

PERBEDAAN KADAR MALONDIALDEHIDA PADA SUBYEK BUKAN PEROKOK, PEROKOK RINGAN DAN SEDANG-BERAT

Matthew Brian Khrisna¹, Meita Hendrianingtyas²¹Mahasiswa Program Pendidikan S-1 Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro²Staf Pengajar Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. H. Soedarto, SH, Tembalang-Semarang 50275, Telp.02476928010

ABSTRAK

Latar Belakang : Merokok merupakan problem kesehatan yang besar pada remaja. Perokok dapat dibedakan dalam beberapa kategori menurut intensitasnya, yaitu bukan perokok, perokok ringan, dan perokok sedang-berat. Merokok akan menimbulkan peningkatan stres oksidatif melalui kandungan karsinogen, radikal bebas serta ROS pada fase gas dan partikulat asap rokok. MDA adalah sebuah *biomarker* stres oksidatif yang mudah diukur serta merepresentasikan tingkat stres oksidatif yang terjadi karena merokok.

Tujuan : Membuktikan perbedaan kadar MDA serum pada subyek bukan perokok, perokok ringan dan perokok sedang-berat.

Metode : Penelitian deskriptif analitik dengan desain belah lintang. Sampel sebanyak 36 mahasiswa Universitas Diponegoro yang dibagi menjadi tiga kelompok berdasarkan intensitas merokok menurut Sitepoe, yaitu kelompok bukan perokok, perokok ringan dan perokok sedang-berat. Kadar MDA serum diukur menggunakan metode TBARS secara spektrofotometrik. Uji statistik menggunakan uji *One Way ANOVA* dan *Post-Hoc Bonferroni*.

Hasil : Kadar MDA serum rerata pada kelompok bukan perokok sebesar $11,46 \pm 0,393$ nmol/mL, kelompok perokok ringan $11,57 \pm 0,948$ nmol/mL, dan kelompok perokok sedang-berat $12,76 \pm 1,18$ nmol/mL. Uji *Post Hoc Bonferroni* menunjukkan kadar MDA berbeda pada kelompok bukan perokok dan perokok sedang-berat ($p=0,006$) serta kelompok perokok ringan dan sedang-berat ($p=0,009$). Tidak terdapat perbedaan kadar MDA serum antara kelompok bukan perokok dan perokok ringan ($p=1,000$).

Kesimpulan : Terdapat perbedaan kadar MDA serum antara perokok ringan dan perokok sedang-berat serta bukan perokok dan perokok sedang-berat. Tidak terdapat perbedaan kadar MDA serum antara kelompok bukan perokok dan perokok ringan.

Kata kunci : Rokok, stres oksidatif, MDA

ABSTRACT

MALONDIALDEHYDE LEVEL DIFFERENCES BETWEEN NON-SMOKERS, LIGHT SMOKERS AND MEDIUM TO HEAVY SMOKERS

Background : Smoking is a serious problem among teenagers. Smokers can be classified into several groups according to its intensity; non-smokers, light smokers, and moderate-to-heavy smokers. Smoking can induce the increase of oxidative stress through carcinogenic substances, free radicals and ROS which exists on the gas and particulate phase of the cigarette smoke. MDA is an oxidative stress biomarker which is easily measurable and represents the level of oxidative stress caused by smoking.

Aim : To analyze the difference of serum MDA levels on non-smokers, light smokers and moderate-to-heavy smokers.

Methods : Analytical-descriptive study with cross-sectional design. Thirty-six Diponegoro University students were classified into three groups according to Sitepoe's classification of

smoking intensity: non-smokers, light smokers and moderate-to-heavy smokers. Serum MDA levels were measured spectrophotometrically using TBARS method. Statistical analysis were done with One Way ANOVA and Post-Hoc Bonferroni tests.

Results : Average serum MDA level for non-smokers were $11,46 \pm 0,393$ nmol/mL. Average MDA level for light smokers were $11,57 \pm 0,948$ nmol/mL, and the average MDA levels for heavy smokers were $12,76 \pm 1,18$ nmol/mL. Post Hoc Bonferroni tests shown that there is a significant difference between serum MDA levels between non-smokers compared to moderate-to-heavy smokers ($p=0,006$) and also between light smokers compared to moderate-to-heavy smokers. There is no significant difference ($p=1,000$) between non-smokers and light smokers.

Conclusions : There is a significant serum MDA levels difference between non-smokers compared to moderate-to-heavy smokers and also between light smokers compared to moderate-to-heavy smokers. There is no significant difference between non-smokers and light smokers.

Keywords : Smoking, oxidative stress, MDA

PENDAHULUAN

Merokok adalah kegiatan menghisap asap dari pembakaran rokok, cerutu, kretek, *e-cigarette* (rokok elektrik) atau bentuk olahan lain dari tanaman tembakau *Noctiana tobacum*, *Noctiana rusica*, maupun spesies lainnya maupun sintesis dari tanaman tersebut. Merokok berbahaya bagi kesehatan karena nikotin dalam rokok merupakan zat adiktif yang akan mengakibatkan disabilitas awal dan kematian.¹

Menurut laporan *World Health Organization* (WHO) tahun 2010, Indonesia masuk dalam peringkat ketiga jumlah perokok, yaitu sebanyak 60.270.600 penduduk.² Laporan Badan Pusat Statistik (BPS) dalam Survei Kesehatan 2015 yang menyebutkan 5,24% anak dan remaja usia 10-19 tahun merokok serta 23,63% remaja usia 20-29 tahun merokok.³ Perbandingan usia perokok menunjukkan perbedaan yang signifikan dimana jumlah perokok laki-laki jauh lebih banyak dibandingkan jumlah perokok perempuan, yaitu 98% menurut WHO (2010).

Merokok akan mengakibatkan peningkatan radikal oksigen bebas melalui meningkatnya paparan kumulatif *reactive oxygen spesies* (ROS) baik dari ROS endogen maupun ROS eksogen.⁴ Paparan terhadap asap rokok akan meningkatkan sintesis *nitrite oxide* (NO) serta meningkatkan mekanisme antioksidatif yang melibatkan vitamin C. Peningkatan aktivitas antioksidan alami ini tidak dapat mencegah secara signifikan akumulasi produk-produk stres oksidatif, yang menandakan mekanisme antioksidatif yang dilakukan tubuh tidak dapat mencegah kerusakan oksidatif yang berlebihan.⁵

Malondialdehida merupakan aldehid yang dihasilkan sebagai produk sekunder peroksidasi lipid, yaitu reaksi oksigen reaktif dengan lemak tidak jenuh. Produk primer dari peroksidasi lipid adalah hidroperoksida lemak, sedangkan produk sekunder aldehid yang dihasilkan dapat berupa malondialdehida, propanal, heksanal, dan 4-hidroksinonenal.⁶

Miller *et al* mengungkapkan bahwa peroksidasi lipid akan meningkat pada perokok oleh karena peningkatan ROS sebagai dampak dari paparan asap rokok.⁷ Peningkatan ROS serta peroksidasi lipid tersebut akan meningkatkan kadar MDA sebagai *biomarker* stres oksidatif pada serum darah perokok.⁸ Penelitian yang telah ada lebih banyak membandingkan efek dari merokok terhadap peroksidasi lipid, namun belum membandingkan pengaruh perbedaan intensitas merokok dan dampaknya terhadap kadar produk peroksidasi lipid sebagai *biomarker* oksidasi yang terjadi pada kegiatan merokok.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif analitik dengan pendekatan belah lintang. Subyek penelitian dibagi menjadi 3 kelompok menurut klasifikasi Sitepoe, yaitu kelompok bukan perokok sebagai kontrol, kelompok perokok ringan (yang mengkonsumsi rokok per hari sepuluh batang atau kurang), serta kelompok perokok sedang-berat (yang mengkonsumsi rokok per hari sebelas batang atau lebih). Jumlah sampel per kelompok adalah 12 orang. Seluruh subyek merupakan mahasiswa Universitas Diponegoro dari berbagai fakultas.

Variabel bebas penelitian ini adalah klasifikasi merokok, di mana subyek penelitian diklasifikasikan menurut klasifikasi Sitepoe yaitu kelompok perokok ringan dan kelompok perokok sedang-berat, dengan satu kelompok merupakan kelompok bukan perokok sebagai kontrol.¹ Variabel terikat penelitian ini adalah kadar MDA pada serum yang diukur secara spektrofotometrik menggunakan metode *Thiobarbituric Acid Reactive Substance*.

Analisis data diawali dengan pengujian normalitas data *Shapiro-Wilk* terhadap data kadar MDA masing-masing kelompok dan didapatkan hasil normal. Kesamaan variasi data diuji dengan uji variasi *Levene's Test* dan didapatkan variasi pada data ($p < 0,05$), selanjutnya dilakukan transformasi resiprokal ($1/n$), kemudian diuji normalitas dengan *Shapiro-Wilk* serta uji variasi *Levene's Test*, dan didapatkan hasil yang normal. Uji beda tiga kelompok dianalisis dengan uji *One Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Bonferroni* dengan signifikansi $p < 0,05$ dan interval kepercayaan 95%.

HASIL

Subjek yang berpartisipasi dalam penelitian ini sebanyak 36 subjek yang terbagi dalam 3 kelompok. Analisis spesimen dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro menggunakan metode TBARS untuk mendapatkan angka MDA serum. Kelompok bukan perokok memiliki rerata kadar MDA sebesar $11,46 \pm 0,393$ nmol/mL, sedangkan kelompok perokok ringan memiliki kadar MDA yang lebih tinggi yaitu $11,57 \pm 0,948$ nmol/mL. Kadar MDA dengan rerata tertinggi ada pada kelompok perokok sedang-berat, yaitu $12,76 \pm 1,18$ nmol/mL.

Tabel 1. Kadar MDA serum kelompok pengujian.

	Mean \pm SD	p*
Bukan Perokok	11,46 \pm 0,393	0,170
Perokok Ringan	11,57 \pm 0,948	0,591
Perokok Sedang-Berat	12,76 \pm 1,18	0,424

*p = nilai Shapiro-Wilk, normal apabila >0,05

Hasil uji *One-Way ANOVA* memiliki signifikansi $p=0,002$, yang berarti terdapat perbedaan kadar MDA setidaknya pada dua kelompok dari total tiga kelompok penelitian. Untuk melihat kelompok mana yang memiliki perbedaan kadar MDA, dilakukan uji *Post Hoc Bonferroni*. Uji *Post Hoc Bonferroni* menunjukkan kadar MDA secara signifikan berbeda pada kelompok bukan perokok dan perokok sedang-berat, serta kelompok perokok ringan dan sedang-berat ($p < 0,05$). Akan tetapi, kelompok bukan perokok dan perokok ringan tidak menunjukkan perbedaan kadar MDA ($p > 0,05$).

Tabel 2. Uji *Post-Hoc Bonferroni* kadar MDA

Kelompok responden		Rerata Perbedaan	Signifikansi
Bukan Perokok	Perokok Ringan	0,000	1,000
	Perokok Sedang-Berat	0,008*	0,006*
Perokok Ringan	Bukan Perokok	-0,000	1,000
	Perokok Sedang-Berat	0,007*	0,009*
Perokok Sedang-Berat	Bukan Perokok	-0,008*	0,006*
	Perokok Ringan	-0,007*	0,009*

*Uji *Post-Hoc Bonferroni* bermakna oleh karena $p < 0,05$.

PEMBAHASAN

MDA merupakan *biomarker* stres oksidatif yang pembentukannya merefleksikan tingginya stres oksidatif dalam tubuh.^{9,10} Merokok akan meningkatkan terjadinya stres oksidatif dalam tubuh dan peningkatan stres oksidatif tersebut akan meningkatkan kadar MDA.^{8,11} Hasil penelitian ini juga sesuai dengan penelitian sebelumnya oleh Jaggi *et al* tahun 2015 yang menyatakan bahwa peningkatan jumlah rokok akan meningkatkan stres oksidatif yang menyebabkan peningkatan kadar MDA yang merefleksikan peningkatan stres oksidatif tersebut.¹² Hasil analisis data menunjukkan terdapat perbedaan kadar MDA yang signifikan baik pada kelompok subjek bukan perokok ($p=0,006$) maupun kelompok perokok ringan ($p=0,009$) bila dibandingkan dengan kelompok perokok berat. Penelitian sebelumnya menggunakan parameter 8-epi-prostaglandin (PG) F_{2α} pada urin sebagai *biomarker* stres oksidatif menunjukkan hasil yang serupa.¹³

Peningkatan kadar MDA tersebut terjadi oleh karena peningkatan stres oksidatif yang timbul oleh karena merokok.^{14,15,60} Proses pembakaran rokok akan menghasilkan ROS yang terdapat dalam fase gas maupun fase partikulat asap rokok, dan peningkatan ROS tersebut akan meningkatkan stres oksidatif dalam tubuh sehingga akan meningkatkan *biomarker* stres oksidatif seperti MDA.^{14,16} Secara alami, sistem pertahanan antioksidan endogen tubuh mengatasi perubahan tersebut melalui peningkatan sistem antioksidan enzimatik (seperti katalase, SOD, *glutathione peroksidase*) dan sistem antioksidan nonenzimatik (seperti albumin, asam urat dan *reduced glutathione*). Jika stres oksidatif yang terjadi terlalu tinggi atau jika terdapat suatu patologi yang mencegah sistem-sistem tersebut untuk bekerja dengan efektif, stres oksidatif tetap terjadi.^{11,17}

Peningkatan stres oksidatif oleh karena rokok juga dapat terjadi oleh karena kandungan radikal bebas yang terdapat pada rokok.¹¹ Kandungan tar pada rokok mengandung radikal bebas semikuinon. Radikal bebas semikuinon tersebut bila terlarut pada larutan *aqueous* seperti cairan paru dan plasma darah, dapat mereduksi oksigen menjadi superoksida yang akan membuat terjadinya dismutasi dan membentuk hidrogen peroksida.¹⁸ Fase gas asap rokok itu sendiri juga mengandung radikal bebas organik tidak stabil yang bertahan dalam periode yang cukup lama.¹⁹ Kedua hal tersebut akan mempengaruhi kadar MDA dengan tingginya radikal bebas yang terdapat dalam tubuh.¹³

Nilai rerata kadar MDA kelompok perokok ringan lebih tinggi dibandingkan nilai rerata kadar MDA kelompok bukan perokok, namun hasil uji statistik menunjukkan tidak ada

perbedaan antara keduanya ($p=0,922$). Hal ini menyatakan bahwa peningkatan kadar MDA tetap bergantung pada *dose-dependent relationship* yang berarti bahwa kadar MDA akan semakin meningkat seiring peningkatan konsumsi rokok.¹⁰ Hal ini juga sejalan dengan penelitian sebelumnya oleh Santos *et al* pada 1984 yang tidak menemukan perbedaan yang signifikan pada status komposisi asam lemak dan material mirip malondialdehida (*malondialdehyde-like material*) antara kelompok bukan perokok dan perokok ringan.²⁰ Rendahnya peningkatan kadar MDA dibandingkan dengan kelompok bukan perokok tersebut dapat terjadi oleh karena stres oksidatif yang terjadi pada perokok ringan dapat cukup ditanggulangi oleh antioksidan endogen yang terdapat dalam tubuh, seperti SOD, *glutathione peroxidase* dan katalase, sedangkan paparan stres oksidatif yang lebih tinggi dari ambang batas kemampuan antioksidan endogen tidak dapat ditanggulangi oleh tubuh sehingga menimbulkan peningkatan kadar MDA.¹¹

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Terdapat perbedaan antara kadar MDA serum kelompok bukan perokok dan perokok sedang berat serta kadar MDA serum kelompok perokok ringan dan perokok sedang-berat. Tidak terdapat perbedaan antara kadar MDA serum pada kelompok bukan perokok dan perokok ringan.

Saran

Penulis menyarankan perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai hubungan antara intensitas merokok terhadap perubahan-perubahan hematologi maupun biomarker stres oksidatif lain seperti nilai CRP dan F₂-isoprostane.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada dr. Meita Hendrianingtyas, Sp.PK, M.Si. Med, dr. Ariosta, Sp.PK, dr. Ika Pawitra Miranti, MKes, SpPA, seluruh staf Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, serta pihak-pihak lain yang telah membantu secara langsung maupun tidak langsung hingga penelitian dan penulisan artikel ini dapat terselesaikan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sitepoe M. Kekhususan rokok Indonesia: mempermasalahkan PP no. 81 tahun 1999 tentang pengamanan rokok bagi kesehatan . Jakarta: Grasindo Publishing; 2000.
2. World Health Organization. WHO global report on trends in prevalence of tobacco smoking. 2015.
3. Badan Pusat Statistik. Profil Statistik Kesehatan 2015 . Jakarta; 2015.
4. Kelly G. The interaction of cigarette smoking and antioxidants. Part III: ascorbic acid. *Altern Med Rev.* 2003;8(1):43–54.
5. Chavez J, Cano C, Souki A, Bermudez V, Medina M, Ciszek A, et al. Effect of cigarette smoking on the oxidant/antioxidant balance in healthy subjects. *Am J Ther.* 2007;14(2):189–93.
6. Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid Peroxidation : Production , Metabolism , and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. 2014;2014.
7. Miller 3rd ER, Appel LJ, Jiang L, Risby TH. Association between cigarette smoking and lipid peroxidation in a controlled feeding study. *Circulation .* 1997;96(4):1097–101. 8. Kashinakunti SV, Kollur P, Kallaganada GS, Rangappa M, Ingin JB. Comparative study of serum MDA and vitamin C levels in non-smokers, chronic smokers and chronic smokers with acute myocardial infarction in men. *J Res Med Sci .* 2011;16(8):993–8.
9. Gawel S, Wardas M, Niedworok E, Wardas P. Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker. *Wiad Lek .* 2004;57(9-10):453–5.
10. Lykkesfeldt J. Malondialdehyde as biomarker of oxidative damage to lipids caused by smoking. *Clin Chim Acta.* 2007;380(1-2):50–8.
11. Ignatowicz E, Woźniak A, Kulza M, Seńczuk-Przybyłowska M, Cimino F, Piekoszewski W, et al. Exposure to alcohol and tobacco smoke causes oxidative stress in rats. *Pharmacol Rep .* 2013;65(4):906–13.
12. Jaggi S, Yadav AS. Increased serum malondialdehyde levels among cigarette smokers. 2015;4(4):94–6.
13. Reilly M, Delanty N, Lawson J a, FitzGerald G a. Modulation of oxidant stress in vivo in chronic cigarette smokers. *Circulation.* 1996;94(August 1994):19–25.

14. Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis K. Tobacco Smoke: Involvement of Reactive Oxygen Species and Stable Free Radicals in Mechanisms of Oxidative Damage, Carcinogenesis and Synergistic Effects with Other Respirable Particles. *Int J Environ Res Public Health* . 2009;6(2):445–62.
15. Pryor WA, Dooley MM, Church DF. Mechanisms of cigarette smoke toxicity: the inactivation of human alpha-1-proteinase inhibitor by nitric oxide/isoprene mixtures in air. *Chem Biol Interact*. 1985;54(2):171–83.
16. Lee J, Taneja V, Vassallo R. Cigarette Smoking and Inflammation: Cellular and Molecular Mechanisms. *J Dent Res*. 2012;91(2):142–9.
17. Wojcik M, Burzynska-Pedziwiatr I, Wozniak L a. A review of natural and synthetic antioxidants important for health and longevity. *Curr Med Chem*. 2010;17(28):3262–88.
18. Cosgrove JP, Borish ET, Church DF, Pryor WA. The metal-mediated formation of hydroxyl radical by aqueous extracts of cigarette tar. *Biochem Biophys Res Commun* . 1985 [cited 2016 Jun 17];132(1):390–6.
19. Church DF, Pryor WA. Free-radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environ Health Perspect*. 1985;VOL. 64:111–26.
20. Santos MT, Valles J, Aznar J, Beltrán M, Herraiz M. Effect of smoking on plasma and platelet fatty acid composition in middle-aged men. *Atherosclerosis* . 2016;50(1):53–62.