

Analisa Cotinine Pada Urin Perokok Aktif dengan Metode Immunochromatography Assay

Cotinine Analysis in Active Smoker's Urine by Immunochromatography Assay Method

Putri Nabilatus Sholikhah¹, Tri Ana Mulyati^{1*}, Fery Eko Pujiono¹

¹ Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri

* nanapujiono@gmail.com

ABSTRAK

Rokok merupakan produk utama hasil pengolahan tembakau. Cotinine sering digunakan menjadi biomarker dalam pemeriksaan paparan nikotin karena memiliki waktu paruh 15-20 jam dalam darah. Senyawa ini mudah dideteksi dalam saliva, urin dan darah. Cotinine dalam urin dapat dideteksi menggunakan immunochromatography assay. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui gambaran hasil pemeriksaan cotinine pada urin perokok aktif menggunakan metode immunochromatography assay di Desa Sumuragung Bojonegoro. Penelitian ini menggunakan desain penelitian metode deksriptif yang mengumpulkan 26 perokok di Desa Sumuragung Bojonegoro yang dipilih menggunakan teknik purposive sampling. Sebanyak 26 sampel urin dideteksi menggunakan metode immunochromatography assay. Hasil pemeriksaan cotinine pada urin perokok aktif menunjukkan bahwa terdapat 25 orang (96%) positif dan 1 orang (4%) negatif. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa dalam urin perokok aktif mengandung cotinine.

Kata kunci: cotinine, rokok, urin, Immunochromatography Assay

ABSTRACT

Cigarettes are the main product of tobacco processing. Cotinine is often used as a biomarker in the assessment of nicotine exposure because it has a half-life of 15-20 hours in the blood. This compound is easily detected in saliva, urine and blood. Cotinine in urine can be detected using an immunochromatography assay. The purpose of this study was to describe the results of cotinine examination in the urine of active smokers using the immunochromatography assay method in Sumuragung Village, Bojonegoro. This study used a descriptive research design that collected 26 smokers in the village of Sumuragung Bojonegoro who were selected using a purposive sampling technique. A total of 26 urine samples were detected using the immunochromatography assay method. The results of cotinine examination in the urine of active smokers showed that there were 25 people (96%) positive and 1 person (4%) negative. Based on the results of the study, it can be concluded that the urine of active smokers contains cotinine.

Keywords: cotinine, cigarette, urine, Immunochromatography Assay

PENDAHULUAN

Rokok merupakan produk utama hasil olahan tembakau yang digunakan dengan cara dibakar, dihisap dan dihirup. Menurut data WHO (2017) pada tahun 2007–2016 terjadi kenaikan konsumsi tembakau di dunia dari 20% menjadi 39%. Indonesia menjadi negara dengan konsumsi rokok tertinggi di Asia Tenggara yakni mencapai 34% pada tahun 2015

(WHO, 2017). Merokok dapat menyebabkan beberapa penyakit seperti penyakit paru, jantung koroner dan kanker (Trisanti, 2016)

Sebagaimana tertulis dalam PP No. 109 Tahun 2012 rokok mengandung nikotin dan tar. Nikotin merupakan senyawa adiktif yang terkandung dalam rokok. Senyawa ini secara tidak langsung menstimulasi pelepasan dopamin (Robles & Sabriá, 2011). Dalam bentuk asap nikotin juga dapat merangsang pembentukan kanker karena diabsorpsi dengan cepat oleh tubuh (Alegantina, 2017). Nikotin yang telah terserap akan dimetabolisme dihati dengan bantuan enzim CYP2A6. Salah satu hasil metabolisme nikotin adalah *cotinine* (Benowitz dkk., 2010).

Cotinine merupakan metabolit mayor nikotin yang sering digunakan sebagai *biomarker* dalam pemeriksaan paparan nikotin (Raja dkk., 2016). Senyawa ini memiliki waktu paruh lebih lama dibanding nikotin yakni 15–20 jam, sementara nikotin hanya memiliki 1–2 jam dalam darah (Ghosheh dkk., 2000). *Cotinine* mudah dideteksi dalam cairan tubuh seperti saliva, urin dan darah (Raja dkk., 2016). Dalam urin *cotinine* memiliki konsentrasi yang cukup tinggi yakni 10–15% (Benowitz dkk., 2010). Pada penelitian Sharma dkk. (2019) menemukan bahwa kadar *cotinine* dalam urin lima kali lebih tinggi dibanding kadar *cotinine* dalam saliva.

Kadar *cotinine* dapat dideteksi menggunakan GC-MS, HPLC, ELISA dan LC-MS (da Cunha dkk., 2013; Ghosheh dkk., 2000; Mahabee-gittens dkk., 2020). Secara kualitatif *cotinine* dapat diketahui menggunakan *immunochemistry assay*. Cara kerja alat ini mudah dan efisien. Menggunakan spesimen urin, alat ini dapat mendeteksi *cotinine* dengan kadar diatas 200 ng/ml. Alat ini memiliki sensitivitas 99,5%, spesifitas 92,0% dan akurasi 99,4% (Achilihu dkk., 2019). Hal ini juga didukung dengan penelitian Gruzdzys, dkk (2020) yang menunjukkan bahwa setelah dikomparasikan dengan LC-MS metode immunoassay untuk uji kotinin dengan sensitivitas sekitar 99% karena sensitivitasnya terhadap 3-OH-Cotinine.

Berdasarkan data kuesioner perilaku hidup bersih dan sehat (PHBS) yang dilakukan pada bulan Februari 2020 jumlah perokok di Desa Sumuragung masih tergolong cukup banyak, sehingga dikategorikan tidak sehat. Untuk mengetahui keberadaan nikotin, maka digunakan *cotinine* urin sebagai *biomarker* pemeriksaan. *Cotinine* urin dideteksi menggunakan *immunochemistry assay*.

METODE PENELITIAN

Pada penelitian ini menggunakan metode deskriptif. Sampel di ambil di Desa Sumuragung Bojonegoro pada bulan Febuari–Juli 2020. Pengumpulan sampel dilakukan dengan cara *purposive sampling*. Kriteria responden yang dipilih antara lain berjenis kelamin laki-laki, usia 25-40 tahun, perokok aktif, sudah merokok 5-10 tahun, merokok 5-10 batang perhari, dan hanya merokok rokok kretek. Terdapat 26 responden yang sesuai dengan kriteria. Alat yang digunakan dalam pemeriksaan *cotinine* antara lain COT *Rapid Test Cassette (Urine)* RightSign® dengan nilai *cut-off* 200ng/ml, *droppers*, tempat penampung

urin dan *timer*. Spesimen yang digunakan adalah urin pagi. Urin yang sudah ditampung dipipet dengan *dropper* sebanyak 3 tetes (120 µl) kemudian diteteskan pada sumuran alat, ditunggu hingga garis warna muncul. Hasil dibaca tepat 5 menit jangan dibaca setelah 10 menit (RightSign, 2015).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilaksanakan di Desa Sumuragung Bojonegoro diperoleh hasil sebagai berikut .:

Tabel 1 Karakteristik responden berdasarkan usia

No	Usia	Jumlah	%
1	>30 tahun	8	31
2	>30 tahun	18	69
Total		26	100

Sumber : Data primer 2020

Tabel 2 Hasil pemeriksaan *cotinine* urin perokok aktif di Desa Sumuragung Bojonegoro Tahun 2020

No	Hasil	Jumlah	%
1	Positif	25	96
2	Negatif	1	4
Total		26	100

Sumber : Data primer 2020

Pada penelitian ini telah dilaksanakan pemeriksaan *cotinine*. tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui keberadaan *cotinine* dalam urin perokok aktif. Penelitian ini menggunakan spesimen urin karena dalam urin banyak mengandung metabolit nikotin yang diekskresikan dan konsentrasi *cotinine* urin juga tinggi (Benowitz dkk., 2017; Kim, 2016 Mattes dkk., 2014). Dalam urin *cotinine* memiliki konsentrasi lebih dari 10-15%, sementara dalam darah konsentrasi *cotinine* hanya 5% (Benowitz dkk., 2010). Pada penelitian yang dilakukan Sharma dkk. (2019) menemukan bahwa kadar *cotinine* dalam urin lima kali lebih tinggi dibanding dalam saliva. Jenis urin pagi merupakan spesimen yang ideal untuk tes *screening* karena memiliki konsentrasi yang pekat sehingga dapat mendeteksi bahan kimia dan bahan lain yang tidak ditemukan di dalam urin sewaktu (Strasinger & di Lorenzo, 2008).

Alat *immunochemistry assay* pada pemeriksaan *cotinine* menggunakan prinsip reaksi kompetitif. Reaksi ini efektif digunakan untuk melacak molekul yang kecil dengan epitop tunggal yang tidak dapat mengikat dua antibodi sekaligus (Handoyo, 2003). Kelebihan dari metode ini adalah cara penggunaan yang mudah dan efisien, volume sampel yang dibutuhkan tidak terlalu banyak dan biaya tidak mahal (Achilihu dkk., 2019).

Pada penelitian ini responden berjenis kelamin laki-laki digunakan sebagai sampel karena jumlah perokok laki-laki lebih tinggi dibanding perokok perempuan (Riskesdas, 2018). Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel 1, diketahui kelompok usia lebih dari 30 tahun terdapat 69%, sedangkan kelompok usia kurang dari 30 tahun hanya 31 %. Hasil penelitian ini sesuai dengan data Riskesdas (2018) yang menunjukkan bahwa pada usia 30 tahun ke atas jumlah perokok aktif cenderung meningkat. Hal ini dapat disebabkan karena

pada kelompok usia tersebut umumnya seseorang kurang memperhatikan gaya hidup dan kesehatan, termasuk merokok (Mariani, 2018).

Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel 2, hasil pemeriksaan *cotinine* pada urin perokok aktif di Desa Sumuragung Bojonegoro, menunjukkan hasil positif terdapat 96% dan hasil negatif hanya 4%. Hal ini disebabkan adanya perbedaan kadar *cotinine* urin yang terdeteksi oleh alat. Alat yang digunakan memiliki nilai *cut-off* atau batas minimal yakni 200 ng/ml (RightSign, 2015). Hasil ini sesuai dengan penelitian Achilihu dkk., (2019) yang menunjukkan bahwa tes strip positif menunjukkan kadar *cotinine* lebih dari 200 ng/ml dan tes strip negatif kadar *cotinine* kurang dari 200 ng/ml. Kadar *cotinine* dapat berkurang sehingga tidak mencapai 200 ng/ml dapat disebabkan seorang tidak mengonsumsi rokok karena *cotinine* dapat dideteksi 2–3 hari setelah mengonsumsi rokok (RightSign, 2015). Mengonsumsi obat seperti *methoxsalen*, *tranylcypromine*, *tryptamine* dan *coumarin* juga dapat mengakibatkan kadar nikotin dan *cotinine* menurun karena obat-obat tersebut menghambat kerja CYP2A6 (Benowitz dkk., 2010).

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa sebagian besar perokok aktif positif mengandung *cotinine* dalam darah. Adanya *cotinine* dalam urin perokok dapat disebabkan oleh metabolisme nikotin menjadi *cotinine* yang dimediasi oleh CYP2A6 di hati, sebanyak 10% *cotinine* diekskresikan di urin. Hasil ini sesuai dengan penelitian Nagano dkk. (2010) yang menunjukkan bahwa perokok aktif di Jepang terbukti positif *cotinine*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pemeriksaan *cotinine* di Desa Sumuragung Bojonegoro menggunakan metode *immunochromatography assay* dari 26 sampel didapatkan hasil positif sebanyak 25 orang (96%) dan 1 orang (4%) negatif, sehingga dapat diketahui bahwa dalam urin perokok aktif mengandung *cotinine* sebagai senyawa turunan nikotin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata yang telah memberikan support selama penelitian ini berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

- Achilihu H., Feng J, Wang L, dan Bernert JT. Tobacco Use Classification by Inexpensive Urinary Cotinine Immunoassay Test Strips. *Jornal of Analytical Toxicology*. 2019;43:149–53.
- Alegantina Sukmayati. Penetapan Kadar Nikotin dan Karakteristik Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum L.*). *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pelayanan Kesehatan*. 2017;1(2):113–19.
- Balhara YPS, dan R. Jain. A Receiver Operated Curve-Based Evaluation of Change in Sensitivity and Specificity of Cotinine Urinalysis for Detecting Active Tobacco Use. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*. 2013;9(1):84–89.

- Benowitz NL, Hukkanen J, dan Peyton Jacob III. Nicotine Chemistry, Metabolism, Kinetics and Biomarkers. National Institute of Health Public Access. 2010;192:29–60.
- Benowitz NL, Helen GS, Dempsey DA, Peyton Jacob III, dan Tyndale RF. Disposition Kinetics and Metabolism of Nicotine and Cotinine in African American Smokers : Impact of CYP2A6 Genetic Variation and Enzymatic Activity. *Pharmacogenet Genomics*. 2017;26(7);340–50
- da Cunha LC, Oliveira FGF, dos Santos LR, Pucci LL, Neto JRO, Rahal RMS, dan Junior RF. A Simplified Method for The Analysis of Urinary Cotinine by GC-MS. *Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences*. 2013;34(2):177–82.
- Ghosheh OA, Browne D, Rogers T, de Leon J, Dwoskin LP, dan Crooks PA. A Simple High Performance Liquid Chromatographic Method for the Quantification of Total Cotinine, Total 3'-Hydroxycotinine and Caffeine in the Plasma of Smokers. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2000;23:543–49.
- Gruzdy, Valentinas; Signorelli, Heather; Johnson-Davis, Kamisha L. NicAlert™ test strip performance comparison with LC-MS/MS and immunoassay methods for nicotine and cotinine. *Archives of Clinical Toxicology*, 2020, 2.2: 19-24.
- Handojo Indro. Pengantar Imunoasai. Surabaya : Pusat Penerbit dan Percetakan Unair. 2003.
- Kim Sungroul. Overview of Cotinine Cutoff Values for Smoking Status Classification. *Int J Environ Res Public Health*. 2016;13(1236):1–15.
- Mahabee-gittens EM, Mazella MJ, Doucette JT, Merianos AL, Stone Lara, dkk. Comparison of Liquid Chromatography Mass Spectrometry and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Methods to Measure Salivary Cotinine Levels in Ill Children. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(1157):1–12.
- Mariani K. R.; and Kartini K. Derajat Merokok Berhubungan Dengan Kadar Hemoglobin Pada Pria Usia 30-40 Tahun. *Jurnal Biomedika Dan Kesehatan*. 2018;1(1):85–92.
- Mattes William, Pharmpoint Consulting, Michael S. Orr, and Human Services. Biomarkers of Tobacco Smoke Exposure. *Advance in Clinical Chemistry*. 2014;67(173):1–45.
- Muscat J.E., Stellman S.D., Caraballo R.S., and Richie Jr J.P. Time to First Cigarette After Waking Predicts Cotinine Levels. National Institute of Health Public Access. 2010;18(12):3415–20.
- Nagano T, Shimizu M, Kiyotani K, Kamataki T, Takano R, dkk. Biomonitoring of Urinary Cotinine Concentrations Associated with Plasma Levels of Nicotine Metabolites after Daily Cigarette Smoking in a Male Japanese Population. *Int J Environ Res Public Health*. 2010;(7):2953–64.
- Pemerintah Indonesia. 1999. Peraturan Pemerintah No 81 Tahun 1999 Tentang Pengamanan Rokok Bagi Kesehatan.
- Raja M, Garg A, Yadav P, Jha K., and Handa S. 2016. Diagnostic Methods for Detection of Cotinine Level in Tobacco Users : A Review. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 10(3), 4–6.
- RightSign. 2015. COT Rapid Test Cassette (Urine) Package Insert.

- Riskesdas. 2018. Laporan Nasional RISKESDAS 2018. Jakarta : Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Robles N, and Sabriá J. Effects of Ethanol and Nicotine on Human CNS Development. Reproductive and Developmental Toxicology. Elsevier Inc. 2011. Hlm 333-339
- Sharma P, Sane N, Anand SD, Marimutthu P, and Benegal V. Assessment of Cotinine in Urine and Saliva of Smokers, Passive Smokers, and Nonsmokers: Method Validation Using Liquid Chromatography and Mass Spectrometry. Indian J Psychiatry. 2019;61(3):270–76.
- Strasinger S.K., and di Lorenzo M.S. Urinalysis and Body Fluids Edisi ke-5 Philadelphia: F.A Davis Company. 2008.
- Trisanti Ika. Remaja dan Perilaku Merokok. The 3rd University Research Colloquium. 2016;328–42.
- WHO. WHO Report on the Global Epidemic 2017: Monitoring Tobacco Use and Prevention. Geneva : WHO. 2017.