

INFORMASI LABORATORIUM

ISSN 0854-7165 | No. 2/2020

ABNORMALITAS LABORATORIUM YANG UMUM DITEMUKAN PADA PASIEN DENGAN INFEKSI COVID-2019

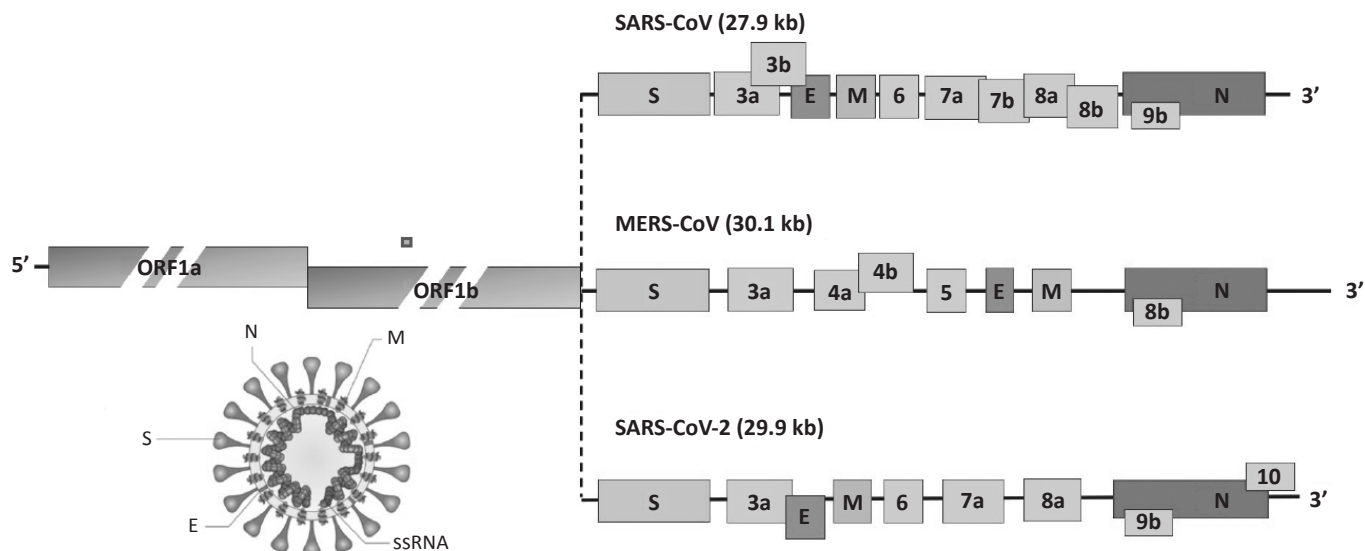
PENDAHULUAN

Coronavirus disease 2019 (COVID-19) merupakan suatu bentuk zoonosis pernapasan dan sistemik yang disebabkan oleh virus famili Coronaviridae, berasal dari kota Wuhan di Tiongkok, saat ini menyebar di seluruh dunia, sehingga masuk ke dalam kategori pandemi keadaan darurat. Menurut statistik terbaru dari *World Health Organization* (WHO), penyakit ini telah melibatkan semua benua, dengan lebih dari 169.524 kasus yang didiagnosis di 157 negara dan wilayah di seluruh dunia, dengan jumlah kematian 6.515 hingga 16 Maret 2020. Meskipun tingkat keparahan COVID-19 lebih rendah dibandingkan dengan dua penyakit coronavirus sebelumnya, yaitu *Middle East Respiratory Syndrome* (MERS-CoV) dan *Severe Acute Respiratory Syndrome* (SARS-CoV), masa inkubasi yang panjang dan patogenisitas yang relatif rendah berkontribusi dalam semakin menyebarnya COVID-19 baik di dalam maupun di luar Cina (1,2,3).

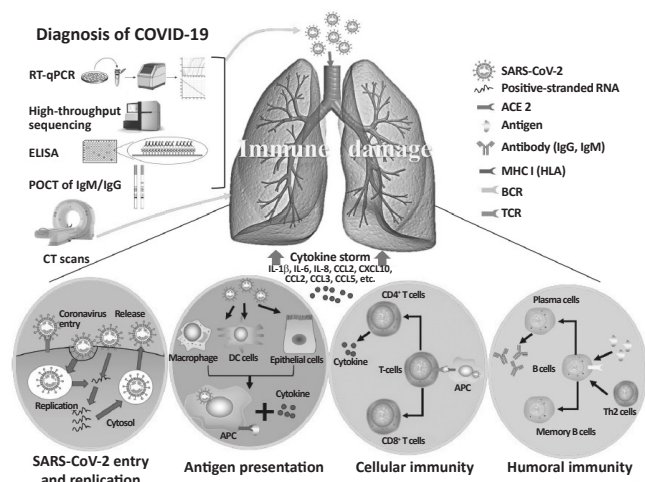
DIAGNOSIS ETIOLOGIS CORONAVIRUS DISEASE 2019

Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) adalah kelainan peradangan pada parenkim paru yang disebabkan oleh *Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2* (SARS-CoV-2). Studi Zhu *et al.* telah mengidentifikasi dan mengkarakterisasi SARS-CoV-2 (sebelumnya 2019-nCoV), sekuensing genom virus menunjukkan bahwa 75-80% identik dengan SARS-CoV dan lebih erat terkait dengan beberapa coronavirus kelelawar (Gambar 1 di halaman 2) (5).

Diagnosis klinis COVID-19 terutama didasarkan pada riwayat epidemiologi, manifestasi klinis dan beberapa pemeriksaan penunjang, seperti deteksi asam nukleat (RT-PCR, *Genome Sequencing*), CT scan, serologi IgM/IgG, dan kultur darah. Namun, gejala klinis pasien yang terinfeksi SARS-CoV-2 tidak khas, termasuk gejala pernapasan, batuk, demam, dispnea, oleh karena itu pemeriksaan penunjang diperlukan untuk diagnosis COVID-19, selain riwayat epidemiologis. Pemeriksaan PCR terhadap kontak tanpa gejala atau asimtomatik ringan dapat dipertimbangkan untuk dilakukan sebagai penilaian terhadap individu yang pernah melakukan kontak dengan kasus COVID-19 (6,7).



Gambar 1. Struktur Genome SARS-CoV, MERS-CoV, dan SARS-CoV2 (6).



Gambar 2. Diagnosis COVID-19 (6).

Nucleic acid amplification tests (NAAT) untuk virus yang menyebabkan COVID-19 didasarkan pada pendeteksian sekuens unik dari virus RNA dengan *real-time reverse transcription polymerase chain reaction* (rRT-PCR) dengan konfirmasi pengurutan asam nukleat. Gen virus yang ditargetkan sejauh ini termasuk gen N, E, S dan RdRP. Ekstraksi RNA harus dilakukan dalam kabinet *biosafety level* di fasilitas BSL-2 atau yang setara (7).

Selain pemeriksaan NAAT, pemeriksaan serologis juga dapat membantu penyelidikan wabah yang sedang berlangsung dan penilaian retrospektif dari tingkat atau luasnya wabah. Pada kasus di mana tes NAAT negatif dan ada riwayat epidemiologis infeksi COVID-19 yang kuat, maka hasil pemeriksaan serologi untuk mendeteksi antibodi IgG dan IgM pada fase akut dan fase pemulihan dapat digunakan untuk mendukung diagnosis infeksi (7).

PEMERIKSAAN LABORATORIUM UNTUK PROGNOSIS PASIEN INFeksi COVID-19

Pemeriksaan laboratorium juga diperlukan untuk menilai tingkat keparahan penyakit, menentukan prognosis, pemantauan pengobatan dan terapeutik (1,4). Sejumlah 11 studi menggambarkan kelainan laboratorium yang signifikan pada pasien dengan COVID-19, di mana 8 studi di antaranya melaporkan tingkat hasil tes laboratorium yang abnormal. Studi tambahan yang dilakukan Pan *et al.* yang melibatkan 21 pasien (71% wanita; rentang usia, 25-63 tahun) dengan infeksi COVID-19 yang tidak parah, melaporkan kelainan yang paling sering, termasuk peningkatan kadar *C-reactive protein* (CRP), *erythrocyte sedimentation rate* (ESR), *lactate dehydrogenase* (LDH) dan D-dimer (1).

Studi Wang *et al.* meneliti karakteristik 6 parameter laboratorium selama 19 hari masuk rumah sakit pada 138 pasien dengan infeksi COVID-19 (33 dengan penyakit parah), 5 di antaranya meninggal selama di rumah sakit. Pada studi tersebut didapatkan beberapa perbedaan signifikan antara pasien yang membutuhkan *intensive care unit* (ICU) dan mereka yang tidak, yaitu jumlah sel darah putih (leukosit) yang lebih tinggi (1,5 kali), jumlah neutrofil yang lebih tinggi (1,7 kali), jumlah limfosit lebih rendah (0,9 kali), serta nilai LDH (2,1 kali), *alanine aminotransferase* (ALT) (1,5 kali), *aspartate aminotransferase* (AST) (1,8 kali), total bilirubin (1,2 kali), kreatinin (1,1 kali), troponin I jantung (2,2 kali), D-dimer (2,5 kali) dan prokalsitonin (1,2 kali) yang lebih tinggi. Pasien yang memerlukan ICU mempunyai nilai prokalsitonin rata-rata lebih tinggi >3 kali daripada mereka yang tidak (75% vs 22%; $p < 0,001$). Pada pasien yang meninggal lebih sering didapatkan limfopenia dan leukositosis, bersama dengan nilai abnormal D-dimer, nitrogen urea darah, dan kreatinin.

Pada studi Zhang *et al.* berdasarkan 140 pasien COVID-19 (58 dengan penyakit parah), didapatkan hasil yang lebih tinggi pada nilai D-dimer (2 kali), CRP (1,7 kali) dan prokalsitonin (2 kali) dibandingkan pasien dengan infeksi ringan.

Studi Huang *et al.* yang melibatkan 140 pasien COVID-19 (13 dengan penyakit parah), menunjukkan prediktor signifikan pasien masuk ICU adalah leukositosis (2,0 kali), neutrofilia (4,4 kali), limfopenia (0,4 kali), waktu pro trombin (peningkatan 1,14 kali), D-dimer (peningkatan 4,8 kali), albumin (penurunan 0,8 kali), ALT (peningkatan 1,8 kali), total bilirubin (peningkatan 1,3 kali), LDH (peningkatan 1,4 kali) dan prokalsitonin yang nilainya meningkat pada 25% pasien yang dirawat di ICU dibandingkan dengan 0% yang tidak ($p = 0,029$).

Studi Liu *et al.* menemukan bahwa tingkat keparahan penyakit dapat diprediksi oleh limfopenia, neutrofilia, nilai albumin yang rendah, serta peningkatan nilai LDH dan CRP. Kemudian studi Tang *et al.* menindaklanjuti 183 pasien dengan infeksi COVID-19 yang dikonfirmasi (54% wanita; usia rata-rata, 54 tahun) selama mereka tinggal di rumah sakit, dan menemukan bahwa parameter koagulasi lebih sering terganggu pada pasien yang meninggal ($n=21$) daripada yang selamat. Khususnya pada pasien yang meninggal ditemukan peningkatan nilai *fibrin/fibrinogen degradation product* (FDP) (1,14 kali), PT (3,5 kali), D-dimer (1,9 kali) daripada yang selamat. Secara keseluruhan, 71,4% pasien yang meninggal memenuhi kriteria diagnosis *disseminated intravascular coagulation* (DIC) dibandingkan dengan hanya 0,6% yang selamat (1).

Meskipun terdapat beberapa keterbatasan dalam studi literatur ilmiah ini (yaitu jumlah sampel yang terbatas, semua kasus COVID-19 berasal dari negara yang sama, definisi operasi dan studi klinis belum selesai), menunjukkan bahwa parameter laboratorium yang abnormal pada pasien dengan COVID-19, dapat digunakan sebagai prediktor terhadap perkembangan penyakit (Tabel 1). Dengan pengecualian studi Liu *et al.* yang hanya mencakup anak-anak dengan infeksi COVID-19 ringan, kelainan yang paling sering adalah limfopenia (35-75% kasus), peningkatan nilai CRP (75-93% kasus), LDH (27-92% kasus),

Tabel 1. Karakteristik laboratorium pada pasien COVID-19 dengan prognosis yang buruk (1).

■ Peningkatan sel darah putih
■ Peningkatan neutrofil
■ Penurunan limfosit
■ Penurunan albumin
■ Peningkatan <i>lactate dehydrogenase</i> (LDH)
■ Peningkatan <i>alanine aminotransferase</i> (ALT)
■ Peningkatan <i>aspartate aminotransferase</i> (AST)
■ Peningkatan bilirubin total
■ Peningkatan kreatinin
■ Peningkatan <i>cardiac troponin</i>
■ Peningkatan D-Dimer
■ Peningkatan <i>Prothrombin Time</i> (PT)
■ Peningkatan Procalcitonin
■ Peningkatan <i>C-reactive protein</i> (CRP)

ESR (hingga 85% kasus) dan D-dimer (36-43% kasus), serta konsentrasi albumin serum (50-98% kasus) dan hemoglobin (41-50%). Beberapa kelainan laboratorium yang digunakan untuk prognosis hasil buruk, dirangkum dalam Tabel 1 (1).

Pada pasien infeksi COVID-19 baru biasanya hasil pemeriksaan prokalsitonin dan koagulasi masih normal, lalu terjadi peningkatan progresif terhadap kedua parameter tersebut dimana hal ini mencerminkan prognosis yang buruk. Hal ini berbeda dengan pasien infeksi virus (sepsis virus) lainnya di mana kadar prokalsitonin serum umumnya normal, sementara peningkatannya secara bertahap mungkin mencerminkan superinfeksi bakteri, yang kemudian dapat berkontribusi pada perjalanan klinis yang lebih buruk. Pemeriksaan hemostasis digunakan untuk mendiagnosis DIC yang biasanya terjadi pada hampir 75% pasien yang meninggal, sehingga tes ini cukup penting, dilakukan untuk pemantauan pasien COVID-19 (1).

PENUTUP

Pemeriksaan laboratorium berperan penting dalam diagnosis etiologis, pengawasan epidemiologis, serta berperan juga sebagai *parameter* untuk menilai tingkat keparahan penyakit, menentukan prognosis, pemantauan pengobatan serta terapeutik (1,4).

Catatan:

Saat tulisan ini dibuat Laboratorium Klinik Prodia belum menyediakan pemeriksaan untuk deteksi antibodi, antigen maupun virus SARS-CoV-2.

Elva Aprilia

Rujukan:

1. Lippi G, Plebani M. Laboratory abnormalities in patients with Covid-2019 infection. *Clin Chem Lab Med.* 2020; 1-4.
2. Perlman S. Another decade, another coronavirus. *N Engl J Med.* 2020;382:760-2.
3. World Health Organization. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) situation reports. <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports>.
4. Mattiuzzi C, Lippi G. Which lessons shall we learn from the 2019 novel coronavirus outbreak? *Ann Transl Med.* 2020;8:48.
5. World Health Organization. Clinical management of severe acute respiratory infection when novel coronavirus (2019-nCoV) infection is suspected. interim guidance. Available on: <https://www.who.int/publications-detail/clinical-management-of-severe-acute-respiratory-infection-when-novel-coronavirus>
6. Li X, Geng M, Peng Y, Meng L, Lu S. Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *Journal of Pharmaceutical Analysis.* 2020.
7. World Health Organization. Laboratory testing for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in suspected human cases. Interim guidance 2 March 2020. WHO/COVID-19/laboratory/2020.4

PENGENALAN PEMERIKSAAN *PROGRAMMED DEATH LIGAND-1* (PD-L1) SEBAGAI IMUNOTERAPI PASIEN KANKER

PENDAHULUAN

Dalam kondisi normal, sistem kekebalan tubuh berfungsi untuk melindungi inang terhadap autoimunitas, alergi, dan penyakit menular oleh serangkaian reseptor dan ligan, yang dikenal sebagai pos pemeriksaan imun (*immune checkpoints*). Banyak bukti penelitian yang mengungkapkan bahwa tumor ternyata dapat menggunakan dan memodifikasi jalur ini sebagai mekanisme penting untuk melepaskan diri dari respons imun antitumor sehingga akhirnya mereka dapat berkembang, menyebar, dan bermetastasis. Di antara jalur tersebut, *Programmed Cell Death* (PD-1) dan *Programmed Cell Death Ligand-1* (PD-L1) memainkan peran kunci dalam homeostasis kekebalan tubuh fisiologis dan jalur ini berfungsi sebagai sarana sel-sel kanker menghindari sistem kekebalan tubuh (1). Oleh karena itu, pengobatan yang dapat menghalangi interaksi PD-1 / PD-L1 akan dapat menghasilkan respons yang tahan lama dan memperpanjang kelangsungan hidup pada pasien dengan berbagai kanker.

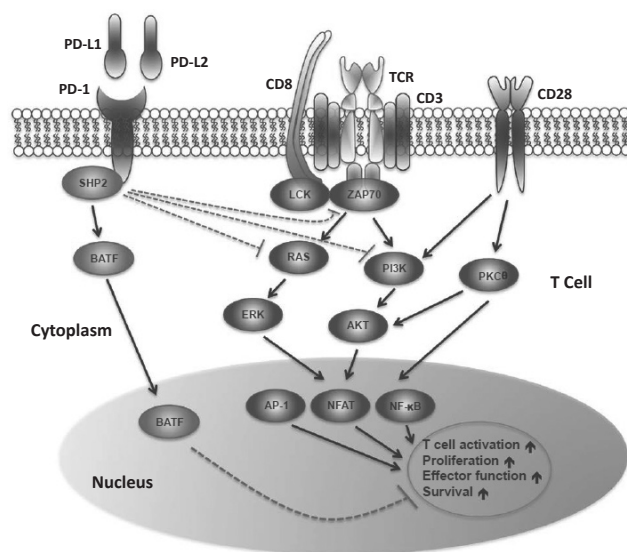
IMUNOTERAPI KANKER

Kanker merupakan salah satu ancaman utama terhadap kesehatan masyarakat di seluruh dunia dan bertanggung jawab atas jutaan kematian setiap tahunnya disertai dengan morbiditas yang tinggi. Secara bersamaan, banyaknya biaya yang dihabiskan untuk perawatan kanker semakin memberikan tekanan pada masyarakat dan keluarga pasien. Sejak dekade terakhir ini, imunoterapi telah menjadi pengobatan kanker yang efisien (2).

Imunoterapi kanker adalah metode khusus untuk menghilangkan sel kanker dengan meningkatkan atau memodulasi sistem kekebalan tubuh inang. Imunoterapi kanker bertujuan untuk menginduksi respon imun manusia yang tahan lama untuk dapat menghancurkan sel-sel tumor. Diantaranya adalah terapi *immune checkpoint* yang menargetkan jalur PD-1/PD-L1. Target jalur ini telah mencapai keberhasilan luar biasa dalam berbagai jenis tumor, seperti kanker paru jenis *non small cell lung cancer*, kanker kandung kemih, kanker melanoma dan beberapa kanker lainnya serta telah dianggap sebagai strategi yang menjanjikan untuk memusnahkan kanker ganas (3).

MEKANISME PD-1 DAN PD-L1

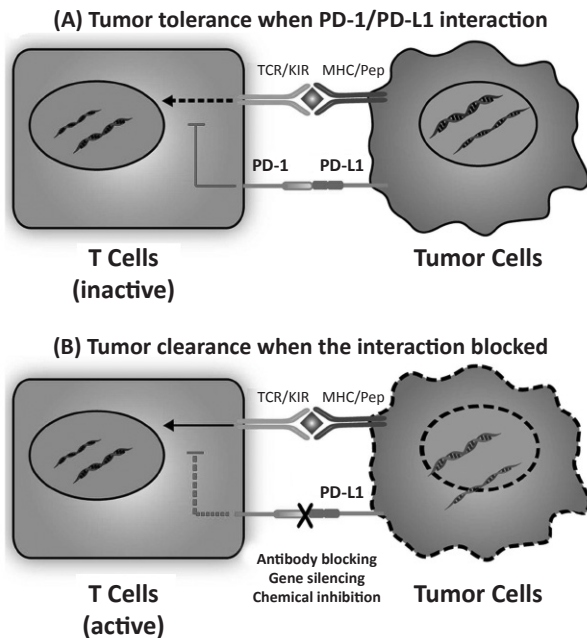
PD-L1, juga dikenal sebagai CD274 dan B7-H1, adalah protein transmembran yang biasanya diekspresikan pada permukaan *antigen presenting cell* (APC) dan sel tumor. PD-L1 secara spesifik berikatan dengan reseptornya, yaitu PD-1, yang diekspresikan pada permukaan limfosit yang berhubungan dengan kekebalan, seperti sel T, sel B, dan sel mieloid. PD-1 secara negatif mengatur respons imun dan memainkan peran penting dalam mempertahankan toleransi diri perifer. Mekanisme jalur pensinyalan PD-1 dan PD-L1 dalam sel T dapat dilihat di Gambar 1. Ketika berikatan dengan ligan PD-L1, PD-1 terfosforilasi pada residu tirosin sitoplasmiknya, seperti SHP2. SHP2 dapat melakukan defosforilasi kinase dan memusuh sinyal positif yang terjadi melalui reseptor TCR dan CD28, sehingga menghasilkan penghambatan fungsi sel T dan kelelahan sel T. Selain itu, PD-1 dapat menghambat fungsi sel T dengan meningkatkan ekspresi faktor transkripsi seperti BATF, yang selanjutnya dapat melawan sinyal hilir TCR dan co-stimulasi CD28 (2,4).



Gambar 1. Jalur pensinyalan PD-1 dalam sel T (4).

Pada beberapa tumor padat atau darah, PD-L1 juga dapat berikatan dengan PD-1 yang diekspresikan pada permukaan sel tumor. Seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2, pengikatan PD-L1 ke PD-1 mampu merangsang sinyal hilir reseptor PD-1 dalam sel T untuk menekan aktivasi sel T, sehingga menghambat proliferasi, pembentukan dan pelepasan sitokin, dan sitotoksitas sel T. Pengaturan kekebalan yang rendah ini akan mencegah autoimunitas dan infeksi kronis. Banyak sel tumor yang menggunakan mekanisme ini untuk melindungi diri mereka dari serangan imunitas tubuh, sehingga sering disebut penghindaran imunitas tumor dan menghasilkan kelangsungan hidup sel tumor. Sebaliknya, penghambatan interaksi PD-1/ PD-L1 mengaktifkan kembali sel T dan respons imun terkait. Tanpa

interaksi PD-1/PD-L1, sinyal supresi dihilangkan, sehingga mengarah pada aktivasi sel T, proliferasi, dan pembentukan sitokin serta eliminasi sel tumor. Penghambatan PD-1 atau PD-L1 akan meningkatkan respons sel T terhadap kanker. Pendekatan ini dikenal sebagai imunoterapi berbasis PD-1/PD-L1 (2).



Gambar 2. Imunoterapi berdasarkan interaksi PD-1/PD-L1 (2).

PEMERIKSAAN IMUNOHISTOKIMIA PD-L1

Sampai saat ini, ekspresi protein PD-L1 dengan analisis imunohistokimia telah menjadi biomarker prediktif utama yang digunakan untuk memprediksi respons pasien terhadap imunoterapi. Secara mekanisme, overekspresi PD-L1 pada sel-sel tumor akan memfasilitasi penghindaran kekebalan kanker melalui penghambatan fungsi sel T sitotoksik. Oleh karena itu, peningkatan ekspresi PD-L1 oleh tumor berkorelasi dengan diferensiasi yang lebih buruk dan prognosis yang lebih buruk (5). Beberapa tantangan dalam pengerjaan PD-L1 adalah terkait variasi analitis. Perbedaan beberapa hasil dapat disebabkan karena pengambilan sampel tumor yang tidak memadai dan sensitivitas metode deteksi / antibodi yang digunakan untuk imunohistokimia yang tidak memadai. Oleh karena itu, upaya yang kuat saat ini dilakukan untuk menyalurkan/harmonisasi pewarnaan PD-L1 (6).

PENUTUP

Perkembangan inhibitor *immune checkpoint* telah mengubah paradigma pengobatan untuk kanker stadium lanjut di banyak jenis kanker. Sel kanker dapat memanfaatkan titik PD-1/PD-L1 untuk melarikan diri dari kekebalan tubuh

dan memfasilitasi pertumbuhan tumor, sehingga jalur ini dapat dimanfaatkan sebagai target potensial untuk inhibitor *immune checkpoint* (7). Ekspresi protein PD-L1 merupakan biomarker prediktif utama yang digunakan untuk memprediksi respons pasien terhadap imunoterapi. Overekspresi PD-L1 pada sel-sel tumor dapat dilihat dengan menggunakan analisis imunohistokimia.

Rina Triana

Rujukan:

1. Akinleye A, Rasool Z. Immune checkpoint inhibitors of PD-L1 as cancer therapeutics. *J Hematol Oncol.* 2019;12(1):92.
2. Wu Y, Chen W, Xu ZP, Gu W. PD-L1 Distribution and Perspective for Cancer Immunotherapy—Blockade, Knockdown, or Inhibition. *Front Immunol.* 2019;10:2022.
3. Zhang M, Liu K, Wang M. Development of cancer immunotherapy based on PD-1/PD-L1 pathway blockade. *RSC Adv.* 2019; 9: 33903-11.
4. Wu X, Gu Z, Chen Y, Chen B, Chen W, Weng L, et al. Application of PD-1 Blockade in Cancer Immunotherapy. *Comput Struct Biotechnol J.* 2019;17:661-74.
5. Yu H, Boyle TA, Zhou C, Rimm DL, Hirsch FR. PD-L1 Expression in Lung Cancer. *J Thorac Oncol.* 2016; 11(7): 964-75.
6. Seliger B. Basis of PD1/PD-L1 Therapies. *J. Clin. Med.* 2019; 8: 2168.
7. Davis AA, Patel VG. The role of PD-L1 expression as a predictive biomarker: an analysis of all US Food and Drug Administration (FDA) approvals of immune checkpoint inhibitors. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer.* 2019; 7:278.

APLIKASI PEMERIKSAAN KORTISOL SAMPEL SALIVA

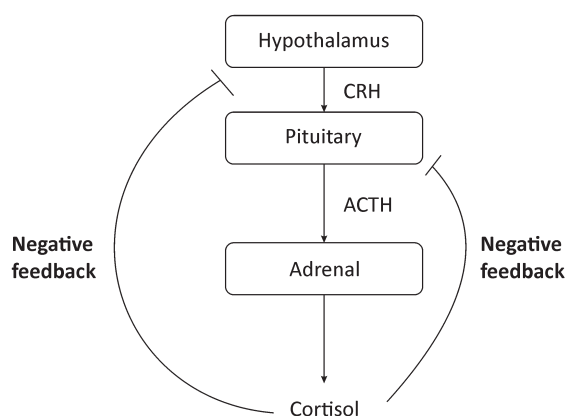
PENDAHULUAN

Stres dapat menyebabkan masalah kesehatan fisik dan psikologis, namun kadang-kadang stres juga memberikan manfaat berupa dorongan energi yang dapat membantu melewati kondisi tenggat waktu. Kondisi stres ekstrim akan memberikan dampak negatif pada sistem imun, kardiovaskular, neuroendokrin dan sistem saraf pusat, sehingga stres menjadi promorbid universal sebagai faktor risiko dari berbagai penyakit kronis. Secara khusus, dampak serius dari adanya stres kronis disebabkan karena tingginya glukokortikoid yang dilepaskan sebagai respon “*fight or flight*” dari sistem endokrin. Kortisol merupakan hormon utama glukokortikoid, yang disekresi dari korteks kelenjar adrenal zona *fasciculata* dan disintesis dari kolesterol. Kortisol dikeluarkan sebagai respons stres secara biokimia dan sebagai produk akhir dari poros hipotalamus-pituitari-adrenal (HPA axis) yang berkontribusi terhadap kondisi kognitif dan kesehatan, sehingga pemantauan secara

kuantitatif dari tingkat mediator stres jangka panjang akan memberikan waktu yang tepat untuk pencegahan atau intervensi lebih dini dari penyakit kronis terkait stres (1,2). Penentuan kadar kortisol dapat menentukan kondisi stres akut atau kronis, karena kortisol bertindak di seluruh tubuh yang mempengaruhi fisiologi tubuh sepanjang waktu. Pengukuran dengan sampel serum saat ini masih sukar diketahui dan dipahami karena adanya variasi sirkadian dan kapasitas ikatan dengan protein, sehingga pemanfaatan sampel saliva menjadi pilihan untuk mengetahui kortisol total yang aktif secara biologis (3).

KARAKTERISTIK HORMON KORTISOL

Kortisol merupakan hormon katabolisme yang vital, yang dikeluarkan secara diurnal. Sepanjang hari, kortisol mempertahankan glukosa darah, menekan sistem organ non vital untuk menyediakan energi bagi aktivasi fungsi otak dan sistem neuromuskuler. Selain itu kortisol juga merupakan hormon yang berpotensi sebagai anti inflamasi dan hormon yang mencegah kerusakan jaringan dan kerusakan saraf yang terkait dengan kondisi inflamasi (4). Kerja hormon kortisol dipengaruhi oleh tiga organ yaitu hipotalamus di otak, kelenjar pituitari dan kelenjar adrenal. Pada saat terjadi stres atau tekanan, otak akan memerintahkan hipotalamus untuk mengeluarkan *Corticotropin Releasing Hormon* (CRH) kepada kelenjar pituitari untuk mengeluarkan *Adenocorticotrophic Hormon* (ACTH) kemudian merangsang kelenjar adrenal untuk mengeluarkan kortisol. Selanjutnya kortisol memberikan efek metabolisme untuk merespon dari stres tersebut, kemudian memberikan negatif *feedback* kepada hipotalamus dan kelenjar pituitari, seperti yang digambarkan pada gambar 1 (5,6). Sehingga secara normal, kortisol terdapat dalam tubuh dengan kadar yang wajar, dan apabila kadar kortisol dalam darah menurun, ketiga organ tersebut (HPA Axis) akan bekerja sama untuk memicu produksi kortisol agar tetap dalam keadaan normal. Sekresi kortisol secara langsung dikontrol oleh ACTH, dan dikeluarkan secara *pulsatile* mengikuti pola sirkadian, yang secara normal (keadaan tidak stres) diproduksi 18-25 siklus



Gambar 1. Mekanisme poros *hypothalamic-pituitary-adrenal* (5).

dalam 24 jam, dengan kadar tertinggi pada antara jam 7 dan 11 pagi, dan penurunan kadarnya pada jam 6 sore dan *midnight* (tengah malam) (6).

PEMERIKSAAN KORTISOL

Kortisol di dalam darah sebesar 80% terikat dengan protein (*cortisol-binding globulin/CBG*), 10% berikatan dengan albumin, dan 10% merupakan kortisol bentuk bebas/*free* yang aktif secara biologis. Bentuk bebas dari kortisol di sekresi melalui urine dan di terdifusi secara aktif melalui saliva. Kadar kortisol dalam saliva ini mencerminkan ritme sirkadian dan puncak pada pagi hari serta menggambarkan perubahan dari konsentrasi di dalam plasma yang cepat dan dapat dipercaya, sedangkan dengan menggunakan sampel serum variasi sirkadian menjadi salah satu variabel utama yang mempengaruhi kadar kortisol yang diukur, perbedaan pemeriksaan kortisol dengan berbagai jenis sampel terangkum pada tabel 1 (6).

Berdasarkan perbedaan tersebut sampel saliva menjadi alat diagnostik yang ramah pasien dan memiliki keuntungan analitis, dimana sampel saliva tidak dipengaruhi oleh perubahan konsentrasi globulin pengikat dan mengukur kortisol bebas yang aktif secara biologis (5,6,7). Pemeriksaan kortisol dengan sampel saliva juga dapat digunakan sebagai penanda *monitoring* dengan cara pemeriksaan serial atau dikenal dengan "*multiple cortisol saliva testing*", yang bisa secara langsung diambil tanpa ada hambatan waktu diurnal maupun variasi sirkadian (8).

Keunggulan lainnya pemeriksaan kortisol dengan sampel saliva dibanding sampel lainnya, yaitu: (6)

- Proses pengambilan sampel saliva ini merupakan metode yang *non-invasive*, pengambilannya bisa dilakukan secara langsung, dan bisa dilakukan proses pengulangan pada hari yang sama.
- Sampling sampel saliva ini merupakan metode sampling yang ramah untuk pasien sehingga cocok untuk pasien anak-anak
- Pemeriksaan kortisol dengan sampel saliva, menggambarkan kortisol bebas yang beredar didalam tubuh, dengan akurasi yang tinggi karena tidak adanya kontaminasi dari *Sex Hormone Binding Globulin* (SHBG) dan *Corticosteroid Binding Globulin* (CBG).
- Pengambilan sampel saliva ini tidak dipengaruhi oleh waktu pengambilan seperti halnya pengambilan sampel dengan bahan serum.

Selain memiliki keunggulan dibanding jenis sampel lainnya, sampel saliva juga memiliki keterbatasan dibandingkan sampel lainnya sebagai berikut: (6)

- Persyaratan sebelum pengambilan sampel yang rumit, seperti tidak boleh merokok sebelum pengambilan sampel, dilakukan 30 menit setelah aktivitas makan, minum dan sikat gigi.

Tabel 1. Perbandingan pengukuran kortisol dengan sumber sampel yang berbeda (6).

Aspek	Serum (Darah)	Saliva	Urine
Teknik pengambilan	Disesuaikan siklus sirkadian	Saliva dikumpulkan secara pasif di wadah	Sampel urine 24 jam
Variabel yang mempengaruhi	Variasi Sirkadian, Siklus Haid, Latihan Fisik	Kontaminasi dari kondisi yang mempengaruhi mukus saliva Oral Kontrasepsi	Dipengaruhi fungsi ginjal, fungsi hati, dehidrasi
Bentuk yang dideteksi	Cortisol Total	Free Cortisol	Free Cortisol
Signifikasi pengukuran dengan klinis/kondisi	Kondisi akut	Kondisi kronis, monitoring pengobatan	Kondisi kronis

- Tinggi kemungkinan kontaminasi hormon yang berasal dari darah seperti misalnya dari gusi berdarah, sariawan, maupun dari infeksi disekitar area mulut.
- Dapat dipengaruhi oleh hormon eksternal yang berasal dari topikal, kosmetik di bibir atau di tangan.
- Dipengaruhi juga oleh adanya kondisi demam, flu, sinus kongesti dan alergi.
- Akibat dari kemungkinan kontaminan yang terjadi, mengakibatkan sensitivitas yang rendah karena sukar untuk dianalisa.

Dalam mengatasi keterbatasan analisa dari sampel saliva, diperlukan suatu metode yang lebih baik terutama dalam peningkatan dari standarisasi sampel saliva tersebut yaitu metode *mass spectrometry*. Metode *mass spectrometry* menjadi pilihan yang baik untuk mengelola sampel saliva, dengan metode ini tidak perlu dilakukan ekstraksi, kemudian mempunyai keunggulan yang mampu membedakan struktur kortisol dengan jenis steroid lainnya dan tidak terdapatnya reaksi silang dalam proses pemeriksaan misalnya reaksi silang dengan 11-deoxycortisol atau prednisolon, dimana kondisi tersebut tidak bisa di minimalisasi dengan metode *immunoassay* yang umum digunakan. Selain itu dengan *mass spectrometry*, pengukuran yang dilakukan lebih cepat, standar pengukuran dengan validasi rentang referensi yang lebih baik (6).

PENUTUP

Aplikasi pemeriksaan kortisol dengan sampel saliva merupakan alat diagnostik yang ramah pasien dan memiliki keuntungan analitis, yang tidak dipengaruhi oleh perubahan konsentrasi globulin pengikat dan mengukur kortisol bebas yang aktif secara biologis. Selain itu dapat menjadi monitoring dengan dapat dilakukan secara serial

yang bermanfaat untuk mengurangi subjektifitas di variasi sirkadian atau waktu diurnal.

Siska Darmayanti

Rujukan:

- Lee D, Kim E, Choi M. Technical and clinical aspects of cortisol as a biochemical marker of chronic stress. *BMB Reports*. 2015;48(4):209-16.
- Hoyt L, Zeiders K, Ehrlich K, Adam E. Positive upshots of cortisol in everyday life. *Emotion*. 2016;16(4):431-35.
- Shirtcliff E, Buck R, Laughlin M, Hart T, Cole C, Slowey P. Salivary Cortisol Results Obtainable Within Minutes of Sample Collection Correspond With Traditional Immunoassays. *Clin Ther*. 2015;37(3):505-14.
- Hannibal K, Bishop M. Chronic Stress, Cortisol Dysfunction, and Pain: A Psychoneuroendocrine Rationale for Stress Management in Pain Rehabilitation. *Phys Ther*. 2014;94(12):1816-25.
- Younes A, Younes N. Recovery of steroid induced adrenal insufficiency. *Transl Pediatr*. 2017;6(4):269-73.
- El-Farhan N, Rees D, Evans C. Measuring cortisol in serum, urine and saliva - are our assays good enough? *Ann Clin Biochem*. 2017;54(3):308-22.
- Langelaan M, Kisters J, Oosterwerff M, Boer A. Salivary cortisol in the diagnosis of adrenal insufficiency: cost efficient and patient friendly. *Endocr Connect*. 2018;7(4):560-66.
- Yoshida K, Fukuoka H, Odake Y, Nakajima S, Tachibana M, Ito J et al. Multiple Salivary Cortisol Measurements Are a Useful Tool to Optimize Metyrapone Treatment in Patients with Cushing's Syndromes Treatment: Case Presentations. *Front Endocrinol*. 2018;8.

INFORMASI LABORATORIUM

ISSN 0854-7165 | No. 2/2020

Redaksi Kehormatan

Drs. Andi Wijaya, Ph.D.

Prof. Dr. dr. FX Budhianto Suhadi

Ketua Dewan Redaksi/Penanggung Jawab

Rina Triana, M.Farm., Apt.

Anggota Dewan Redaksi

Dr. Trilis Yulianti, M.Kes.

Elva Aprilia Nasution, S.Farm.

Siska Darmayanti, S.Si, M.Farm.

Gianni Yosephine, S.Si.

Ardian Susanto, M.Farm.

Matthew Justyn, S.Si.

Alamat Redaksi

PT. Prodia Widyahusada

Jl. Kramat Raya 150, Jakarta 10430

Telepon: (021) 3144182 (Hunting)

Fax: (021) 3926675

e-mail: produk@prodia.co.id

website: www.prodia.co.id



Certificate Number : JKT 0403247
Certified to QMS