

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Merokok

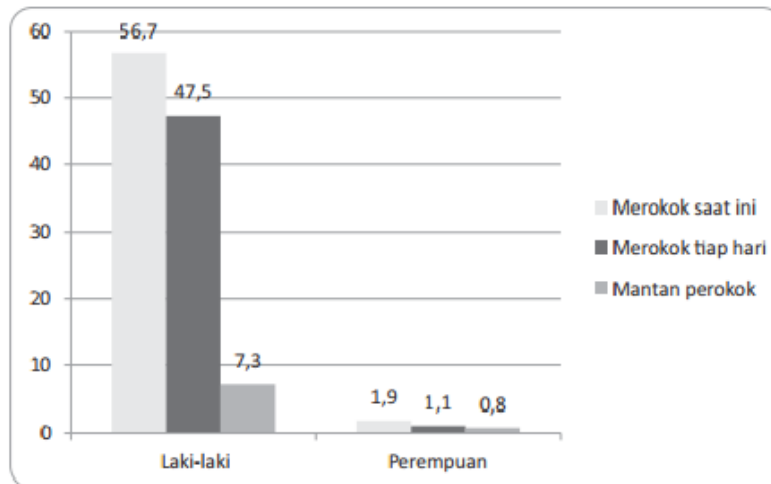
2.1.1 Demografi Perokok

Peningkatan konsumsi rokok terjadi terutama di negara berkembang secara global. Meskipun bahaya rokok sudah banyak diinformasikan namun jumlah perokok di Indonesia tidak menurun, bahkan ada kecenderungan meningkat setiap tahun. Pada tahun 2009, jumlah perokok aktif di Indonesia terbanyak ketiga di dunia setelah Tiongkok dan India serta Indonesia merupakan negara yang memiliki jumlah perokok remaja terbanyak di dunia.⁴

Menurut lokasinya, jumlah batang rokok yang dikonsumsi di daerah pedesaan sedikit lebih banyak dibandingkan dengan daerah perkotaan, baik pada laki-laki maupun perempuan. Gambaran ini kemungkinan berkaitan dengan kebiasaan masyarakat pedesaan tertentu di Indonesia yang mengonsumsi tembakau kunyah, yang umumnya dilakukan oleh kelompok usia lanjut. Sedangkan untuk tingkat pendidikan dan status ekonomi, secara umum dapat dikatakan prevalensi merokok lebih tinggi pada penduduk dengan tingkat pendidikan dan tingkat pendapatan yang rendah.^{5,21}

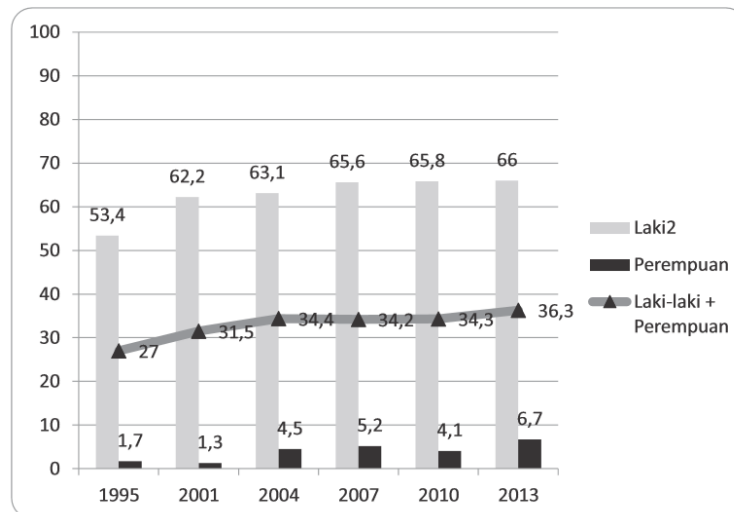
Riset Kesehatan Dasar tahun 2013 mengemukakan bahwa berdasarkan jenis kelamin, persentase mulai mengonsumsi tembakau pada laki-laki sangat tinggi pada kelompok usia antara 15-19 tahun (57,3%). Sementara bagi perempuan, persentase tersebut sangat tinggi pada kelompok usia 30 tahun ke atas (31,5%).⁵ Hal ini sejalan

dengan fakta bahwa hampir setengah perokok berusia sekitar 20-40 tahun, dengan perincian 26% perokok berusia 30-39 tahun dan 24% perokok berusia 20-29 tahun.⁴



Gambar 1. Prevalensi Merokok Saat Ini, Merokok Setiap Hari, dan Mantan Perokok Setiap Hari berdasarkan Jenis Kelamin pada Populasi Usia ≥ 10 Tahun di Indonesia Tahun 2013 ²²

Mayoritas perokok di Indonesia adalah laki-laki. Pada tahun 2015 berdasarkan data dari Badan Pusat Statistik, sebanyak 97% perokok di Indonesia merupakan laki-laki. Jumlah perokok perempuan tercatat sebesar 3% dari seluruh perokok di Indonesia.⁴ Jika dilihat lebih lanjut, menurut Kemenkes RI pada tahun 2013 proporsi laki-laki yang mengonsumsi tembakau hisap lebih besar daripada tembakau kunyah (64,9% dan 1,1%). Pola sebaliknya nampak pada perempuan, dimana proporsi perempuan mengonsumsi tembakau kunyah lebih banyak 2 kali lipat dibandingkan perempuan mengonsumsi tembakau hisap (4,6% dan 2,1%).



Gambar 2. Prevalensi Konsumsi Tembakau Penduduk Umur > 15 Tahun berdasarkan Jenis Kelamin di Indonesia Tahun 1995, 2001, 2004, 2007, 2010, dan 2013. ²²

*) data 2007, 2010, dan 2013 tembakau hisap dan kunyah

Menurut wilayah tahun 2013, Provinsi Jawa Barat adalah provinsi dengan prevalensi merokok tertinggi di Indonesia (32,7%) dan melebihi angka nasional sebesar 29,3%, sedangkan prevalensi merokok terendah adalah Provinsi Papua (21,9%). Terdapat 13 provinsi dari 33 provinsi yang mempunyai rata-rata prevalensi merokok lebih dari rata-rata nasional. Jawa Tengah sendiri berada di posisi ke-6 di bawah rata-rata nasional (29,3%). Prevalensi merokok berdasarkan jenis kelamin di Jawa Tengah untuk perokok laki-laki yaitu 55,9% dan perokok wanita yaitu 1,2%. Sedangkan berdasarkan usianya, Jawa Tengah memiliki prevalensi sebanyak 28,2% perokok umur ≥ 10 tahun. ²²

Penelitian ini mengambil rentang usia dewasa muda (18-35 tahun) oleh karena sebagian besar populasi perokok merupakan remaja hingga dewasa muda.

Adapun pemilihan laki-laki sebagai jenis kelamin sampel didasarkan atas fakta bahwa sebagian besar perokok di Indonesia adalah laki-laki.⁴

2.1.2 Definisi

Merokok menurut Kamus Besar Bahasa Indonesia adalah aktivitas menghisap rokok. Rokok sendiri merupakan gulungan tembakau berukuran kira-kira sebesar kelingking yang dibungkus daun nipah ataupun kertas.²³ Adapun definisi perokok sekarang menurut WHO adalah mereka yang merokok setiap hari untuk jangka waktu minimal 6 bulan selama hidupnya masih merokok saat survei dilakukan.²⁴

Dalam Peraturan Pemerintah Nomor 109 Tahun 2012 tentang Pengamanan Bahan yang Mengandung Zat Adiktif Berupa Produk Tembakau Bagi Kesehatan, rokok adalah salah satu produk tembakau yang dimaksudkan untuk dibakar dan dihisap dan/atau dihirup asapnya, termasuk rokok kretek, rokok putih, cerutu atau bentuk lainnya yang dihasilkan dari tanaman *Nicotiana tabacum*, *Nicotiana rustica*, dan spesies lainnya atau sintetisnya yang asapnya mengandung nikotin dan tar, dengan atau tanpa bahan tambahan.²⁵

Sitepoe mendefinisikan merokok adalah membakar tembakau yang kemudian diisap isinya, baik menggunakan media rokok maupun pipa (cangklong), sedangkan Levy mendefinisikan merokok sebagai kegiatan membakar dan menghisap rokok serta menimbulkan asap yang dapat terhisap oleh orang-orang di sekitarnya.⁷ Definisi berbeda dikemukakan oleh Armstrong yang mendeskripsikan merokok sebagai kegiatan menghisap asap tembakau dan menghembuskannya kembali

keluar.²⁶ Berdasarkan definisi-definisi di atas, dapat disimpulkan bahwa merokok adalah suatu kegiatan membakar rokok dan kemudian menghisapnya serta menghembuskannya keluar melalui hidung dan/atau mulut, dengan tujuan untuk mendapatkan sebuah kenikmatan tertentu, serta dapat menimbulkan asap yang dapat terhirup oleh orang-orang di sekitarnya.

2.1.3 Klasifikasi Perokok

Tingkatan merokok pada perokok berbeda-beda tergantung dari frekuensi seseorang itu merokok, jumlah rokok yang dihisapnya, dan lamanya merokok. Namun perlu diketahui bahwa seseorang dikatakan perokok jika ia memiliki kebiasaan merokok minimal 4 batang per hari juga telah menghisap 100 batang rokok selama hidupnya.²⁷

Perokok dapat diklasifikasikan dengan beberapa cara berdasarkan jumlah rokok yang dikonsumsi. Salah satunya adalah yang dilakukan oleh Sitepoe pada tahun 1999. Klasifikasi Sitepoe membagi perokok menjadi perokok ringan dengan jumlah konsumsi 1 hingga 10 batang per hari, perokok sedang dengan jumlah konsumsi 11 hingga 24 batang per hari, serta perokok berat dengan konsumsi lebih dari 24 batang per hari.²⁸ Klasifikasi yang senada lainnya menurut jumlah rokok yang dikonsumsi yaitu klasifikasi Bustan pada tahun 2007. Bustan membagi perokok dibagi atas tiga kategori, yaitu ringan (1-10 batang per hari), sedang (11-20 batang per hari) dan berat (lebih dari 20 batang per hari).²⁹

Hal senada dikemukakan pula oleh Smet (1994) dalam Nasution (2007), namun Smet menggunakan kriteria jumlah yang lebih rendah dibanding Sitepoe dan

Bustan. Smet mengklasifikasikan perokok ringan sebagai perokok dengan jumlah konsumsi 1-4 batang rokok per hari, perokok sedang sebagai perokok dengan jumlah konsumsi 5-14 batang rokok per hari, serta perokok berat dengan jumlah konsumsi lebih dari 15 batang per hari.²⁶

Penggunaan jumlah rokok yang dikonsumsi sebagai dasar klasifikasi juga dilakukan oleh Mu'tadin, dengan penambahan intensitas atau waktu merokok sebagai dasar klasifikasi. Mu'tadin membagi perokok menjadi empat golongan, perokok ringan, perokok sedang, perokok berat dan perokok sangat berat. Perokok ringan adalah perokok yang jarang mengonsumsi rokok yaitu sekitar 10 batang per hari dengan selang waktu 60 menit dari bangun tidur pagi. Perokok sedang adalah perokok yang mengonsumsi rokok cukup yaitu 11-21 batang per hari dengan selang waktu 31-60 menit mulai bangun tidur pagi hari. Perokok berat adalah perokok yang menghabiskan 21-30 batang rokok setiap hari dengan selang waktu merokok berkisar 6-30 menit setelah bangun tidur pagi hari. Sedangkan perokok sangat berat adalah perokok yang mengonsumsi rokok sangat sering yaitu merokok lebih dari 31 batang setiap harinya dengan dengan selang waktu merokok lima menit setelah bangun tidur pagi hari.³⁰

Selain klasifikasi menurut jumlah perokok, terdapat pula klasifikasi merokok lainnya yang didasarkan terhadap jumlah batang rokok yang dikonsumsi per hari dikalikan dengan berapa lama subjek tersebut dalam tahun telah merokok sepanjang hidupnya. Klasifikasi tersebut menggunakan indeks Brinkman. Derajat merokok menurut Indeks Brinkman adalah hasil perkalian antara lama merokok dengan rata-rata jumlah rokok yang dihisap perhari. Jika hasilnya kurang dari 200 dikatakan

perokok ringan, jika hasilnya antara 200 – 599 dikatakan perokok sedang dan jika hasilnya lebih dari 600 dikatakan perokok berat. Semakin lama seseorang merokok dan semakin banyak rokok yang dihisap perhari, maka derajat merokok akan semakin berat.³¹

Secara ringkas, kelima klasifikasi ini dapat diperbandingkan sebagai berikut:

Tabel 2. *Klasifikasi Perokok*

Kategori Klasifikasi Perokok	Indeks Brinkman	Klasifikasi menurut Sitepoe	Klasifikasi menurut Bustan	Klasifikasi menurut Smet	Klasifikasi menurut Mu'tadin
Perokok Ringan	Indeks Brinkman 0-199 poin	1-10 batang per hari	1-10 batang per hari	1-4 batang per hari	Sekitar 10 batang per hari, selang waktu 60 menit setelah bangun tidur
Perokok Sedang	Indeks Brinkman 200-599 poin	11-24 batang per hari	11-20 batang per hari	5-14 batang per hari	11-21 batang rokok per hari, selang waktu 31-60 menit setelah bangun tidur
Perokok Berat	Indeks Brinkman lebih dari 600 poin	Lebih dari 24 batang per hari	Lebih dari 20 batang per hari	Lebih dari 15 batang per hari	21-30 batang rokok per hari, selang waktu 6-30 menit setelah bangun tidur
Perokok Sangat Berat	-	-	-	-	Lebih dari 31 batang rokok per hari, selang waktu lima menit setelah bangun tidur

2.1.4 Klasifikasi rokok

Rokok yang dikonsumsi oleh perokok dapat diklasifikasikan berdasarkan proses pembuatannya, bahan pembungkusnya, penggunaan filter pada rokok, serta bahan baku dan isi dari rokok tersebut. Hal ini penting dimengerti terkait konsumsi dan penggunaan rokok yang berbeda-beda bergantung pada faktor-faktor tersebut. Klasifikasi rokok berdasarkan proses pembuatannya dapat dilihat pada Tabel 2, sedangkan berdasarkan bahan pembungkusnya dapat dilihat pada Tabel 3. Klasifikasi rokok menurut penggunaan filter dapat dilihat pada Tabel 4 serta klasifikasi rokok menurut bahan baku dan isi rokok dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 3. Klasifikasi rokok menurut proses pembuatannya. ²⁴

Jenis Rokok	Proses Pembuatan
Sigaret kretek tangan (SKT)	Rokok yang proses pembuatannya dengan cara dilinting menggunakan tangan dan alat bantu sederhana. Pada SKT terdapat perbedaan diameter pangkal dengan diameter ujung SKT
Sigaret kretek mesin (SKM)	Rokok yang proses pembuatannya menggunakan mesin yang memproses bahan baku rokok menjadi rokok batangan secara otomatis. Pada SKM, lingkaran pangkal rokok dan lingkaran ujung rokok sama besar.

Sigaret Kretek Mesin (SKM) sendiri dapat dikategorikan kedalam 2 bagian :

1. Sigaret Kretek Mesin Full Flavor (SKM FF): rokok yang dalam proses pembuatannya ditambahkan aroma rasa yang khas. Contoh: Gudang Garam International, Djarum Super dan lain-lain.
2. Sigaret Kretek Mesin Light Mild (SKM LM): rokok mesin yang menggunakan kandungan tar dan nikotin yang rendah. Rokok jenis ini jarang menggunakan

aroma yang khas. Contoh: A Mild, Clas Mild, Star Mild, U Mild, L.A. Lights, Surya Slims dan lain-lain.

Tabel 4. Klasifikasi rokok menurut bahan pembungkusnya.²⁸

Jenis Rokok	Bahan Pembungkus
<i>Klobot</i>	Daun jagung
<i>Kawung</i>	Daun aren
Sigaret	Kertas
Cerutu	Tembakau
Rokok nipah	Daun nipah

Tabel 5. Klasifikasi rokok menurut penggunaan filter.³²

Jenis Rokok	Proses Pembuatan
Rokok Filter	Rokok yang dilengkapi gabus sebagai filter pada bagian pangkal dari rokok.
Rokok Non Filter	Rokok yang tidak dilengkapi gabus sebagai filter pada bagian pangkal dari rokok.

Tabel 6. Klasifikasi rokok menurut bahan baku dan isi.^{28,32,33}

Jenis Rokok	Proses Pembuatan
Rokok Putih	Rokok yang bahan baku atau isinya hanya berisi daun tembakau yang diberi saus untuk mendapatkan efek rasa dan aroma tertentu. Rokok putih mengandung 14-15 mg tar dan 5 mg nikotin.
Rokok Kretek	Rokok dengan atau tanpa filter yang isinya berupa tembakau rajangan yang dicampur dengan cengkeh rajangan serta saus dan dibungkus dalam kertas sigaret. Rokok kretek mengandung sekitar 20 mg tar dan 4445 mg nikotin
Rokok Kelembak	Rokok yang bahan baku atau isinya berupa daun tembakau, cengkeh, dan kemenyan yang diberi saus untuk mendapatkan efek rasa dan aroma tertentu, populer di lingkungan Jawa.

Rokok kretek dan rokok putih berbeda dari segi bahan, rasa, maupun dampak terhadap kesehatan. Rokok kretek memiliki zat-zat yang lebih banyak dalam asap fase partikulatnya dibandingkan rokok putih, diantaranya eugenol (minyak cengkeh) yang memiliki efek anti-inflamasi melalui penghambatan jalur sintase

prostaglandin, anestesi oral, serta antibakteri. Zat-zat tersebut tidak memiliki efek yang buruk dalam jumlah sedikit, namun jika dikonsumsi dalam jangka waktu panjang dan konsentrasi tinggi akan menimbulkan nekrosis.³⁴ Selain dampak tersebut, eugenol juga ditemukan dapat meningkatkan adiksi dari merokok. Rokok kretek memiliki kadar nikotin lima kali lipat lebih banyak, kadar tar tiga kali lipat lebih banyak, serta kadar karbon monoksida 30% lebih banyak dibandingkan rokok putih.³³

2.1.5 Kandungan dalam Rokok dan Keterkaitannya dengan Kesehatan

Penelitian menunjukkan terdapat lebih dari 5000 senyawa kimia yang toksik dan karsinogenik dalam asap rokok. Senyawa tersebut diperkirakan sebagai sumber paparan kimiawi yang menyebabkan beberapa penyakit yang terkait rokok. Penyakit mematikan yang terjadi akibat rokok terbanyak yaitu seperti penyakit kardiovaskuler, penyakit paru obstruktif kronik, dan kanker.³⁵ Bahan-bahan aditif yang mengandung hampir 600 senyawa secara keseluruhan dalam proses pembuatan rokok juga dapat ditambahkan oleh perusahaan rokok.³⁶ Rokok juga dapat mengandung pestisida dan bahan kimia agrikultural seperti pupuk yang digunakan dalam proses penanaman tembakau, namun kadarnya berbeda-beda tergantung lokasi dan waktu penanaman tembakau.³⁷

Asap rokok adalah campuran yang kompleks dan dinamis dari komponen-komponen kimia yang terikat atau tergabung dalam partikel-partikel aerosol atau partikel bebas yang berada dalam fase gas, yang timbul sebagai akibat dari distilasi, pirolisis dan pembakaran dari tembakau.³⁶ Konstituen rokok adalah bahan yang

timbul pada saat pembakaran rokok. Konstituen inilah yang selanjutnya akan disebut sebagai asap rokok. Asap rokok merupakan petanda dari dimulainya proses pembakaran tembakau dan bahan-bahan penyusun rokok lainnya seperti kertas dan saus. Asap rokok terbagi menjadi *mainstream smoke* (asap aliran utama) serta *sidestream smoke* (asap aliran sisi).³⁸ *Mainstream smoke* merupakan asap yang dihirup oleh perokok melalui ujung pipa rokok atau batang rokok dan kemudian dihembuskan, sedangkan *sidestream smoke* adalah asap yang dihembuskan ke udara sekitarnya yang berasal dari antara isapan dan ujung rokok yang menyala.³⁹

Orang yang merokok jelas merupakan perokok aktif, sedangkan yang dimaksud dengan perokok pasif adalah orang-orang yang tidak merokok tetapi secara tidak sengaja ikut menghirup atau menghisap asap rokok disekitar perokok. Perokok pasif lebih berisiko daripada perokok aktif. Hal ini disebabkan karena perokok pasif menerima atau menghisap asap rokok dari aliran utama yang dikeluarkan oleh perokok dan asap aliran sisi yang keluar dari ujung rokok yang dibakar. Rasio banyaknya komponen zat kimia antara *sidestream smoke* dan *mainstream smoke* dapat berubah tergantung dari campuran bahan, dimensi/ukuran rokok, massa batang, dan adanya filter serta tipe filter. Studi menunjukkan bahwa rokok dengan filter akan menurunkan jumlah *mainstream smoke*, namun *sidestream smoke* akan tetap sama meskipun dengan desain rokok yang berbeda.^{38,40}

Sidestream smoke lebih toksik dibandingkan *mainstream smoke* oleh karena *sidestream smoke* mengandung lebih banyak bahan kimia organik dibanding *mainstream smoke*.⁴¹ *Sidestream smoke* ini mengandung 2 kali lebih banyak nikotin, 3 kali lebih tar, 5 kali lebih banyak karbonmonoksida dibandingkan dengan

mainstream smoke.⁴⁰ Studi yang sudah ada juga menunjukkan *sidestream smoke* mengandung lebih banyak kadar PAH, nitrosamin, aza-arene, amina aromatik, piridin, dan komponen fase gas seperti 1,3-butadiena, akrolein, isoprena, benzena, dan toluena. *Sidestream smoke* juga distudi lain mengandung lebih tinggi komponen senyawa semi-volatilnya seperti fenol, kresol, xilenol, guiacol, asam format, dan asam asetat. Meskipun demikian, ada beberapa zat kimia juga yang ditemukan lebih tinggi kadarnya pada *mainstream smoke* dibandingkan *sidestream smoke* yaitu sianida, catechol, dan hidrokuinon.³⁸

Konstituen dalam rokok dapat berupa fase partikulat (padat), fase gas, atau keduanya. *Mainstream smoke* dan *sidestream smoke* terbagi menjadi fase partikulat (padat) yang berisi tar, serta fase gas yang berisi gas toksik, komponen organik volatil, ROS, serta radikal bebas.⁴² Fase partikulat juga termasuk asam karbosilik, fenol, air, zat humektan, nikotin, terpenoid, parafin, *tobacco-specific nitrosamines* (TSNAs), PAHs, dan katekol. Fase gas mengandung gas dan konstituen kimia yang mudah menguap dan menetap menjadi fase gas dengan melewati filter. Namun ketika filter menjadi lembab setelah hisapan pertama, zat-zat hidrofilik lebih cenderung menempel pada filter. Fase gas dari asap rokok yaitu mengandung gas nitrogen (N_2), oksigen (O_2), karbondioksida (CO_2), CO, asetaldehida, metana, hidrogen sianida (HCN), asam nitrit, aseton, akrolein, ammonia (NH_3), metanol, hidrogen sulfida (H_2S), hidrokarbon, nitrosamin fase gas, dan senyawa karbonil.^{38,39} Radikal bebas banyak terdapat pada fase padat, sedangkan *reactive oxygen species* (ROS) banyak terdapat pada fase gas. Radikal bebas dan ROS pada fase gas *sidestream smoke* terus-menerus diproduksi selama pembakaran rokok dan

konsentrasinya semakin meningkat seiring semakin pendeknya rokok. ROS dalam asap rokok dihasilkan dalam proses pembakaran rokok, sebab ROS tidak ditemukan dalam daun tembakau itu sendiri maupun dalam abu rokok.^{43,44}

Konstituen utama dari asap rokok dalam fase gas adalah karbon monoksida (CO) yang terdapat hingga 23 miligram pada asap yang dihasilkan oleh sebatang rokok. Hemoglobin akan mengikat karbon monoksida lebih banyak dibandingkan oksigen karena afinitasnya yang 245 kali lipat lebih tinggi dan membentuk karboksihemoglobin (COHb) dibandingkan dengan oksigen. Hal ini berdampak pada respirasi, khususnya respirasi sel yang terhambat oleh karena berkurangnya oksigen yang dibawa oleh hemoglobin ke jaringan perifer. CO juga dapat merusak lapisan dalam pembuluh darah dan meninggikan endapan lemak pada dinding pembuluh darah, menyebabkan pembuluh darah tersumbat. Selain itu pada perokok (termasuk perokok pasif), dapat terjadi mekanisme aktivasi keping darah yang berperan terbentuknya plak aterosklerotik terutama pada pasien penyakit jantung koroner.^{38,45}

Daun tembakau mengandung banyak senyawa alkaloid. Nikotin adalah salah satu senyawa alkaloid yang paling berlimpah dalam daun tembakau. Senyawa nikotin lainnya yaitu *anatabine*, *anabasine*, *nornicotine*, *N-methylanabasine*, *anabaseine*, *nicotine*, *nicotine N'-oxide*, *myosmine*, β -*nicotyrine*, *cotinine*, and *2,3'-bipyridyl*. Dalam sebatang rokok non-filter, terdapat pula hingga 3 miligram nikotin yang dapat menginduksi ketergantungan pengguna rokok. Nikotin dapat menyebabkan adiksi karena bagian molekulnya menyerupai asetilkolin, salah satu neurotransmitter di otak.^{38,46}

Hidrogen sianida juga terdapat dalam jumlah yang cukup besar dalam rokok, hingga 500 mikrogram. Hidrogen sianida memiliki efek siliatoksik (beracun terhadap silia/rambut halus pada traktus pernapasan) sehingga dapat menghambat klirens paru-paru.⁴⁷ Selain ketiga senyawa tersebut, senyawa lain yang terdapat dalam rokok adalah amonia dan piridin yang bersifat mengiritasi saluran pernapasan, nitrogen oksida yang dapat membuat peradangan paru, serta anilin yang menghambat respirasi dengan cara bergabung dengan hemoglobin membentuk methemoglobin.^{38,47}

Peneliti menemukan bahwa 1,3-butadiena adalah senyawa yang paling signifikan sebagai risiko kanker.³⁸ Senyawa penyebab kanker lainnya diperankan oleh fenol, katekol, maleik hidrasid, serta hidrokarbon aromatik polisiklik (PAH) seperti benz(*a*)antrasenen, benzo(*a*)piren, dibenzo(*a,e*)piren, serta 5-metilkrisen. Maleik hidrasid berperan sebagai agen mutagenik, serta fenol dan katekol berperan sebagai senyawa pemicu tumor (tumor promoter) dan kokarsinogen pada hewan coba. Terdapat pula N-nitrosamin, senyawa heterosiklik seperti kuinolin dan furan, aldehid (termasuk formaldehid dan asetaldehid), hidrokarbon volatil, asam kafeik, dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT), serta amina aromatik. Bukti karsinogenitas pada manusia yang tinggi dimiliki oleh 2-naftilamin dan 4-aminobifenil yang termasuk dalam golongan amina aromatik, benzena yang termasuk dalam golongan hidrokarbon volatil, vinil klorida, serta senyawa anorganik seperti berilium, nikel, kromium, kadmium, dan polonium-210. Zat-zat lainnya hanya memiliki bukti karsinogenitas tinggi pada hewan coba, namun tidak pada manusia.^{37,38,43}

Tabel 7. Kandungan Asap Rokok³⁷

Fase Partikulat	Pengaruh pada Tubuh	Fase Gas	Pengaruh pada Tubuh
Tar	Mutagenik/ karsinogenik	Karbon monoksida	Gangguan pengikatan oksigen pada hemoglobin
Nikotin	Stimulator/depresor <i>dose dependent</i> pada reseptor parasimpatis N-kolinergik	Oksida nitrogen	Iritan, pro-inflamator, silitotoksik
Aromatik hidrokarbon	Mutagenik/ karsinogenik	Acetal-dehyde	Iritan, pro-inflamator, sitotoksik
Fenol	Iritan, mutagenik/ karsinogenik	<i>Hydrocyanic acid</i>	Iritan, pro-inflamator, sitotoksik
Kresol	Iritan, mutagenik/ karsinogenik	<i>Acrolein</i>	Iritan, pro-inflamator, sitotoksik
<i>B-naphthylamine</i>	Mutagenik/ karsinogenik	Amonia	Iritan, pro-inflamator, sitotoksik
<i>Benzo alpha pyrene</i>	Mutagenik/ karsinogenik	Nitrosamine	Mutagenik/karsinogenik
Catechol	Mutagenik/ karsinogenik	Hidrazin	Mutagenik/karsinogenik
Indol	<i>Tumor acceleration</i>	<i>Vynil Chloride</i>	Mutagenik/karsinogenik
<i>Carbazole</i>	<i>Tumor acceleration</i>		

2.2 Peningkatan stres oksidatif pada perokok

Pada saat pembakaran rokok akan terbentuk arang panas pada bagian belakang nyala api, yang menyebabkan suhu tembakau meningkat dengan cepat. Pembakaran dan peningkatan suhu yang cepat pada arang menyebabkan penurunan jumlah oksigen, sehingga asap rokok hasil pembakaran mengandung oksigen yang sangat rendah yang berpotensi membentuk zat oksidan.⁴¹

Terdapat senyawa-senyawa kimia yang memiliki efek karsinogenik, oksidator, dan inflamator yang timbul saat pembakaran rokok. Oksidan dalam asap

rokok akan menginduksi terjadinya sekuestrasi mediator inflamasi, khususnya neutrofil dan monosit pada paru-paru. Neutrofilik granulosit bersama-sama dengan sel mediator inflamasi lainnya akan memproduksi anion O_2^- yang terikat pada membran dan menurunkan *nicotinamideadenine dinucleotide phosphate-oxidase* dan bertransformasi menjadi oksidan agresif seperti hidrogen peroksida.³⁷ Oksidan tersebut akan mengakibatkan kerusakan oksidatif yang akan bermanifestasi pada kerusakan matriks ekstraseluler dan sel-sel paru.

Zat oksidan hasil pembakaran rokok tersebut dalam bentuk ROS dan *reactive nitrogen species* (RNS) akan menimbulkan kerusakan oksidatif pada lemak, protein, serta *deoxyribonucleic acid* (DNA) perokok. Selain itu, ROS dan RNS akan mengaktifkan reaksi redoks yang merangsang respons seluler berupa inflamasi. Inflamasi akan menghasilkan zat oksidatif endogen yang semakin memperparah kerusakan pada komponen tubuh. Kerusakan ini bermanifestasi dalam berbagai hal, termasuk adanya kelainan pada struktur bronkial paru.^{42, 48}

Radikal bebas dapat terbentuk oleh karena pembakaran tembakau dalam rokok, dan dapat dinetralkan oleh metaloenzim seperti *glutathione peroxidase* (GPX), katalase, serta *superoxide dismutase* (SOD) serta sistem pertahanan antioksidan non-enzimatik seperti tokoferol (vitamin E), beta karoten, ubikuinon, vitamin C, *glutathione*, asam lipoat, asam urat, metalotionein, dan bilirubin. Vitamin C dan E bertindak sebagai *scavenger* radikal bebas yang dapat mereduksi radikal bebas dengan mendonorkan elektron.⁴⁹ Radikal bebas juga dapat memberikan keuntungan dalam bentuk peningkatan sitotoksitas leukosit PMN, makrofag, dan monosit dalam proses *respiratory burst*.⁵⁰

2.3 Eritrosit

2.3.1 Definisi

Eritrosit merupakan sel terbanyak di dalam darah. Sel ini mengandung senyawa protein yaitu globin yang dikonjugasikan dengan pigmen hem membentuk hemoglobin. Salah satu fungsi eritrosit yaitu sebagai transportasi oksigen ke jaringan-jaringan tubuh. Eritrosit mempunyai masa hidup dalam peredaran darah tepi selama 100-120 hari, dan sebanyak 1% dari total eritrosit dalam setiap harinya mengalami destruksi.

Sel darah merah yang matang sangat mudah dikenali disebabkan oleh morfologinya yang unik. Sediaan apus darah pada keadaan normal memperlihatkan eritrosit sebagai sel bulat tidak berinti. Bila dilihat tegak lurus eritrosit berbentuk bikonkaf dengan diameter 7,5 – 8 mikrometer, ketebalan pada bagian yang paling tebal 2,5 mikrometer, dan pada bagian tengah 1 μm atau kurang. Eritrosit normalnya dapat melewati tempat tersempit di mikrosirkulasi (3 mikrometer) tanpa fragmentasi karena eritrosit mempunyai bentuk yang mudah berubah dan kembali ke bentuk semula. Volume eritrosit adalah 90 - 95 μm . Jumlah eritrosit normal pada pria 4,6 - 6,2 juta/ μL dan pada wanita 4,2 - 5,4 juta/ μL . Eritrosit ini tidak mempunyai nukleus atau mitokondria, dan 33% dari pada kandungannya terdiri dari protein tunggal yaitu hemoglobin. Tanpa nukleus dan jalur metabolik protein, sel ini mempunyai masa hidup yang singkat yaitu selama 120 hari. Tetapi, struktur sel darah merah matang yang unik ini memberikan daya lenturan yang maksimal saat sel ini melewati pembuluh darah yang sempit.^{19,51}

Hampir kesemua kebutuhan tenaga intrasellular didapat lewat metabolisme glukosa, yang bertujuan untuk mengekalkan hemoglobin dalam kondisi larut dan reduksi, menyediakan sejumlah 2,3 diphosphoglycerat (2,3-DPG) yang mencukupi dan untuk menghasilkan adenosine triphosphate (ATP) untuk mempertahankan fungsi membran.⁵²

Eritrosit tersusun atas membran yang melingkupi hemoglobin. Hemoglobin adalah protein mayor di eritrosit yang memberikan kemampuan untuk transportasi oksigen dan karbondioksida dari dan ke dalam jaringan. Membran eritrosit dikelilingi plasmalema yang tersusun atas karbohidrat, protein, oligosakarida, dan lipid (fosfolipid, kolesterol, glikolipid). Fosfolipid merupakan lipid yang jumlahnya paling banyak. Eritrosit dibatasi oleh membran selektif permeabel, yaitu menyebabkan terjadinya pertukaran zat-zat tertentu dari dalam ke luar dan sebaliknya. Membran eritrosit dapat ditembus air dan mudah dilalui ion H^+ , OH^- , NH_4^+ , PO_4^{2-} , HCO_3^- , glukosa, asam amino, urea dan asam urat tetapi tidak dapat ditembus oleh Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , fosfat organik, hemoglobin dan protein plasma. Beberapa fungsi dari membran sel sebagai pembatas antara isi sel dengan lingkungannya, mengendalikan pertukaran zat antara di luar dan di dalam sel, sebagai reseptor terhadap hormon dan senyawa kimia lain, sebagai tempat melekatnya enzim tertentu dan sebagai tempat reaksi kimia. Komposisi molekuler eritrosit lebih dari setengahnya terdiri atas air (60%) dan sisanya berbentuk substansi padat. Keseluruhan isi eritrosit merupakan substansi koloid yang homogen, sehingga sel bersifat elastis dan lunak. Radikal bebas hanya berdampak pada asam lemak terutama pada membran yang kaya fosfolipid sebagai asam lemak

tak jenuh dan juga protein yang dikenal sebagai peroksidasi lipid yang menyebabkan terputusnya rantai asam lemak menjadi senyawa yang bersifat toksik terhadap sel. ROS dapat mengakibatkan oksidasi pada biomakromolekul penyusun membran eritrosit.

Peroksidasi lipid membran sel memudahkan sel eritrosit mengalami hemolisis, yaitu terjadinya lisis pada membran eritrosit yang menyebabkan hemoglobin terbebas. Selanjutnya protein berpresipitasi di dalam eritrosit, dan membentuk badan Heinz. Badan Heinz ini merusak kelenturan membran dan merapuhkan bentuk membran. Adanya badan Heinz menunjukkan bahwa eritrosit telah mengalami stres oksidatif. Terbentuknya badan Heinz dan adanya lipid peroksidatif dalam membran sel, memudahkan sel eritrosit mengalami hemolisis.

16,53

Sel darah merah seperti sel lain mampu mengkerut dalam larutan yang mempunyai tekanan osmotik yang lebih tinggi dari tekanan osmotik plasma. Pada larutan yang tekanannya yang lebih rendah sel darah akan membengkak, menjadi cembung, dan akan kehilangan hemoglobinnya. Hemoglobin eritrosit yang hemolisis yang larut dalam plasma, memberi warna merah pada plasma. Bila kerapuhan osmotiknya normal, sel darah mulai hemolisis bila dimasukkan dalam larutan NaCl 0,48%, dan pada larutan NaCl 0,33 % hemolisisnya akan sempurna. Pada anemia sferositosis herediter, bentuk morfologi eritrosit seperti sferis pada plasma normal dan lebih banyak terjadi hemolisis dari pada sel-sel normal pada larutan NaCl hipotonik. ^{19,54}

2.3.2 Struktur Membran Eritrosit

2.3.2.1 Lipid di Membran Eritrosit

Membran eritrosit merupakan membran lapis-ganda lipid yang terdiri sekitar 50% lipid dan 50% protein. Kelas-kelas lipid utama adalah fosfolipid dan kolesterol. Fosfolipid terdiri sekitar 60% dengan fosfolipid utama yaitu fosfatidilkolin (PC), fosfatidiletanolamin (PE), fosfatidilserin (PS), dan sfingomielin (Sph). Membran eritrosit juga terdapat komponen fosfolipid minor lainnya seperti fosfatidilinositol (PI), PI-monofosfat (PIP), PI-4,5-bifosfat (PIP₂), asam fosfatidat, lysofosfatidilkolin (Lyso-PC), dan lysofosfatidiletanolamin (Lyso-Pe). Kolesterol yang tidak teresterifikasi terdapat sekitar 30% pada membran eritrosit, serta 10% nya adalah glikolipid.

Membran lipid di eukariot terdistribusi secara asimetris di membran bilayernya. Hal ini disebut sebagai trans-asimetri. Fosfolipid yang mengandung kolin, PC, dan Sph mendominasi di lembar luar dan fosfolipid yang mengandung amino (PE dan PS) mendominasi di lembar dalam. Distribusi seperti ini memiliki peran struktural dan fungsional yang sangat penting. Adanya eksposur pada PS di permukaan luar menyebabkan beberapa mekanisme sampai terjadi apoptosis sel. Keasimetrisan lipida ini menunjukkan kondisi yang seimbang untuk pertukaran jenis fosfolipid luar lembar dan dalam lembar melalui mekanisme '*flip/flop*'. Pertukaran secara transmembran tersebut terjadi secara cepat. Menariknya, keasimetrisan membran fosfolipid terjadi karena keseimbangan antara translokasi aktif dari PS dan PE, serta gerakan lambat '*flip/flop*' yang pasif dari berbagai fosfolipid. Mekanisme trans-asimetri dihasilkan dan dipertahankan oleh sistem

transpor adenosin trifosfat (ATP) yang dependen. Dua enzim penting yang mengatur translokasi fosfolipid yaitu: flippase yang berperan dalam translokasi PS dan PE dari lembar luar ke lembar dalam; dan floppase sebagai katalisator dari translokasi lipida jenis lainnya dari dalam ke luar lembar bilayer. Flippase termasuk kedalam famili enzim Mg^{2+} dependen dan P-glycoprotein ATPase, sedangkan floppase termasuk ke dalam famili *multidrug resistance protein 1* (MRP1).⁵⁵

Glikosfingolipid (GSL) pada membran eritrosit yaitu GSL netral, gangliosida, dan spesies kompleks, termasuk substansi golongan darah ABO membentuk sekitar 5-10% lipid total. GSL, diketahui juga sebagai bagian dari glikolipid yang merupakan suatu residu gula, banyak berperan dalam perlekatan ke ruang ekstraseluler.⁵¹

Pada pH fisiologis, mayoritas konten fosfolipid bermuatan netral meskipun PS, PA, dan PI bermuatan negatif. Sebagian besar fosfolipid (kecuali SM dan lyso-PC) memiliki dua rantai asam lemak yang menempel pada *backbone* gliserol.⁵⁵

Eritrosit matur tidak dapat menyintesis lipida secara de novo. Perbaikan dan pembaharuan fosfolipid terjadi dengan beberapa mekanisme secara dependen, misalnya pertukaran lipid dan asilasi asam lemak dengan lipoprotein plasma.

Eritrosit memiliki ciri khusus dan unik yaitu kemampuan deformabilitasnya. Eritrosit mampu mempertahankan bentuk cakramnya dan menyusun ulang sitoskeleton sendiri sehingga memungkinkan untuk melewati kapiler dan kemudian kembali ke bentuk normalnya tanpa fragmentasi. Bentuk eritrosit ini ditentukan oleh membran proteinnya (terutama jaringan spektrin) dan juga oleh kadar lipid di lapisan bilayer. Lipid sangat penting dalam pemeliharaan bentuk eritrosit

Perubahan yang minimal sekalipun baik luar maupun dalam membran dapat menyebabkan beberapa abnormalitas fungsi atau bentuk eritrosit. Fluiditas membran eritrosit juga merupakan hal yang penting dan krusial bagi fungsi sel darah merah. Fluiditas tersebut umumnya tergantung pada beberapa faktor yaitu: (a) kelas fosfolipid, (b) derajat saturasi asam lemak, (c) panjang rantai asil, (d) kolesterol teresterifikasi atau tidak, dan (e) adanya senyawa *amphipathic* seperti *lysophosphatides*. Misalnya derajat desaturasi dari asam lemak meningkat, maka bagian ekor yang hidrofobik pada membran bilayer akan semakin terganggu sehingga dapat meningkatkan fluiditas membran. Pada komposisi eritrosit mamalia menariknya juga adalah memiliki pengaruh yang besar dalam agregasi sel (tentu dengan faktor-faktor lainnya).^{55,56}

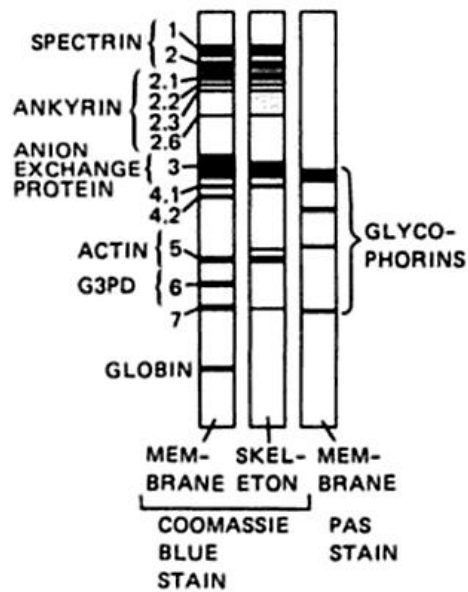
2.3.2.2 Mikrodomain Lipid (*Lipid Rafts*)

Mikrodomain membran kaya akan kolesterol dan glikosfingolipid (seperti gangliosida dan sulfatida) dan mengandung protein membran spesifik yang membentuk suatu rakitan lipid. Rakit lipid ini ditandai dengan dengan densitas yang rendah dan tidak larut dalam deterjen nonionik dingin. Mikrodomain ini mengandung lebih dari 4% dari total membran protein eritrosit keseluruhan. Protein integral mayor pada rakit eritrosit ini adalah stomatin, flotilin-1, dan flotilin-2. Akronim lainnya untuk *lipid rafts* adalah *detergent-resistant membranes* (DRM), *triton-insoluble membrane* (TIM), dan *triton-insoluble floating fractions* (TIFF). Studi menunjukkan *lipid rafts* berperan dalam jalur sinyal antar sel. *Heterotrimeric guanine nucleotide-binding protein* (Gsa) telah terbukti sebagai komponen rakit

lemak di eritrosit yang berperan dalam persinyalan sel. Dekade terakhir ini, beberapa penelitian menunjukkan lipid rafts berperan penting dalam pengaturan infeksi parasit, seperti pada infeksi malaria.^{54,55,57}

2.3.2.3 Protein di Membran Sel Darah Merah

Membran eritrosit dapat dianalisis dengan *sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis* (SDS-PAGE), yang kemudian akan terlihat 10 protein utama seperti pada gambar 3 dan beberapa di antaranya merupakan glikoprotein, serta lebih dari 100 spesies minor. Migrasi protein-protein ini pada SDS-PAGE digunakan untuk menamai protein tersebut, dengan protein yang bermigrasi paling lambat dinamai pita I atau spektrin. Pita I ini bermigrasi paling lambat karena memiliki massa molekuler yang paling besar. Selain itu, protein-protein tersebut sudah diidentifikasi mana yang merupakan protein membran integral atau perifer, protein mana yang terletak di permukaan eksternal, protein mana yang terletak di permukaan sitosolik, dan mana yang menembus membran sel. Banyak komponen minor juga dapat dideteksi di membran eritrosit dengan menggunakan metode pemulasan yang sensitif atau elektroforesis gel dua dimensi. Salah satu protein ini adalah pengangkut glukosa yaitu *glucose transporter* (GLUT 1) atau glukosa permease.



Gambar 3. Diagram protein-protein utama di membran sel darah merah manusia yang dipisahkan dengan SDS-PAGE. Pita-pita yang terdeteksi dengan reagen PAS diperlihatkan di kanal sisi kanan. (Beck WS, Tepper RI. Dalam : Hematology, Ed.ke-5) ⁵¹

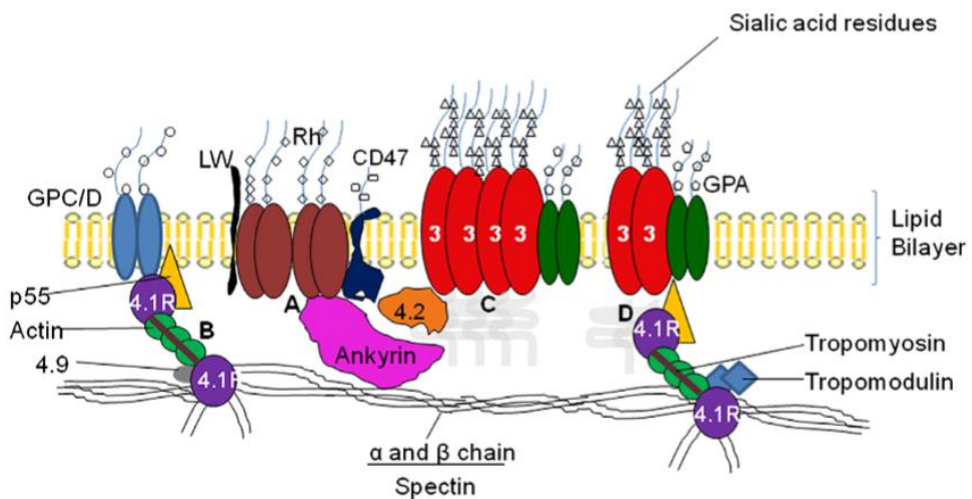


Fig. 1. Simplified diagram of the RBC membrane structure. (A) Rh complex; (B) protein 4.1 complex; (C) and (D) band 3 macrocomplex ((C) band 3 tetrameric form and (D) band 3 dimeric form) [3].

Gambar 4. Struktur Membran Eritrosit ⁵⁵

2.3.2.4 Protein Sitoskeleton pada Membran Eritrosit

Eritrosit harus dapat melewati bagian-bagian yang sempit dari mikrosirkulasi dalam perjalanannya mengelilingi tubuh, terutama saat melewati sinusoid limpa. Agar eritrosit mudah mengalami deformasi secara reversibel, membrannya haruslah cair dan lentur; membran ini juga harus tetap dapat mempertahankan bentuk bikonkaf karena bentuk ini mempermudah pertukaran gas. Berbagai lipid membran membantu menentukan fluiditas membran. Terdapat sejumlah protein sitoskeleton perifer (tabel 7) yang melekat pada bagian dalam membran sel darah merah dan berperan penting dalam mempertahankan bentuk dan kelenturannya.

Tabel 8. Protein utama pada membran sel darah merah^{51,55}

Nomor Pita	Protein	Integral (I) atau Perifer (P)	Perkiraan Massa Molekuler (kDa)
1	Spektrin (α)	P	240
2	Spektrin (β)	P	220
2.1	Ankirin	P	210
2.2	Ankirin	P	195
2.3	Ankirin	P	175
2.6	Ankirin	P	145
3	Protein penukar anion	I	100
4.1	Belum dinamai	P	80
5	Aktin	P	43
6	Gliseraldehida 3-fosfat dehidrogenase	P	35
7	Tropomiosin	P	29
8	Belum dinamai	P	23
	Glikoforin A,B,C	I	31, 23, 28
	Glikoforin D, E	I	-

2.3.3 Stres Oksidatif terhadap Fragilitas Membran Eritrosit

Selama berjalannya metabolisme, terjadi pembentukan beberapa oksidan kuat, baik di sel darah maupun sel tubuh lainnya. Oksidan ini mencakup superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), radikal peroksil (ROO^\bullet), dan radikal hidroksil (OH^\bullet). Oksidan-oksidan ini disebut sebagai spesies oksigen reaktif (*reactive oxygen species*, ROS). Radikal bebas adalah atom atau kelompok atom yang memiliki elektron tidak berpasangan. OH^\bullet merupakan molekul khusus yang sangat reaktif dan dapat bereaksi dengan protein, asam nukleat, lipid, dan molekul lain untuk mengubah struktur molekul-molekul tersebut dan menyebabkan kerusakan jaringan. Berbagai reaksi berikut dalam tabel 8 berperan penting dalam pembentukan berbagai oksidan ini dan dalam pembuangannya.

Superoksida (reaksi 1) dibentuk di dalam sel darah merah oleh proses auto-oksidasi hemoglobin menjadi methemoglobin (sekitar 3% hemoglobin di sel darah merah manusia diperkirakan mengalami auto-oksidasi per hari); di jaringan lain, superoksida dibentuk oleh kerja enzim-enzim seperti sitokrom p450 reduktase dan xantin oksidase. Jika dirangsang oleh kontak dengan bakteri, neutrofil, memperlihatkan suatu letupan respiratorik (*respiratory burst*) dan menghasilkan superoksida melalui reaksi yang dikatalisis oleh NADPH oksidase (reaksi 2). Superoksida secara spontan mengalami dismutasi untuk membentuk H_2O_2 dan O_2 , namun laju reaksi yang sama sangat dipercepat oleh superoksida dismutase (reaksi 3). Hidrogen peroksida dapat menjalani beragam reaksi. Enzim katalase yang terdapat pada banyak jenis sel, mengubahnya menjadi H_2O dan O_2 (Reaksi 4).

Neutrofil memiliki sebuah enzim yang unik, mieloperoksidase yang menggunakan H_2O_2 dan halida untuk menghasilkan asam hipohalosa (reaksi 5). Enzim glutathion peroksidase yang mengandung selenium juga akan bekerja pada glutathion tereduksi (GSH) dan H_2O untuk menghasilkan glutathion teroksidasi (GSSG) dan H_2O (reaksi 6); enzim ini juga dapat menggunakan peroksida lain sebagai substrat. OH^\bullet dan OH^- dapat dibentuk dari H_2O_2 dalam suatu reaksi nonenzimatik yang dikatalisis oleh Fe^{2+} (reaksi Fenton, reaksi 7). O^{2-} dan H_2O_2 adalah substrat dari reaksi Haber-Weiss yang dikatalisis oleh besi (reaksi 8), yang juga menghasilkan OH^\bullet dan OH^- . Superoksida dapat membebaskan ion besi dari feritin. Karena itu, pembentukan OH^\bullet mungkin adalah salah satu mekanisme yang berperan dalam cedera jaringan akibat kelebihan besi (misal hemokromatosis).

Senyawa dan reaksi kimia yang dapat menghasilkan spesies oksigen berpotensi toksik dapat disebut sebagai pro-oksidan. Di pihak lain, senyawa dan reaksi yang menyingkirkan spesies-spesies ini, menekan pembentukannya, atau melawan efeknya disebut antioksidan yang mencakup berbagai senyawa, seperti NADPH, GSH, asam askorbat, dan vitamin E. Pada sel normal, terdapat keseimbangan antara pro-oksidan dan antioksidan. Namun pro-oksidan dapat lebih meningkat daripada antioksidan apabila spesies oksigen meningkat dengan pesat (misal setelah ingesti bahan kimia atau obat tertentu, termasuk asap rokok) atau jika kadar antioksidan berkurang (misal akibat inaktivasi enzim yang berperan dalam pembersihan spesies oksigen serta akibat berbagai keadaan yang menyebabkan turunnya kadar berbagai antioksidan yang disebutkan sebelumnya). Keadaan ini

disebut sebagai stres oksidatif. Stres oksidatif ini dapat menyebabkan kerusakan sel yang serius jika stres berlangsung secara masif atau berkepanjangan.

ROS ini diperkirakan berperan penting dalam berbagai jenis jejas sel (misal terjadi akibat pemberian berbagai bahan kimia toksik atau karena iskemia), yang sebagian di antaranya dapat menyebabkan kematian sel. Sebagian bukti tak langsung yang mendukung peranan berbagai spesies ini dalam menimbulkan cedera sel adalah bahwa pemberian suatu enzim, misalnya superoksida dismutase atau katalase terbukti melindungi sel dari cedera akibat keadaan-keadaan di atas.⁵¹

Asap rokok mengandung banyak peroksidan, oksidan, dan berbagai zat kimia, salah satunya yaitu naftalen. Naftalen diketahui dapat memicu serangan anemia hemolitik karena bahan ini menyebabkan terbentuknya H_2O_2 atau O^{2-} . NO_x merupakan oksidator yang cukup kuat yang dapat menyebabkan peroksidasi lipid atau protein sehingga fungsinya terganggu. Bahaya radikal bebas terhadap eritrosit diantaranya adalah dengan merusak struktur membran eritrosit sehingga plastisitas membran terganggu dan mudah pecah. Keadaan ini dapat menyebabkan turunnya jumlah eritrosit.^{12,58}

Selain itu jika jumlah oksidannya berlimpah melebihi jumlah senyawa antioksidan, maka mekanisme pembersihan radikal oksidan tidak tercapai sehingga timbul peroksidasi lipid. Senyawa peroksidan lainnya di asap rokok lainnya pada studi lain dikatakan dapat menyebabkan oksidasi gugus-gugus -SH penting pada protein membran eritrosit selain terjadinya peroksidasi lipid sehingga dapat menyebabkan lisis membran sel darah merah. Grup -SH sifatnya sangat reaktif dan dapat menjadi target selama stres oksidatif. Selain itu, membran lipid eritrosit yang

kaya akan asam lemak tak jenuh jamak (PUFA, *polyunsaturated fatty acid*) menghasilkan efek oksidatif pada oksigen di eritrosit lebih nyata dibandingkan jaringan lain.^{9,58} Hasil penelitian yang dilakukan oleh Masilamani (2016) menggunakan *spectral analysis* didapatkan bahwa hampir keseluruhan, bentuk morfologi eritrosit pada kelompok perokok terlihat seperti ‘*mexican hat*’ dengan menggunakan *atomic force microscopic* (AFM). Kerusakan yang tampak seperti itu, dikatakan toksin-toksik (CO, peroksidan, aldehyd) dapat dengan mudah mendapatkan akses masuk eritrosit dan lebih kuat diabsorpsi oleh hemoglobin sehingga dapat terjadi peningkatan hemolisis eritrosit.⁸

Tabel 9. Reaksi yang penting terkait dengan stres oksidatif di eritrosit dan berbagai jaringan⁵¹

1	Produksi superoksida (produksi-samping berbagai reaksi)	$O_2 + e^- \rightarrow O_2^-$
2	NADPH-oksidadase	$2O_2 + NADPH \rightarrow 2O_2^- + NADP + H^+$
3	Superoksida dismutase	$O_2^- + O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$
4	Katalase	$H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$
5	Mieloperoksidase	$H_2O_2 + X^- + H^+ \rightarrow HOX + H_2O$ ($X^- = Cl^-$, Br^- , SCN^-)
6	Glutation peroksidase (dependen-Se)	$2GSH + R-O-O-H \rightarrow GSSG + H_2O + ROH$
7	Reaksi Fenton	$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^* + OH^-$
8	Reaksi Haber-Weiss yang dikatalisis oleh besi	$O_2^- + H_2O_2 \rightarrow O_2 + OH^* + OH^-$

9	Glukosa-6-fosfat dehidrogenase (G-6PD)	$G6P + NADP \rightarrow 6 \text{ Fosfoglukonat} + NADPH + H^+$
10	Glutation reduktase	$G-S-S-G + NADPH + H^+ \rightarrow 2GSH + NADP$

2.4 Tes Fragilitas Osmotik

Tes fragilitas osmotik adalah suatu uji yang mengukur tingkat resistensi eritrosit terhadap hemolisis dalam beberapa jenis larutan garam (NaCl) dengan dengan tingkat pengenceran yang berbeda-beda. Tes fragilitas eritrosit pertama kali digunakan untuk skrining talasemia dan kariernya pada tahun 1940 oleh Silverstoni dan Bianco. Metode cepat dan sederhana ini sudah diterapkan untuk skrining pada populasi yang besar dan masih digunakan pada negara berkembang. Tes ini dapat mengestimasi stabilitas suatu membran eritrosit. Prinsipnya yaitu ketika eritrosit berada di suasana yang hipotonis, air akan masuk ke dalam sel dan sel akan membengkak hingga akhirnya lisis. Kerentanan lisisnya eritrosit terjadi bergantung pada fungsi rasio antara luas permukaan terhadap volume sel darah merah.

Tes fragilitas eritrosit klasik dilakukan pertama kali tahun 1947 oleh Parpart, et al dengan menggunakan sejumlah kecil darah segar yang ditambahkan ke beberapa larutan dengan tingkat tonisitas 0,1% - 0,9%. Sampel-sampel tersebut kemudian disentrifugasi dan dibaca absorbansinya pada 540 nm secara spektrofotometrik untuk menghitung persentase hemolisis dari setiap larutan sampel. Hasil yang didapat kemudian dipasangkan dengan konsentrasi NaCl

sehingga menghasilkan gambaran kurva fragilitas osmotik yang kemudian dibandingkan dengan nilai dari sampel kontrol.

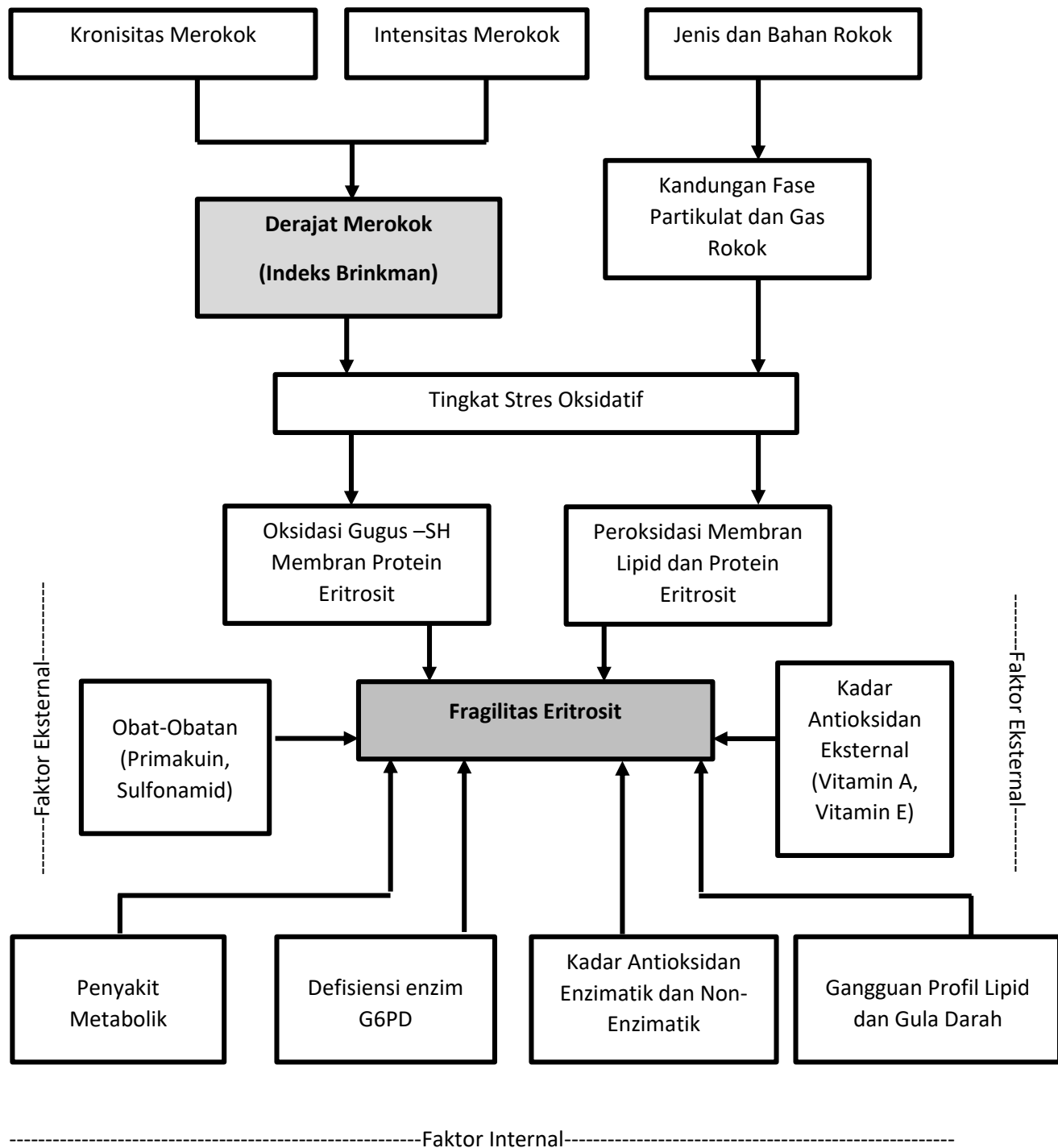
Pada beberapa hasil dapat digambarkan berupa nilai konsentrasi yang dapat menyebabkan 50% lisisnya eritrosit. Hasil ini dikenal sebagai *median corpuscular fragility* (MCF). Nilai normal dari MCF sendiri dari darah segar antara 4 sampai 4,45 g/L NaCl.^{18,59,60}

Tes fragilitas osmotik dapat dilakukan langsung setelah *sampling* darah segar atau dalam waktu 2 jam setelah pengambilan darah. Pada beberapa laboratorium, darah diinkubasi sampai 24 jam dengan suhu 37°C agar sensitivitas tes meningkat dengan cara didapatkan fragilitas eritrosit tertinggi yang kemudian dibandingkan normal.

Tes fragilitas osmotik di bidang hematologi sering dilakukan untuk membantu diagnosis penyakit yang berhubungan dengan abnormalitas membran eritrosit. Beberapa abnormalitas membran interpretasinya dapat berupa peningkatan atau penurunan fragilitas eritrosit. Sferosit (eritrosit yang tidak bikonkaf, berbentuk sferis) dan eritrosit dengan kerusakan membran mudah pecah pada kondisi sedikit hiperosmotik (<0,3% saline). Penjelasananya adalah bahwa sferosit, karena bentuknya yang hampir bulat, hanya memiliki sedikit ruang volume ekstra untuk mengakomodasi tambahan air sehingga mudah lisis jika dipajankan dengan tekanan osmotik yang lebih rendah daripada normal.⁵¹ Hal ini dapat disebabkan karena anemia autoimun, luka bakar (*sunburn*), *disseminated intravascular clotting*, defisiensi enzim pada jalur hem, anemia hemolitik, sferositosis herediter, tranfusi cairan hipotonik, infeksi parasit, katup jantung

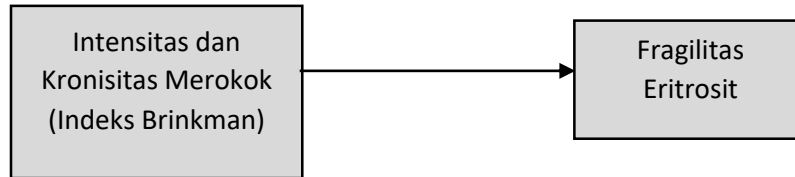
prostetik, hipernatremia, transfusi pada inkompatibilitas darah, dan toksin (mikrobia dan kimia). Asap rokok sendiri yang kandungannya memiliki banyak zat toksin, dapat meningkatkan kerentanan eritrosit untuk mengalami stres oksidatif. Sedangkan penurunan fragilitas eritrosit pada >0,5% saline dapat ditemukan pada penyakit hepar kronik, ikterus obstruktif, anemia defisiensi besi, talasemia, hiponatremia, polisitemia vera, anemia sel sabit, dan splenektomi.^{51,59}

2.5 Kerangka Teori



Gambar 5. Kerangka Teori

2.6 Kerangka Konsep



Gambar 6. Kerangka konsep

2.7 Hipotesis

Berdasarkan kepustakaan di atas, maka hipotesis yang diajukan adalah:

- **Hipotesis Mayor**
 - Terdapat perbedaan fragilitas eritrosit serum pada subjek dengan berbagai intensitas serta kronisitas merokok.
- **Hipotesis Minor**

Adanya peningkatan fragilitas eritrosit sesuai dengan bertambahnya skor indeks Brinkman pada subjek bukan perokok, perokok ringan, dan perokok sedang-berat.