

## INTISARI

Sitokrom P450 2A6 CYP2A6 merupakan salah satu bentuk enzim yang mempunyai bentuk polimorfi dan bertanggungjawab pada beberapa reaksi oksidasi beberapa senyawa prokarsinogen, obat serta nikotin. Studi polimorfi dapat dilakukan melalui studi genotipe dan fenotipe. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui polimorfisme enzim CYP2A6 pada etnis Jawa di Indonesia. Pada studi genotipe dilakukan identifikasi alel CYP2A6\*1 (*wild type*) dan CYP2A6\*4 (tipe non aktif); sedangkan pada studi fenotipe dilakukan menentukan aktivitas enzim. Nikotin pada sistem metabolisme dapat diubah menjadi bentuk kotinin oleh CYP2A6. Kotinin selanjutnya dimetabolisme oleh CYP2A6 menjadi *trans*-3,-hidroksikotinin. Aktivitas CYP2A6 dilakukan melalui perhitungan rasio kadar kotinin dan 3-hidroksikotinin (NMR: *Nicotine Metabolite Ratio*). Adanya alel CYP2A6\*4 akan menurunkan aktivitas CYP2A6.

Penelitian merupakan penelitian observasional analitik dengan rancangan penelitian *cross sectional*. Penelitian berlangsung dalam dua tahap, yaitu (a) studi genotipe pada 100 subyek uji (50 orang bukan perokok dan 50 orang perokok) yang dilakukan dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP) untuk mengidentifikasi alel CYP2A6\*1 dan CYP2A6\*4; (b) pengukuran Cot dan 3-OH Cot dari sampel urin terhadap 50 orang subyek uji perokok yang dilakukan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi fase terbalik menggunakan kolom oktil silika (C8; Shimadzu 250×4,6 mm, 5µm) *fully endcapped residual silanol*; fase gerak campuran metanol : amonium asetat 5mM (50:50) pada kecepatan alir 0,8 mL/mnt; detektor UV 260 nm serta menggunakan asetanilid sebagai standar internal (SI).

Pada suku Jawa Indonesia yang diteliti terdapat bentuk polimorfi CYP2A6, dimana frekuensi alel CYP2A6\*4 adalah tinggi (52,5%) sedangkan frekuensi alel CYP2A6 sebesar 47,5%. Genotipe CYP2A6 pada subyek uji non perokok dan perokok adalah sama yaitu heterosigot alel CYP2A6\*1/\*4, dimana tidak ditemukan bentuk homozigot dari alel CYP2A6\*1 pada kedua kelompok subyek uji. Aktivitas enzim CYP2A6 yang ditunjukkan dengan parameter NMR mempunyai hubungan yang positif dengan jumlah rokok yang dihisap per-hari (*cigarettes smoked per day*/CPD) ( $r = 0,327$ ;  $p = 0,020$ ). Sebagian besar subyek uji perokok teridentifikasi sebagai *slower metabolizer*, baik berdasarkan data genotipe maupun fenotipe.

### Katakunci:

Polimorfisme, Kotinine, *trans*-3'-Hidroksikotinin, CYP2A6\*1, CYP2A6\*4, NMR.

## ABSTRACT

Cytochrome P450 2A6 (CYP2A6) is a polymorphic enzyme responsible for the oxidation of certain precarcinogens and drugs and is the major nicotine C-oxidase. Polymorphisms were observed at the genotype and phenotype level. The main aim of the study was to investigate the polymorphism of cytochrome P450 2A6 (CYP2A6) in the Javanese Indonesian population. In the genotyping study, alleles CYP2A6\*1 (wild type) and CYP2A6\*4 (CYP2A6~~del~~) were identified, whereas the enzyme activity were investigated in the phenotyping study. Nicotine is metabolized extensively by the liver enzyme CYP2A6, primarily to cotinine (Cot). Cotinine is itself metabolized by CYP2A6 to *trans*-3'-hydroxycotinine (3-OH Cot). The ratio of 3-OH Cot:Cot (NMR: Nicotine Metabolite Ratio) would be expected to reflect CYP2A6 activity. Allel CYP2A6\*4 was responsible for the lack of CYP2A6.

These research was analytical observational with cross sectional design. The procedure involved (a) genotyping 100 participants (50 non smokers and 50 smokers) for cytochrome P-450 2A6 (CYP2A6) gene variants, which were done by a single polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) to resolve the genotypes into CYP2A6\*1 and CYP2A6\*4; and (b) measuring urinary Cot and 3-OH Cot in 50 smokers which were done by High Performance liquid Chromatography (HPLC) used a reversed-phase octyl silica column (C8; Shimadzu 250 × 4.6 mm, 5µm) fully endcapped residual silanol and UV detector 260 nm. The mobile phase that can separate COT, 3-HCOT and SI was methanol : ammonium acetate 5mM (50:50) at a flow rate 0.8 ml / min. The internal standard solution (SI) was acetanilide.

The polymorphism of CYP2A6 were detected in among Javanese population sample study and the allele frequencies of CYP2A6\*4 were high (52.5%) whereas the allele frequencies of CYP2A6\*1 were 47.5%. All of the participants were genotype for CYP2A6\*1/\*4 and there was no homozygote of wild type. The CYP2A6 enzyme activity reflect by NMR has a positive correlation with the number of cigarettes smoked per day (CPD) ( $r = 0.327$ ,  $p = 0.020$ ). Based on genotyping and phenotyping studi, most of participants were identified as slower metabolizers.

### Keywords:

Polymorphism, Cotinine; *trans*-3'-Hidroxicotinine, CYP2A6\*1, CYP2A6\*4, NMR.