which can reduce the effects of cigarette dependence.

**Keywords:** gene polymorphism, CYP2A6\*1, \*4, \*7, \*9

**ABSTRAK:** Gen CYP2A6 adalah gen yang menyandi enzim CYP2A6. Enzim ini berperan dalam metabolisme nikotin, salah satu senyawa aktif dalam rokok yang menyebabkan efek ketergantungan terhadap rokok. Gen CYP2A6 merupakan salah satu gen yang memiliki bentuk polimorf. Bentuk aktif alel gen CYP2A6 adalah alel \*1 dan beberapa bentuk tidak aktif alel gen CYP2A6 adalah alel \*4, \*7, dan \*9. Adanya alel-alel tidak aktif ini akan menurunkan aktivitas enzim CYP2A6. Analisis alel gen CYP2A6\*1, \*4, \*7, dan \*9 pada subjek uji perokok suku Tionghoa Indonesia dilakukan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR), produk PCR yang diperoleh diidentifikasi dengan teknik elektroforesis. Efek ketergantungan rokok dianalisis menggunakan metode *Fagerstrom Test for Nicotine Dependence* (FTND). Hasil identifikasi terhadap 30 subjek uji yang terlibat pada penelitian ini menunjukkan adanya bentuk polimorf gen CYP2A6 diantara suku Tionghoa. Frekuensi genotipe yang muncul diantara subjek uji adalah CYP2A6\*1/1 (46,7%), CYP2A6\*1/4 (16,7%), CYP2A6\*1/7 (3,3%), CYP2A6\*1/9 (10%), CYP2A6\*1/\*4/\*7 (6,7%), CYP2A6\*1/\*4/\*9 (10,0%), CYP2A6\*1/\*7/\*9 (3,3%) dan CYP2A6\*4/\*7/\*9 (3,3%). Adanya alel tidak aktif dapat menurunkan aktivitas enzim CYP2A6 dalam memetabolisme nikotin, sehingga dapat menurunkan efek ketergantungan rokok.

**Kata kunci:** polimorfisme gen, CYP2A6\*1, \*4, \*7, \*9

1. Bagian Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta
2. Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta

#### Korespondensi :

Christine Patramurti  
e-mail : [patra@usd.ac.id](mailto:patra@usd.ac.id)

## PENDAHULUAN

Gen Sitokrom P450 2A6 adalah gen yang menyandi enzim sitokrom P450 2A6 (CYP2A6). Gen ini memiliki tingkat polimorfisme alel yang tinggi (1). Polimorfisme merupakan perubahan informasi genetik yang menyebabkan terjadinya variasi bentuk dari gen, baik dua atau lebih fenotipe pada satu spesies (2). Bentuk polimorf gen berpengaruh pada aktivitas enzim yang diekspresikan dalam memetabolisme senyawa xenobiotik dalam tubuh (3). Saat ini terdapat 89 bentuk polimorfisme CYP2A6 yang telah teridentifikasi. Bentuk aktif gen CYP2A6 adalah alel CYP2A6\*1 (*wild type*), sedangkan beberapa bentuk variasi gen tidak aktif gen ini antara lain adalah alel CYP2A6\*4, \*7 dan \*9. Adanya variasi gen ini pada suatu individu dapat menyebabkan penurunan (alel \*7 atau \*9) dan penghilangan (alel \*4) aktivitas enzim CYP2A6 (4–8).

Frekuensi dan jenis alel suatu gen yang mempunyai bentuk polimorf sangat bervariasi diantara berbagai suku bangsa karena frekuensi dan jenis alel sangat dipengaruhi oleh faktor genetik. Bentuk polimorf gen CYP2A6 banyak ditemukan pada orang-orang Asia, dengan frekuensi alel tidak aktif tinggi. Beberapa bentuk alel tidak aktif yang ditemukan pada populasi di Asia adalah CYP2A6\*4, \*7, dan \*9 (9–11). Menurut Nakajima dan Yokoi tahun 2005 (12), frekuensi bentuk alel CYP2A6\*4, \*7 dan \*9 pada populasi Asia berturut-turut adalah 11-20%, 4-7% dan 20%. Alel CYP2A6\*4 adalah alel tidak aktif yang paling sering ditemukan di benua Asia. Hal ini diperkuat dengan hasil penelitian Muroi tahun 2012 (13), yang menemukan bahwa frekuensi alel gen CYP2A6\*4 pada penduduk Asia adalah sekitar 20%.

Enzim CYP2A6 yang disandi oleh gen CYP2A6 merupakan enzim yang bertanggung jawab pada beberapa senyawa xenobiotik yang masuk ke dalam tubuh. Salah satu substrat spesifik enzim ini adalah nikotin, suatu senyawa aktif yang terdapat dalam rokok dan dianggap bertanggung jawab pada efek ketergantungan terhadap rokok (1). Hal ini disebabkan nikotin merupakan salah satu senyawa yang memiliki efek stimulan yang dapat meredakan kelelahan, depresi, dan rasa sakit. Oleh karena itu, perokok merasa bahwa merokok dapat meredakan stres dan ingin merokok lebih lagi terutama dalam kondisi

tertekan (14).

Penelitian tentang polimorfisme gen CYP2A6, terutama identifikasi alel tidak aktif dalam suatu populasi, sangat penting dilakukan terutama untuk mempelajari perilaku merokok, aktivitas senyawa karsinogen, atau metabolisme obat yang diperantarai oleh enzim CYP2A6, terutama pada populasi di Asia (15). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa terdapat hubungan antara polimorfisme gen CYP2A6 dengan perilaku merokok dan ketergantungan fisik terhadap nikotin. Menurut Schoedel *et al.*, tahun 2004 dan Mwenifumbo *et al.* tahun 2008 (16,17), seorang yang memiliki alel gen CYP2A6\*4, baik dalam bentuk homozigot ataupun heterozigot, dikategorikan sebagai *slow metabolizers* atau *poor metabolizers*, sehingga adanya alel gen CYP2A6\*4 akan menurunkan risiko seorang perokok terhadap efek ketergantungan pada nikotin dibandingkan dengan perokok yang mempunyai gen CYP2A6\*1 (10,18,19).

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Benowitz *et al.* tahun 2002 menunjukkan bahwa orang Amerika keturunan China yang terlibat pada penelitiannya dikategorikan sebagai *slow metabolizers* (20). Suku China yang tinggal di Indonesia dikenal dengan nama suku Tionghoa. Suku ini merupakan salah satu ras kulit putih yang ada di Indonesia dan menduduki peringkat 18 terbesar di Indonesia, dengan jumlah penduduk sebesar 2.832.510 orang (21). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek polimorfisme gen CYP2A6, khususnya alel gen \*4, \*7 dan \*9, terhadap efek ketergantungan rokok pada subjek uji perokok suku Tionghoa Indonesia. Ketergantungan rokok seorang perokok pada penelitian ini dianalisis menggunakan metode *Fagerstrom Test for Nicotine Dependence* (FTND) (22). Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai acuan pengendalian beberapa penyakit yang ditimbulkan oleh nikotin maupun asap rokok serta strategi penghentian konsumsi rokok di Indonesia.

## METODOLOGI PENELITIAN

### Bahan

Bahan yang digunakan adalah kit DNA isolasi (*FavorPrep Genomic DNA Mini Kit Blood/Cultured Cell*), *Promega Go Taq Green Master Mix*, *Nuclease-Free Water (Promega Medison)*, primer forward

dan *reverse* untuk masing-masing alel gen (Tabel 1), dapar Tris-Borate-EDTA (TBE) pH 8,3 (10x) (Vivantis), agarose (GenedireX), GelRed (Biotium), DNA Ladder 100 bp+3Kb (Smobio), *blue orange DNA loading dye* 6X (Vivantis), etanol 70%, dan *aqua pro injection* (Ikapharmindo).

### Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *vacutainer tube* yang berisi EDTA (1,8 mg/mL darah) *Thermal cycler* (Perkin Elmer 2400), satu set elektroforesis (Biorad), lampu UV Transilluminator (Fisher Scientific), *disposable gloves*, *microtube* (0,2 mL), mikropipet ukuran 1-10 µL (Socorex Swiss), mikropipet ukuran 100-1000 µL (Socorex Swiss), *blue tip*, *white tip*, kamera DSLR 3100D, gelas ukur 50 mL dan 100 mL (Pyrex), gelas beaker 200 mL (Pyrex), Erlenmeyer 250 mL (Pyrex), *hot plate* (Ika Combing-red).

### Rekrutmen Subjek Uji

Subjek uji yang terlibat pada penelitian ini adalah perokok berjenis kelamin laki-laki, keturunan suku Tionghoa Indonesia asli minimal sampai *third degree relatives* (kakek dan nenek orang Tionghoa asli) yang diketahui dari hasil wawancara, bertempat tinggal di Yogyakarta. Jumlah keseluruhan subjek uji sebanyak 30 orang. Adapun kriteria inklusi subjek uji antara lain adalah berumur 20-40 tahun. Semua subjek uji merupakan perokok aktif dan telah melakukan aktivitas merokok minimal 5 tahun. Jenis rokok yang dihisap adalah rokok putih berfilter. Sedangkan kriteria eksklusi subjek uji antara lain sedang mengonsumsi obat rutin atau sedang menjalani pengobatan untuk berhenti merokok dalam sebulan terakhir serta sedang menderita penyakit yang mengharuskan beristirahat total selama  $\geq 10$  hari dalam sebulan terakhir seperti *heart diseases*, *renal failure*, *pulmonary diseases*, pasien dengan penyakit hepar seperti hepatitis, sirosis hati, dan hepatoma. Subjek uji dengan sadar bersedia menandatangani *informed consent*. Penelitian yang dilakukan

di Laboratorium Biokimia Fakultas Biokimia Universitas Sanata Dharma dan telah memenuhi Kode Etik yang disetujui oleh Komisi Etik Fakultas Kedokteran Kristen Duta Wacana Yogyakarta.

Pengukuran efek ketergantungan rokok subjek uji dilakukan berdasarkan nilai FTND Heatherton *et al.* (1991) masing-masing subjek uji (22). Nilai FTND didapatkan melalui kuisioner yang diberikan peneliti kepada subjek uji secara langsung sebelum dilakukan pengambilan darah. Pada metode ini subjek uji diberikan beberapa pertanyaan mengenai kebiasaan merokok. Metode ini berisi enam pertanyaan yang mengevaluasi lamanya waktu yang dibutuhkan setelah bangun tidur untuk melakukan aktivitas merokok, kemampuan menahan diri untuk tidak merokok di ruangan bebas rokok, waktu yang tidak disukai untuk merokok, perbandingan jumlah hisap rokok antara pagi dan malam, jumlah rokok perhari yang dihisap, dan dorongan untuk menghisap rokok dalam keadaan sakit. Dalam penilaian FTND, pertanyaan dengan jawaban Ya/Tidak memiliki skor dari 0 sampai 1 dan beberapa pertanyaan pilihan diberi skor 0 sampai 3.

### Pengambilan Sampel Darah pada Subjek Uji

Sampel darah diambil oleh petugas dari laboratorium klinik. Sampel darah diambil dari pembuluh vena subjek uji dan ditampung dalam *vacutainer tube* yang berisi EDTA (1,8 mg/mL darah). Darah segar yang diperoleh, disimpan pada suhu  $\pm 4^{\circ}\text{C}$  sebelum dianalisis dan digunakan untuk identifikasi alel CYP2A6\*9.

### Isolasi DNA

Pada penelitian ini isolasi DNA menggunakan DNA isolasi kit (*FavorPrep Genomic DNA Mini Kit Blood/Cultured Cell*). Prosedur yang dilakukan sesuai dengan protokol yang tertera pada kit yang digunakan. Terdapat 3 tahap umum dalam proses isolasi yaitu proses perusakan dinding sel, pemisahan DNA dari protein, dan pemurnian DNA. Tujuan isolasi DNA adalah untuk mendapatkan DNA yang murni (23).

**Tabel 1.** Urutan basa primer forward dan reverse alel gen CYP2A6\*4, \*7, dan \*9

Gen	Primer	
	Forward	Reverse
CYP2A6*4	5'-CCTCATCACACAACCTTCCTC-3'	5'-CGCAGGTACTGGGTGCTTGGTAG-3'
CYP2A6*7	5'-CTCCAGTCACCTAAGGACAT-3'	5'-AAAATGGGCATGAACGCC-3'
CYP2A6*9	5'-GATTCCTCTCCCTGGAAC-3'	5'-GGCTGGGGTGGTTTGCCTTTA-3'

**Tabel 2.** Kondisi PCR yang digunakan untuk amplifikasi masing-masing alel gen CYP2A6\*4, \*7, dan \*9

Kondisi PCR	Gen		
	CYP2A6*4	CYP2A6*7	CYP2A6*9
Initial Denaturasi	95°C (5')	95°C (5')	94°C (3')
Denaturasi	98°C (20'')	95°C (20'')	94°C (30'')
<i>Annealing</i>	64°C (15'')	56,5°C (15'')	60°C (30'')
Ekstinsi	70°C (30'')	70°C (30'')	70°C (25'')
Final Ekstinsi	72°C (5')	72°C (5')	72°C (5')
Siklus	30 kali	30 kali	30 kali

### Amplifikasi Alel Gen CYP2A6\*4, \*7, dan \*9

Amplifikasi dilakukan menggunakan primer *forward* dan *reverse* yang spesifik untuk masing-masing alel gen (Tabel 1). Reaksi PCR dilakukan dengan menggunakan Promega *Go Taq Green Master Mix* (berisi Taq DNA polimerase, dNTPs, MgCl<sub>2</sub>, dan dapar) dengan volume akhir campuran 25 µL. Ke dalam *microtube* 0,5 mL dimasukkan berturut-turut 12,5 µL reagen PCR, 1,25 µL primer *forward*, 1,25 µL primer *reverse*, 5,0 µL isolat DNA, dan 5 µL *Nuclease-free Water*. Larutan ini kemudian diamplifikasi menggunakan mesin PCR (*Thermal cycler* Perkin Elmer 2400). Kondisi PCR yang digunakan untuk masing-masing alel gen ditunjukkan pada Tabel 2.

### Analisis Produk PCR

Analisis hasil produk PCR dilakukan dengan menggunakan elektroforesis. Fase diam yang digunakan adalah gel agarose, sedangkan fase gerak berupa larutan dapar TBE 1x. *Running* elektroforesis dilakukan dengan tegangan 110-volt selama 45 menit. Gel agarose kemudian dideteksi di bawah lampu UV transilluminator dan DNA yang terekspresi didokumentasikan dengan kamera. Produk PCR akan berada pada pita 350-bp untuk alel gen CYP2A6\*4, 439-bp untuk alel gen CYP2A6\*7, dan 368-bp untuk alel gen CYP2A6\*9.

### Analisis hasil

Berdasarkan produk PCR yang dihasilkan, maka dilakukan analisis pengaruh alel gen CYP2A6\*4, \*7, dan \*9 terhadap ketergantungan rokok pada populasi subjek uji yang terlibat dalam penelitian.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Subjek uji yang terlibat pada penelitian ini adalah perokok aktif suku Tionghoa di Indonesia

dengan jumlah keseluruhan subjek uji adalah 30 orang. Karakteristik subjek uji berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditetapkan dapat dilihat pada Tabel 3. Mayoritas subjek uji yang terlibat pada penelitian ini adalah pelajar atau mahasiswa. Hal ini menyebabkan beberapa kriteria inklusi yang telah ditetapkan tidak dapat tercapai dengan optimal. Penelitian ini tidak mendapatkan rentang usia subjek uji 20-40 tahun. Pada Tabel 3, terlihat bahwa usia subjek uji berkisar antara 20-30 tahun dengan rata-rata usia 22 tahun. Berdasarkan jumlah rokok yang dihisap per hari, maka perokok dapat dikelompokkan menjadi tiga, yaitu perokok ringan (CPD: 1-10), perokok sedang (CPD: 11-20) and perokok berat (CPD: 21-30) (24). Pada penelitian ini, proporsi setiap kelompok perokok tidak bisa merata, sebagian besar subjek uji termasuk dalam kelompok perokok ringan dan perokok berat, dengan persentase masing-masing 47% dan 50%, dan hanya 3% subjek uji yang termasuk perokok berat. Rata-rata keseluruhan subjek uji menghisap rokok sebanyak 13 batang rokok dalam sehari dengan rentang 5-25 batang rokok per hari. Rentang lama merokok subjek uji adalah 5-18 tahun dengan rata-rata selama 6 tahun.

**Tabel 3.** Karakteristik subjek uji yang terlibat dalam penelitian

Karakteristik	Nilai	
Umur (tahun)	Rata-rata	21,9 ± 2,15
	Rentang	20-30
Jumlah batang rokok yang dihisap perhari	Rata-rata	12,96 ± 4,80
	Rentang	5-25
Lama merokok (tahun)	Rata-rata	5,9 ± 1,06
	Rentang	5-8
Jumlah subjek uji	30 orang	



Ketergantungan subjek uji terhadap rokok pada penelitian ini diukur menggunakan metode FTND. Metode ini merupakan alat ukur standar untuk menilai intensitas kecanduan fisik terhadap nikotin. Tes ini dirancang untuk memberikan ukuran ordinal ketergantungan nikotin terkait merokok. Semakin tinggi skor Fagerstrom, maka semakin kuat ketergantungan fisik subjek uji terhadap nikotin. Skor FTND masing-masing subjek uji yang terlibat dalam penelitian ditunjukkan pada Tabel 4.

Pada Tabel 4, tampak bahwa tidak ada satupun dari subjek uji yang memiliki ketergantungan sangat tinggi dan hanya 6,7% orang yang memiliki ketergantungan tinggi. Sebanyak 93,3% subjek uji memiliki ketergantungan sangat rendah sampai medium, dengan persentase terbanyak pada tingkat ketergantungan rendah (50%). Oleh karena itu, subjek uji disarankan untuk menghentikan kegiatan merokok dengan melakukan aktivitas lain sebelum tingkat ketergantungan terhadap nikotin meningkat. Pada tingkat ketergantungan di bawah 5, maka adanya usaha dari dalam diri seorang perokok untuk berhenti akan lebih mudah dibandingkan subjek uji yang memiliki ketergantungan di atas 5. Pada subjek uji yang memiliki tingkat ketergantungan di atas 5 kebiasaan merokok pada subjek uji menjadi tidak terkendali, jika

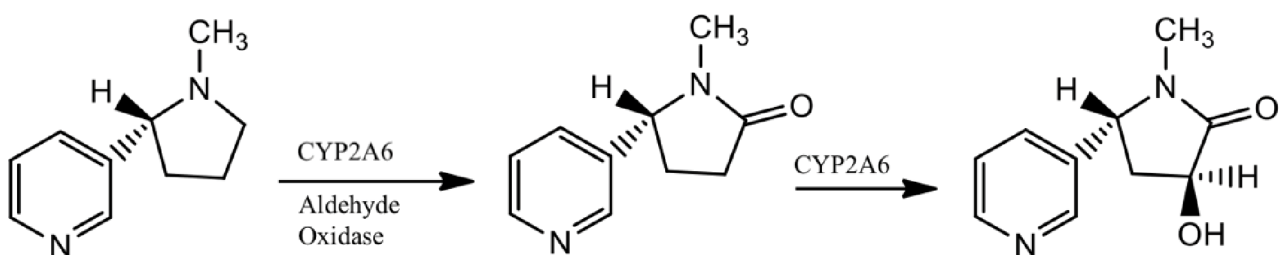
ingin membuat keputusan berhenti merokok perlu dilakukan konsultasi dengan dokter tentang terapi penggantian nikotin atau pengobatan lain yang dapat membantu menghilangkan kecanduan terhadap nikotin.

Pada dasarnya, ada dua macam faktor yang mempengaruhi ketergantungan fisik individu terhadap rokok yaitu faktor genetik dan lingkungan. Menurut hasil penelitian terakhir, faktor genetik memiliki kontribusi sebesar 50-70% (25). Gen yang dianggap bertanggungjawab terhadap efek ketergantungan rokok adalah gen CYP2A6, gen ini menyandi enzim CPY2A6. Sekitar 70-90% nikotin dalam tubuh dioksidasi menjadi kotinin, selanjutnya kotinin secara eksklusif akan dioksidasi menjadi 3- hidroksikotinin atau 7-hidroksikotinin oleh CYP2A6 (Gambar 1) (26). Adanya polimorfisme gen CYP2A6 akan mempengaruhi aktivitas enzim CYP2A6 pada metabolisme nikotin dalam tubuh (3).

Pada penelitian ini telah dilakukan identifikasi gen CYP2A6 pada 30 orang subjek uji perokok suku Tionghoa Indonesia. Metode yang digunakan untuk identifikasi gen CYP2A6 adalah PCR. Alel gen yang diidentifikasi adalah alel gen CYP2A6\*4, \*7, dan \*9. Ketiga alel gen ini telah diketahui dapat menyebabkan penurunan aktivitas enzim CYP2A6 yang disandinya. Gen CYP2A6\*7 dan CYP2A6\*9 merupakan alel gen yang mengalami *single nukleotid polimorfisme* (SNP), sedangkan gen CYP2A6\*4 merupakan alel yang kehilangan gen, sehingga gen ini merupakan bentuk enzim yang tidak aktif (3). Identifikasi alel gen CYP2A6\*4, \*7, dan \*9 pada penelitian ini dilakukan menggunakan metode PCR. Reaksi PCR dilakukan dengan menggunakan primer yang akan menempel pada daerah spesifik pada masing-masing alel gen yang dianalisis. Hasil produk PCR masing-masing alel gen berada pada panjang pita 350-bp untuk alel gen CYP2A6\*4,

**Tabel 4.** Skor FTND subjek uji

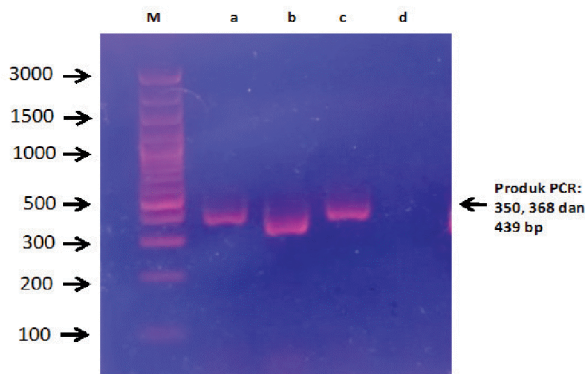
Skor FTND	Tingkat Ketergantungan	Jumlah
0 - 2	Sangat rendah	8
3 - 4	Rendah	15
5	Medium	5
6 - 7	Tinggi	2
8 - 10	Sangat tinggi	0



**Gambar 1.** Jalur utama metabolisme nikotin oleh enzim CYP2A6 (1).

439-bp untuk alel gen CYP2A6\*7, dan 368-bp untuk alel gen CYP2A6\*9. Jika pada akhir reaksi PCR tidak terbentuk produk PCR, maka isolat DNA yang dianalisis mempunyai bentuk alel gen CYP2A6\*1. Gambar elektroforegram masing-masing produk PCR dapat dilihat pada Gambar 2.

Berdasarkan alel gen yang dimiliki, maka perokok dapat dikategorikan menjadi tiga golongan, yaitu *normal metabolizers*, *intermediate metabolizers*, *slow metabolizers*, dan *poor metabolizers*. Pengelompokan ini merujuk pada aktivitas enzim CYP2A6 dalam memetabolisme nikotin. Seseorang dikategorikan sebagai *normal metabolizers*, jika hanya memiliki bentuk homozigot alel aktif saja (CYP2A6\*1). Seseorang yang memiliki bentuk heterozigot dari alel tidak aktif CYP2A6\*7



**Gambar 2.** Hasil produk PCR amplifikasi isolat DNA sampel darah subjek uji perokok Suku Tionghoa Indonesia.

Keterangan:

- (a) alel gen CYP2A6\*4 (350-bp),
- (b) alel gen CYP2A6\*7 (439-bp),
- (c) alel gen CYP2A6\*9 (368-bp),
- (d) alel gen CYP2A6\*1 (tidak terbentuk pita).

dan/atau CYP2A6\*9, dikategorikan sebagai *intermediate metabolizers*, sedangkan seseorang yang memiliki bentuk heterozigot alel tidak aktif CYP2A6\*4, dikategorikan sebagai *slow metabolizers*. Kelompok *poor metabolizers* adalah seseorang yang memiliki bentuk homozigot CYP2A6\*4 (17,27). Hasil identifikasi gen CYP2A6 pada subjek uji yang terlibat pada penelitian ini disajikan pada Tabel 5.

Hasil identifikasi gen CYP2A6 yang ditunjukkan pada Tabel 5, tampak bahwa diantara subjek uji yang terlibat pada penelitian ini terdapat bentuk polimorf gen CYP2A6. Berdasarkan bentuk genotipe yang dimiliki oleh masing-masing subjek uji yang ditunjukkan pada Tabel 5, tampak bahwa sebagian besar subjek uji dikategorikan sebagai kelompok *normal metabolizers* (frekuensi: 46,7%). Urutan kedua ditempati oleh subjek uji yang termasuk dalam kategori *slow metabolizers* (frekuensi: 36,7%). Frekuensi subjek uji yang dikategorikan dalam kelompok *intermediate metabolizers* berada pada urutan terakhir (frekuensi: 16,6%). Pada Tabel 5 juga menunjukkan bahwa kelompok perokok *normal metabolizers* memiliki efek ketergantungan rokok dari sedang sampai tinggi, sedangkan pada kelompok perokok *intermediate* dan *poor metabolizers* memiliki efek ketergantungan rokok dari rendah sampai sangat rendah. Hal ini menunjukkan bahwa adanya bentuk alel gen CYP2A6\*4, \*7, dan \*9 pada subjek uji akan mempengaruhi efek ketergantungan rokok. Efek ketergantungan fisik terhadap nikotin yang terjadi pada individu dengan gen CYP2A6\*1 lebih tinggi dibanding individu yang memiliki alel gen CYP2A6\*4, \*7, dan \*9. Hal ini

**Tabel 5.** Frekuensi genotipe CYP2A6 pada perokok suku Tionghoa Indonesia

Genotipe	Kategori	Jumlah	Frekuensi	Ketergantungan
*1/*1	<i>Normal metabolizers</i>	14	46,7	Sedang - Tinggi
*1/*7	<i>Intermediate metabolizers</i>	1	3,3	
*1/*9	<i>Intermediate metabolizers</i>	3	10,0	
*1/*7/*9	<i>Intermediate metabolizers</i>	1	3,3	
*1/*4	<i>Slow metabolizers</i>	5	16,7	Rendah - Sangat Rendah
*1/*4/*7	<i>Slow metabolizers</i>	2	6,7	
*1/*4/*9	<i>Slow metabolizers</i>	3	10,0	
*4/*7/*9	<i>Slow metabolizers</i>	1	3,3	

terjadi karena metabolisme nikotin dalam darah berjalan lebih cepat, sehingga individu cenderung mempertahankan kadar nikotin dalam darah dengan merokok (16,28,29). Hasil penelitian ini konsisten dengan beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya yang menyatakan bahwa efek ketergantungan rokok dari seorang perokok yang mempunyai jenis alel tidak aktif adalah lebih rendah jika dibandingkan dengan perokok yang mempunyai jenis alel aktif (CYP2A6\*1) (9,10,16,30–32).

Beberapa penelitian melaporkan bahwa adanya penurunan metabolisme nikotin dalam tubuh akibat adanya alel gen CYP2A6\*4, \*7, atau \*9 ini juga dapat meningkatkan risiko penyakit kardiovaskular (33), diabetes (34–36), dan kanker pada perokok aktif (37–39). Upaya yang dapat dilakukan untuk mencegah penyakit-penyakit ini, utamanya pada perokok aktif, adalah dengan berhenti merokok. Perokok yang memiliki alel gen

tidak aktif mempunyai kecenderungan untuk lebih mudah untuk berhenti merokok (10,19,40). Oleh karena itu, hasil penelitian ini diharapkan dapat mendukung upaya pemerintah untuk mengurangi jumlah penderita penyakit kardiovaskular, diabetes dan kanker dengan melakukan kampanye berkelanjutan tentang program berhenti merokok kepada masyarakat untuk mewujudkan Indonesia bebas dari asap rokok.

## KESIMPULAN

Efek ketergantungan fisik terhadap nikotin pada individu yang memiliki gen CYP2A6\*1 lebih tinggi dibanding individu yang memiliki alel gen CYP2A6\*4, \*7, dan \*9 atau dengan kata lain efek ketergantungan rokok dari seorang perokok yang mempunyai jenis alel tidak aktif lebih rendah jika dibandingkan dengan perokok yang mempunyai jenis alel aktif (CYP2A6\*1).

## DAFTAR PUSTAKA

- Hukkanen J, Jacob P, Benowitz NL. Metabolism and disposition kinetics of nicotine. *Pharmacol Rev.* 2005; 57(1): 79–115.
- Maggert KA. Genetics: Polymorphisms, Epigenetics, and Something In Between. *Genet Res Int.* 2012; 1–9.
- Raunio H, Rahnasto-Rilla M. CYP2A6: genetics, structure, regulation, and function. *Drug Metabol Drug Interact.* 2012; 27(2): 73–88.
- Rao Y, Hoffmann EWA, Zia M, Bodin L, Zeman M, Sellers EM, et al. Duplications and Defects in the CYP2A6 Gene: Identification, Genotyping, and In Vivo Effects on Smoking. *Mol Pharmacol.* 2000; 58(4): 747–755.
- Tyndale RF, Sellers EM. Genetic variation in CYP2A6-mediated nicotine metabolism alters smoking behavior. *Ther Drug Monit.* 2002; 24(1): 163–171.
- Malaiyandi V, Goodz SD, Sellers EM, Tyndale RF. CYP2A6 genotype, phenotype, and the use of nicotine metabolites as biomarkers during Ad libitum smoking. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006; 15(10): 1812–1819.
- Ho MK, Mwenifumbo JC, Al Koudsi N, Okuyemi KS, Ahluwalia JS, Benowitz NL, et al. Association of nicotine metabolite ratio and CYP2A6 genotype with smoking cessation treatment in African-American light smokers. *Clin Pharmacol Ther.* 2009; 85(6): 635–643.
- Swan GE, Lessov-Schlaggar CN, Bergen AW, He Y, Tyndale RF, Benowitz NL. Genetic and Environmental Influences on The Ratio of 3-Hydroxycotinine to Cotinine in Plasma and urine. *Pharmacogenet Genomics.* 2009; 19(5): 388–398.
- Liu T, David SP, Tyndale RF, Wang H, Zhou Q, Ding P, et al. Associations of CYP2A6 genotype with smoking behaviors in southern China. *Addiction.* 2011; 106(5): 985–994.
- Minematsu N, Nakamura H, Furuuchi M, Nakajima T, Takahashi S, Tateno H, et al. Limitation of cigarette consumption by CYP2A6\*4, \*7 and \*9 polymorphisms. *Eur Respir J.* 2006; 27(2): 289–292.
- Yusof W, Gan SH. High prevalence of CYP2A6\*4 and CYP2A6\*9 alleles detected among a Malaysian population. *Clin Chim Acta.* 2009; 403(1–2): 105–9.

12. Nakajima M, Yokoi T. Interindividual variability in nicotine metabolism: C-oxidation and glucuronidation. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2005; 20(4): 227–235.
13. Muroi A. Effect of Genetic Polymorphism of CYP2A6 on Individual Susceptibility to Colorectal Tumors in Japanese Smokers. *J Cancer Ther.* 2012; 03(04): 207–215.
14. Benowitz NL. Nicotine Addiction. *N Engl J Med.* 2010; 362(24): 2295–2303.
15. Oscarson M. Genetic polymorphisms in the cytochrome P450 2A6 (CYP2A6) gene: implications for interindividual differences in nicotine metabolism. *Drug Metab Dispos.* 2001; 29(2): 91–95.
16. Schoedel K a, Hoffmann EB, Rao Y, Sellers EM, Tyndale RF. Ethnic variation in CYP2A6 and association of genetically slow nicotine metabolism and smoking in adult Caucasians. *Pharmacogenetics.* 2004; 14(9): 615–626.
17. Mwenifumbo JC, Al Kouksi N, Ho MK, Zhou Q, Hoffmann EB, Sellers EM, et al. Novel and established CYP2A6 alleles impair in vivo nicotine metabolism in a population of Black African descent. *Hum Mutat.* 2008; 29(5): 679–688.
18. Ando M, Hamajima N, Ariyoshi N, Kamataki T, Matsuo K. Original Association Adults Article of CYP2A6 Gene Deletion with Cigarette Smoking Status in Japanese and Yoshiyuki Ohno. *J Epidemiol.* 2003; 13(3): 176–181.
19. Fujieda M, Yamazaki H, Saito T, Kiyotani K, Gyamfi MA, Sakurai M, et al. Evaluation of CYP2A6 genetic polymorphisms as determinants of smoking behavior and tobacco-related lung cancer risk in male Japanese smokers. *Carcinogenesis.* 2004; 25(12): 2451–2458.
20. Benowitz NL, Pérez-Stable EJ, Herrera B, Jacob P. Slower metabolism and reduced intake of nicotine from cigarette smoking in Chinese-Americans. *J Natl Cancer Inst.* 2002; 94(2): 108–115.
21. Na'im, A., Syaputra H. Kewarganegaraan, Suku Bangsa, Agama, dan Bahasa Sehari-Hari Penduduk Indonesia. Jakarta: Badan Pusat Statistik Republik Indonesia; 2011.
22. Heatherton T. F, Kozlowki L, Frecker RC, Fagerstrom K ar.-O. The Fagerstrom Test for Nicotine Dependence: A Revision of The Fagerstrom Tolerance Questionnaire. *British Journal of Addiction;* 1991: 1119–27.
23. Muladno. Teknologi Rekayasa Genetika. 2nd ed. Bandung: IPB Press; 2009.
24. Yang M, Kunugita N, Kitagawa K, Kang SH, Coles B, Kadlubar FF, et al. Individual differences in urinary cotinine levels in Japanese smokers: relation to genetic polymorphism of drug-metabolizing enzymes. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev [Internet].* 2001; 10(6): 589–593.
25. Boardman JD, Blalock CL, Pampel FC, Hatemi PK, Heath AC, Eaves LJ. Population Composition, Public Policy, and the Genetics of Smoking. *Demography.* 2011; 48(4): 1517–1533.
26. Benowitz NL, Hukkanen J, Jacob P. Nicotine chemistry, metabolism, kinetics and biomarkers. *Handb Exp Pharmacol.* 2009; (192): 29–60.
27. Zhu AZX, Binnington MJ, Renner CC, Lanier AP, Hatsukami DK, Stepanov I, et al. Alaska Native smokers and smokeless tobacco users with slower CYP2A6 activity have lower tobacco consumption, lower tobacco-specific nitrosamine exposure and lower tobacco-specific nitrosamine bioactivation. *Carcinogenesis.* 2013; 34(1): 93–101.
28. Yamanaka H, Nakajima M, Nishimura K, Yoshida R, Fukami T, Katoh M, et al. Metabolic profile of nicotine in subjects whose CYP2A6 gene is deleted. *Eur J Pharm Sci.* 2004; 22(5): 419–425.
29. Yoshida R, Nakajima M, Watanabe Y, Kwon JT, Yokoi T. Genetic polymorphisms in human CYP2A6 gene causing impaired nicotine metabolism. *Br J Clin Pharmacol.* 2002; 54(5): 511–517.
30. O'Loughlin J, Paradis G, Kim W, DiFranza J, Meshfedjian G, McMillan-Davey E, et al. Genetically decreased CYP2A6 and the risk of tobacco dependence: a prospective study of novice smokers. *Tob Control.* 2004; 13(4): 422–428.
31. Vasconcelos GM, Struchiner CJ, Suarez-Kurtz G. CYP2A6 genetic polymorphisms and correlation with smoking status in Brazilians. *Pharmacogenomics J.* 2005; 5(1): 42–48.
32. Chenoweth MJ, O'Loughlin J, Sylvestre M-P, Tyndale RF. CYP2A6 slow nicotine metabolism is associated with increased quitting by adolescent smokers. *Pharmacogenet Genomics.* 2013; 23(4): 232–235.
33. Benowitz, Neal L. Burbank AD. Cardiovascular Toxicity of Nicotine: Implications for Electronic Cigarette Use. *Trend Cardiovasc Med.* 2016; 26(6): 515–523.
34. Bajaj M. Nicotine and Insulin Resistance: When the Smoke Clears. *Diabetes.* 2012; 61(12): 3078–3080.
35. Liu T, Chen W-Q, David SP, Tyndale RF, Wang



- H, Chen Y-M, et al. Interaction between heavy smoking and CYP2A6 genotypes on type 2 diabetes and its possible pathways. *Eur J Endocrinol.* 2011; 165(6): 961–967.
36. Borowitz JL, Isom GE. Nicotine and Type 2 Diabetes. *Toxicol Sci.* 2008; 103(2): 225–227.
37. Jensen K, Afroze S, Munshi MK, Guerrier M, Glaser SS. Mechanisms for nicotine in the development and progression of gastrointestinal cancers. *Transl Gastrointest Cancer.* 2012; 1(1): 81–87.
38. Warren GW, Singh AK. Nicotine and lung cancer. *J Carcinog.* 2013; 12: 1-13.
39. Singh S, Pillai S, Chellappan S. Nicotinic acetylcholine receptor signaling in tumor growth and metastasis. *J Oncol.* 2011; 1–11.
40. Ando M, Hamajima N, Ariyoshi N, Kamataki T, Matsuo K, Ohno Y. Association of CYP2A6 gene deletion with cigarette smoking status in Japanese adults. *J Epidemiol.* 2003; 13(3): 176–181.