

Pengaruh Asap Rokok Berfilter terhadap Kadar Protein Plasma Darah Tikus Putih (*Rattus Norvegicus L.*) Jantan Strain Wistar

Endang Setyaningsih^{1*}, Rahel Aulia Saraswati²

¹Staff Pengajar Pendidikan Biologi FKIP UMS

²Mahasiswa Pendidikan Biologi FKIP UMS

*Corresponding author: es211@ums.ac.id

Abstract: Seiring dengan kemajuan teknologi, pencemaran juga tidak dapat dihindari. Khususnya pencemaran udara dari asap rokok, dipandang tidak berbahaya karena adanya filter dibagian pangkalnya. Padahal asap rokok berpotensi menimbulkan gangguan kesehatan. Salah satu gas yang ada dalam asap rokok yang bernama karbonmonoksida (CO) sangat berbahaya bagi tubuh. Sistem respirasi dan sirkulasi adalah sistem utama tubuh yang berhubungan langsung dengan gas CO asap rokok. Darah merupakan komponen penting dalam kedua sistem tersebut yang dapat terganggu kerjanya. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pendedahan asap rokok berfilter terhadap kadar protein plasma tikus putih (*Rattus norvegicus L.*). Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus L.*) jantan strain Wistar, umur 2 bulan dengan berat sekitar 150-160 gram sebanyak 15 ekor dibagi dalam 3 kelompok perlakuan : P₁ (10 hari didedahkan asap rokok-berfilter), P₂ (30 hari didedahkan asap rokok-berfilter), dan kelompok kontrol (tanpa didedahkan asap rokok). Penelitian diteruskan tanpa pendedahan asap rokok selama 20 hari sebagai masa pemulihan. Sampel darah dan *food intake* diukur selama masa perlakuan dan masa pemulihan berlangsung. Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan ANAVA, jika hasilnya berbeda nyata akan dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT). Penelitian ini dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola satu arah dengan 3 perlakuan dan setiap perlakuan 5 ulangan. Variabel yang diukur yaitu kadar protein plasma darah dengan alat refraktometer. Hasil penelitian menunjukkan penggunaan filter berpengaruh terhadap kadar protein plasma darah. Pendedahan dengan asap rokok berfilter dapat menurunkan kadar protein plasma secara sangat nyata ($P < 0,01$). Selama masa pemulihan, kadar protein plasma darah dapat kembali ke kadar normal secara perlahan.

Keywords: CO, Kadar protein plasma, Rokok berfilter, Tikus Wistar

1. PENDAHULUAN

Dampak negatif dari kemajuan teknologisan satunya adalah memicu adanya pencemaran. Di antara pencemaran yang kian hari semakin parah adalah pencemaran udara di lingkungan yang disebabkan oleh asap yang merupakan hasil dari proses pembakaran. Di dalam asap terdapat gas-gas dan partikel berbahaya yang apabila terhirup ke dalam tubuh akan dapat menimbulkan gangguan kesehatan. Asap yang banyak berpotensi tersebut terutama oleh asap rokok (Lu, 1995).

Dari segi ekonomi masalah rokok memang berdampak positif terhadap perekonomian, akan tetapi apabila ditinjau dari segi kesehatan rokok lebih banyak berdampak negatif. Dampaknya tidak hanya untuk perokok aktif tapi yang parah justru ke perokok pasif karena asap rokok sampingan yang terinhalasi mengandung dua kali lebih banyak bahan kimia toksik dibanding asap utama yang diinhalasi langsung dari rokok oleh perokok aktif. Apalagi bila asap rokok yang terinhalasi berasal dari jenis dan merk rokok yang berbeda-beda.

Dalam asap rokok terdapat bahan berbahaya, yaitu yang bentuknya gas dan bentuk padatan (partikel). Di antara komponen gas, karbon

monoksida (CO) merupakan gas yang prosentasenya paling besar dan merupakan gas yang dapat menyebabkan kematian dalam waktu singkat apabila terdapat secara berlebihan dalam darah. Hal ini disebabkan karena afinitas (daya ikat) Hb darah terhadap gas CO ± 200 kali lebih besar kemampuannya dibanding daya ikatnya terhadap oksigen (O₂). Akibatnya akan dapat terjadi hipoksia (kekurangan oksigen) dalam darah, dalam sel serta dalam jaringan sehingga akan dapat memengaruhi proses metabolisme tubuh termasuk di dalamnya metabolisme protein. Sedangkan komponen partikel dari asap rokok, terdiri dari dua bahan berbahaya, yaitu nikotin dan tar. Kedua partikel ini merupakan komponen yang paling berbahaya apabila terakumulasi dalam tubuh.

Bahan kimia dalam asap rokok, komposisinya dipengaruhi oleh banyak faktor. Beberapa faktor di antaranya, yaitu jenis rokok, jenis tembakau yang digunakan dan cara pengolahan tembakau khususnya kekeringan tembakau, berat bahan baku rokok, bahan tambahan rokok serta ada tidaknya filter termasuk panjang dan kerapatan filter yang berupa gabus berpori yang letaknya diujung batang rokok. Masyarakat umum berpandangan bahwa adanya penambahan filter pada pangkal batang rokok dapat



mengurangi kadar bahan toksik dalam asap rokok, sehingga masyarakat mengkonsumsinya secara berlebihan. Masyarakat menyebut rokok berfilter ini dengan nama “rokok putih”.

Berdasarkan studi epidemiologis di USA tahun 1969-1981, menunjukkan bahwa terjadi penurunan mortalitas kanker paru sebesar 20-25% pada perokok yang menghisap rokok-berfilter dibanding perokok yang menghisap rokok tanpa filter dalam jangka waktu lama. Dalam penelitian yang dilakukan oleh *British Columbia Ministry of Health* (BCMh) pada tahun 1998 juga menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kadar komponen dalam asap rokok antara jenis dan merk rokok yang berbeda (Aditama, 1992). Jenis rokok baik kretek tangan maupun mesin, mempunyai kadar senyawa toksik yang relatif tinggi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Danardono (2004), rokok kretek masih banyak digemari oleh masyarakat. Hal ini berdasar pada banyaknya omset penjualan rokok kretek antara tahun 2000 sampai 2002.

Berdasarkan uraian di atas, sistem respirasi dan sirkulasi adalah sistem utama tubuh yang berhubungan langsung dengan bahan toksik asap rokok terutama gas CO. Dalam hal ini peneliti kemudian melakukan penelitian mengenai kadar protein plasma darah tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) strain *Wistar* yang terdedah asap rokok-berfilter, dengan variabel pengukuran terhadap kadar protein plasma darah.

Dalam penelitian inhalatif ini, tikus putih dipakai sebagai simulasi perokok aktif yang dapat menggambarkan pengaruh asap rokok terhadap perokok aktif pada manusia. Tikus putih sering digunakan dalam penelitian karena merupakan kelompok *Mammalia* yang sistem imunnya lebih bagus dibanding *Mammalia* yang lain.

2. METODE

1.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus-September 2005 di dua tempat, yaitu: (1). Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP) LPPT III UGM sebagai tempat pemeliharaan, perlakuan pendedahan, pengukuran konsumsi oksigen dan (2). Laboratorium Balai Teknik Kesehatan Lingkungan (BTKL) sebagai tempat analisis kadar gas CO dalam sebatang rokok filter dan non filter.

1.2. Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah : (1). Kandang pemeliharaan ukuran (50 x 35 x 20) cm³ sebanyak 5 terbuat dari plastik yang atasnya dilengkapi tutup dari kasa strimin. Di atas strimin diletakkan botol minum ukuran ± 400 ml terbuat dari kaca sehingga tikus bisa minum secara *adlibitum*, (2). Satu set alat perlakuan terdiri dari 2 kotak plastik berukuran (40 x 40 x 50) cm³ yang disambungkan dengan sebuah pompa *vacuum* melalui 2 selang plastik, (3). Rangkaian respirometer modifikasi oleh D’Aoust (Kerkut, 1973) yang

meliputi sebuah manometer terbuka, 2 desikator (ruang respirasi) dan 2 selang plastik, serta (4). Alat untuk analisis kadar CO berupa *gas liquid chromatography*.

Bahan-bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah : (1). Tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) strain *Wistar* jantan sebanyak 15 ekor, umur 2 bulan dengan berat 150-160 gram dari UPHP UGM Yogyakarta, (2). Rokok jenis filter “Sampoerna A Mild” (3). Bahan pada alat respirometer meliputi larutan brodie, KOH dan faselin, (4). pakan tikus putih berupa pelet dan air minum berupa air ledeng, (5) Darah tikus putih sebanyak 2 ml pada setiap perlakuan dan ulangan.

1.3. Prosedur Kerja

Prosedur kerja dalam penelitian ini meliputi : (1). Tahap Pemeliharaan, (2). Tahap Perlakuan, dan (3). Tahap Pemeriksaan kadar protein plasma darah dengan cara membuka *daylight plate* pada refraktometer dan meneteskan setetes aquadest pada permukaan prisma dan menutup piringan penutupnya. Menentukan skala dengan meneropong lensa. Jika indeks skala belum tepat pada garis 1333, maka *scale adjusting knob* diputar hingga angka 1333. Langkah berikutnya kemudian membuka *daylight plate* dan membersihkannya dengan kertas hisap. Meneteskan setetes plasma darah hewan uji pada permukaan prisma dan menutup piringan penutupnya. Meneropong kembali lensa di tempat yang terang, angka akan terlihat disekitar garis yang menunjukkan kadar protein plasma darah.

1.4. Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola satu arah dengan 3 perlakuan dan setiap perlakuan 5 ulangan. Rinciannya sebagai berikut :

- 1). Kontrol : Tidak didedahkan asap rokok (P0).
- 2). Perlakuan I : Didedahkan asap rokok filter selama 10 hari (P1).
- 3). Perlakuan III : Didedahkan asap rokok filter selama 30 hari (P3).

Keterangan :

- Setiap hari tikus didedahkan selama 1 jam (± 6 batang rokok) pada pagi hari.
- Pemberian pakan sebanyak 50 gram pada pagi hari, penimbangan sisa pakan, pengisian air minum dan pengukuran sisa air minum, dilakukan setiap hari.
- Penimbangan berat badan dan pengukuran kadar protein plasma darah dilakukan pada awal sebelum perlakuan dan setelah perlakuan hari terakhir.
- Matriks rancangan percobaannya adalah sebagai berikut :

**Tabel 1.** Matriks rancangan percobaan

No	Kelompok Perlakuan	Lama pendedahan (hari) & Jmlh. hewan uji (ekor)			Waktu pengambilan sampel (hari ke-) & Jmlh. Hewan uji (ekor)			
		0	1	3	1	3	4	5
1	P0	3	-	-	-	-	-	3
2	PI	-	3	-	3	-	-	-
3	PII	-	-	3	-	3	-	-
4	Pemulihan PI & PII	-	√	-	-	-	√	-
Jumlah Total		3	3	3	3	3	-	3

Keterangan : √ = lama pendedahan

1.5. Analisis Data

Data yang diperoleh akan dianalisis dengan Analisis ANOVA satu jalur untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap variable yang diukur. Jika hasilnya berbeda nyata, akan dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) untuk mengetahui perbedaan rerata antar kelompok perlakuan (Snedecor & Cochran, 1982).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis kadar gas CO dalam sebatang rokok selama ± 15 menit menunjukkan adanya perbedaan kadar gas CO antara rokok-berfilter dan tanpa filter yaitu ± 230 ppm untuk yang berfilter dan ± 274 ppm untuk yang tanpa filter. Kadar tersebut termasuk tinggi berdasarkan kadar normal gas CO di udara bebas yaitu antara $0,01 - 0,23 \text{ mg/m}^3$ atau $1-23$ ppm (Anonim, 1987). Berdasarkan hasil analisis gas CO tersebut, menunjukkan bahwa filter mempunyai peranan dalam besarnya kadar bahan-bahan toksik yang keluar dari pangkal rokok yang dihisap. Tingginya kadar CO dalam asap rokok-berfilter ternyata dapat mempengaruhi terjadinya penurunan jumlah kadar protein plasma darah pada hewan uji. Hal ini terlihat dari hasil uji data penelitian secara statistik.

Pada kadar protein plasma darah, berdasarkan hasil uji statistik pada kelompok perlakuan menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata antara kelompok perlakuan dengan kontrol yang dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 2. Hasil Uji Statistik Pada Pengukuran Kadar Protein Plasma Darah

Sumber keragaman	JK	d	KT	F Hit	F Tabel	
		b			0,0	0,0
					5	1
Perlakuan	3,25	5	0,65	9,69*	3,1	5,0
Galat	8	2	2	*	1	6
	0,80		0,06			
	7		7			
Total	4,06	1				
	5	7				

Keterangan : **Di antara perlakuan-perlakuan terdapat perbedaan yang sangat nyata terhadap Kadar protein plasma masa perlakuan ($P < 0,01$).

Sedangkan uji DMRT, menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata antara kelompok perlakuan dengan kontrol dan antara kelompok pendedahan rokok-berfilter dengan tanpa filter. Hal ini berarti, keberadaan filter pada pangkal rokok dapat mempengaruhi penurunan kadar protein plasma dalam darah. Data hasil analisisnya dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 3. hasil uji DMRT kadar protein plasma darah

Kontrol	Rokok-berfilter	Rokok-tanpa filter
6,6833 ^a	6,2500 ^b	5,816 ^c
$R^2=0,801558$; $CV=4,148\%$		

Keterangan : huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada ($P < 0,05$)

Bila dilihat hubungannya dengan lama waktu pendedahan, berdasar uji DMRT terlihat adanya perbedaan yang nyata antara kelompok kontrol 10 hari dengan 10 hari (K_{10} dan P_1), kontrol 30 hari dengan 30 hari (K_{30} dan P_2) antara perlakuan rokok-berfilter 10 hari dan 30 (P_1 dan P_2) Kemudian perbedaan yang tidak nyata terlihat pada kelompok pendedahan menggunakan rokok-berfilter selama 10 hari dengan kelompok kontrol 10 hari (P_1 dan K_{10}). Hasil analisisnya dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 3. Kadar protein plasmapada perlakuan 10 hari dan 30 hari dengan rokok-berfilter

Kelompok				
	K_1	P_1	K	P
Ulangan	0		30	2
1	6,0	7,3	5,0	6,3
2	6,2	6,1	5,8	6,2
3	6,0	6,0	5,5	7,0
Rerata (x)	6,07a	6,47a	5,43b	6,5a
	b			

Keterangan : huruf yang sama menunjukkan tidak beda nyata pada ($P < 0,05$)



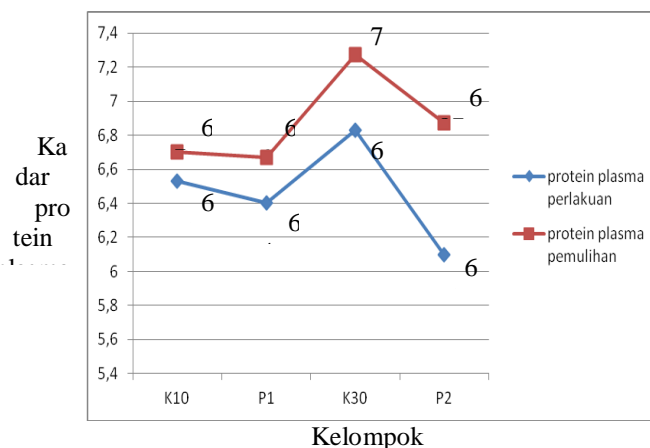
Adanya perbedaan yang sangat nyata ini setelah dihubungkan dengan lama waktu pendedahan, menunjukkan bahwa semakin lama hewan uji didedahkan dengan asap rokok, maka akan semakin menurunkan pula kadar protein plasmanya menjauhi normal. Hal ini kemungkinan besar disebabkan oleh kadar CO dalam asap rokok. Kadar protein plasma selama masa pemulihan mengalami kenaikan yang berbeda tidak nyata. Hasil analisisnya dapat dilihat pada tabel 4 berikut :

Tabel 4. Kadar protein plasma(g/dl) pada masa pemulihan

Kelompok	K10	P1	K30	P2
Ulangan				
1	7,1	6,7	7,0	6,6
2	6,4	6,9	7,8	7,2
3	6,6	6,4	7,0	6,8
Rerata (x)	6,70ab	6,67ab	7,83a	6,87ab

Keterangan : huruf yang sama menunjukkan tidak beda nyata pada ($P < 0,05$)

Perbedaan tidak wajar yang terlihat pada perlakuan lama waktu pendedahan 10 hari dengan 30 hari ini, dapat disebabkan oleh beberapa faktor termasuk diantaranya yaitu kesalahan teknis. Adanya kesalahan teknis bisa terjadi karena pada saat penetasan plasma darah pada alat ukur (refraktometer), tercampur dengan serum darah yang ada di lapisan bawahnya, mengingat setelah disetrugasi kemungkinan plasmanya tidak segera diambil dengan pipet. Apabila agak lambat dalam pengambilan plasmanya karena banyaknya sampel yang diambil, maka harus diadakan sentrifugasi ulang. Hal inilah kemungkinan yang kurang disadari oleh peneliti. Sedangkan hubungan kadar protein plasma setelah perlakuan dan masa pemulihan, terlihat pada grafik berikut ini :



Gambar 1. Grafik Kadar Protein Plasma Darah Masa Perlakuan Dan Masa Pemulihan

Proses keseluruhan yang terjadi di dalam tubuh, dengan adanya gas CO yang terhirup saat perlakuan menyebabkan terjadinya perebutan sisi aktif Hb darah oleh O₂ dan gas CO. Perebutan ini menyebabkan terbentuknya karboksihemoglobin (COHb) yang mengakibatkan O₂ yang larut dalam plasma darah menjadi sedikit dan tekanan parsial oksigen (PO₂) dalam darah menurun. Kondisi ini memicu kemoreseptor O₂ yang berupa katekolamin untuk menyampaikan impuls ke saraf ke area inspiratori sehingga terjadilah peningkatan laju respirasi. Peningkatan ini lebih diperkuat dengan adanya nikotin yang mempunyai efek nikotik pada acetilkolin sehingga mengganggu sistem saraf untuk meneruskan impuls. Dalam hal ini nikotin yang memiliki gugus molekul mirip dengan acetilkolin merebut sisi aktif dari enzim yang bekerja pada daerah sinap sehingga hal ini dapat menyebabkan terganggunya penerusan sinyal listrik pada sistem saraf khususnya di daerah sinap. Selain itu efek nikotik ini juga dapat menyebabkan depolarisasi sel-sel otot skelet yang diikuti oleh adanya kekejangan otot. Meningkatnya laju respirasi oleh kedua faktor tersebut, diikuti pula oleh adanya peningkatan frekwensi inspirasi dan ekspirasi sehingga menyebabkan otot-otot pernafasan bekerja lebih cepat dari biasanya serta memicu dikeluarkannya hormon kortikosteroid untuk mengurangi kekejangan pada otot pernafasan.

Apabila kekejangan otot ini terus menerus berlangsung, akan dapat menyebabkan otot paralisis yang berakibat terjadinya kegagalan pernafasan (tidak normalnya pertukaran O₂ dan CO₂). Kondisi ini menyebabkan terjadinya hipoksia ditingkat jaringan yang dapat menstimulus sistem saraf pusat sehingga kelenjar adrenal bagian medula dikontak agar mengeluarkan hormon aldosteron ke ginjal sehingga sel junkstaglomerulosa pada ginjal terangsang dan akan mensekresikan eritropoietin yang bisa menstimulasi sumsum tulang merah untuk menjalankan proses eritropoiesis lebih cepat, akibatnya eritrosit yang diproduksi meningkat pula. Dengan meningkatnya produksi eritrosit, maka kadar Hb darah dan persentase hematokrit akan meningkat



pula. Meningkatnya kadar Hb akan menyebabkan viskositas (kekentalan) darah berubah, kondisi ini akan memicu hati untuk memproduksi protein-protein komponen plasma darah seperti albumin, globulin, fibrinogen dan protrombin secara berlebihan. Tapi karena sel-sel hati dan sel Kupffer terganggu kerjanya akibat adanya residu karbon dari CO, maka sistem saraf pusat akan mengontak kelenjar adrenal bagian medula untuk mengeluarkan hormon ACTH (Adrenokortikotropik) ke hati untuk membantu merangsang produksi protein-protein seperti β dan γ -globulin, agar pesanan-pesanan protein plasma terpenuhi sehingga kekentalan darah tetap terjaga dan tekanan osmosa darah tetap stabil. Tetapi bila kondisi hipoksia ini berlangsung lama, maka besarnya kadar protein plasma juga akan semakin menurun.

4. SIMPULAN

Adanya filter pada pangkal sebatang rokok dapat menurunkan besarnya kadar CO dalam asapnya sekitar 16,3 %. Hal ini terlihat dari adanya perbedaan besarnya kadar CO dari rokok-berfilter \pm 230 ppm dan rokok-tanpa filter \pm 274 ppm per batang rokoknya.

Adanya filter pada pangkal sebatang rokok tetap berbahaya bagi kesehatan karena dapat menurunkan kadar protein plasma darah tikus putih.

Semakin lama masa pemulihan dengan asap rokok-berfilter diberlakukan, maka akan semakin menaikkan pula kadar protein plasma darah hewan uji sampai mencapai normal.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Arifin, Aditama, T. Y., (1992). Rokok dan Kesehatan. Jakarta: UI Press.
- Chiasson, R. B., (1983). Laboratory Anatomy of The White Rat. USA: Wm. C. Brown Company Publishers.
- Danardono, A. (2004). Dinamika Persaingan Industri Rokok Kretek di Indonesia (Studi Kasus PT. Djarum, 2000-2002). Yogyakarta: Tesis. PS. Magister Management UGM.
- Fidrianny, Irda, Supardja, IGNA & Soemardji, A.A., (2004). Analisis Nikotin dalam Beberapa Organ Mencit Jantan yang telah Menghirup Asap Rokok. Publikasi Hasil Penelitian. Departemen Farmasi ITB. Jakarta: Majalah Farmasi Indonesia.
- Ganong, W.F.G., (1995). Review of Medical Physiology (Buku Ajar Fisiologi Kedokteran) (Petrus Andrianto. Terjemah). Jakarta: EGC.
- Herman (1997). Pengaruh Gas Asap Buang Bahan Bakar Solar Terhadap Darah dan Struktur Organ Pernafasan Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.). Yogyakarta: Tesis. PS. Biologi Fakultas Biologi UGM.
- Kerkut, G. A., (1973). Experiments in Physiology and Biochemistry. London and New York: Academic Press.
- Lehninger, A.L., (1993). Dasar-dasar Biokimia. Jilid 1 (Dr. Ir. Maggy Thenawidjaja. Terjemah). Jakarta: Erlangga.
- Loeppky, J.A. and Riedesel, M.L., (1982). Oxygen Transport To Human Tissues. New York: sevier North Holland, Inc.
- Lu, F.C., (1995). Toksikologi Dasar: Asas, Organ Sasaran dan Penilaian Resiko. Jakarta: UI Press.
- Marshall, P.T and Hughes, G.M., (1980). Physiology of mammals and other vertebrates. Melbourne Sydney: Cambridge University Press.
- Nikinmaa, M. (1990). Vertebrate Red Blood Cells, Adaptations of Functions to Respiratory Requirements. New York: Springer-Verlag Heidelberg.
- Prisco, G.D., Giardina, B. and Weber, R.E., (2000). Hemoglobin Function in Vertebrates, Molecular Adaptation in Extreme and Temperate Environment. Italia. Milano : Springer-Verlag.
- Smith, J.B. and Mangkoewidjojo, S. (1988). Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis. Jakarta: UI Press.
- Snedecor, G.W. and Cochran, W.G., (1982). Statistical Methods: 7th ed. USA: The Iowa University Press.
- Yuningtaswari. (2001). Pengaruh Asap Berbagai Jenis Rokok Terhadap Peroksidasi Lipid Plasma Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.). Yogyakarta: Tesis. PS. IKD dan Biomedis Fakultas Kedokteran UGM.

**Diskusi:****Penanya:****Dr Slamet Hariyadi M.Si (UNEJ)**

Untuk yang kontrol menggunakan kretek/tidak?
Protein plasma normalnya berapa ?

Jawab:

Kontrol tidak memakai kretek dengan protein plasma 5,84 grm/dl.

Saran:

Rokok diujicobakan untuk mengetahui tingkat penanganan stress