

KORELASI ANTARA AKTIVITAS ADENOSINE DEAMINASE (ADA) CAIRAN PLEURA DAN HASIL LEUKOSIT CAIRAN PLEURA PADA PENDERITA EFUSI PLEURA

Pande Putu Ayu Patria Dewi¹, Aryati², Leonita Anniwati², Isnin Anang Marhana³

¹Department of Clinical Pathology, Faculty of Medicine Udayana University, Denpasar, Indonesia.

²Department of Clinical Pathology, Faculty of Medicine Airlangga University, Surabaya, Indonesia.

³Department of Pulmonology and Respiratory Medicine, Faculty of Medicine Airlangga University, Surabaya, Indonesia.

Email: patriadewi2023@unud.ac.id

ABSTRAK

Efusi pleura merupakan kumpulan cairan abnormal di ruang pleura. Diagnosis efusi pleura selain berdasarkan keluhan dan gejala klinis memerlukan berbagai pemeriksaan penunjang seperti radiografi, analisis cairan pleura. *Adenosine deaminase* merupakan enzim yang terlibat pada proses katabolisme purin. Enzim ini memegang peranan penting pada diferensiasi sel limfoid. Pemeriksaan aktivitas *adenosine deaminase* (ADA) telah lama digunakan sebagai penunjang diagnosis tuberkulosis karena cepat, murah, dan memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi. Pemeriksaan analisis cairan pleura masih menjadi pemeriksaan utama pada penderita dengan efusi pleura untuk membantu penegakan diagnosis dan etiologi efusi pleura. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan aktivitas ADA cairan pleura dan hasil leukosit cairan pleura pada penderita efusi pleura. Jenis penelitian adalah penelitian observasional *cross-sectional*. Pemeriksaan aktivitas ADA dilakukan pada cairan pleura. Pemeriksaan aktivitas ADA dikerjakan dengan metode fotometri (cara Non Giusti) menggunakan reagen *Diazyme* dengan alat TMS 24i Premium. Pemeriksaan hitung sel leukosit menggunakan metode otomatis dengan prinsip *flow cytometry* menggunakan *laser optic* dengan alat Sysmex XN-1000. Subyek penelitian adalah 40 pasien efusi pleura dengan diagnosis keganasan, tuberkulosis, dan penyakit sistemik. Hasil analisis menunjukkan terdapat korelasi antara aktivitas ADA pada cairan pleura dan hitung sel leukosit untuk seluruh subyek penelitian ($r = 0,495$ dan $p = 0,001$). Korelasi antara aktivitas ADA pada cairan pleura dengan sel polimononuklear didapatkan $r=0,521$ dengan $p = 0,001$ sedangkan korelasi positif tidak bermakna ditunjukkan antara aktivitas ADA pada cairan pleura dengan sel mononuclear dengan $r=0,228$ dan $p=0,157$

Kata kunci. *Adenosine deaminase*, cairan pleura, leukosit

ABSTRACT

Pleural effusion is an abnormal accumulation of fluid in the pleural space. Diagnosis of pleural effusion can establish by sign, symptom and other examinations such as radiography or analysis of pleural fluid. Adenosine deaminase is an enzyme involved in purine catabolism. This enzyme has important role in the differentiation of lymphoid cells. Examination of adenosine deaminase activity (ADA) has long been used to support the diagnosis of tuberculosis because fast, inexpensive, and has high sensitivity and specificity. Pleural fluid analysis was main examination in patients with pleural effusion to help establish the diagnosis and etiology of pleural effusion. Aim of this study was compare ADA activity of pleural fluid and the pleural fluid leukocytes in patients with pleural effusion. This study was a cross-sectional observational study. Examination of ADA activity was performed on pleural fluid with photometric method (Non Giusti method) using the *Diazyme* reagent with the TMS 24i Premium tool. Examination of the leukocyte cell count used an automatic method with flow cytometry method using an optical laser with a Sysmex XN-1000 tool. The subjects of this study were 40 patients with pleural effusion diagnosed with malignancy, tuberculosis and systemic disease. Results in this study showed that there was a correlation between ADA activity in pleural fluid and leukocyte cell count for all study subjects ($r = 0.495$ and $p = 0.001$). The correlation between ADA activity in pleural fluid and polymononuclear cells was found with $r=0.521$ and $p=0.001$, meanwhile a non-significant positive correlation was shown between ADA activity in pleural fluid and mononuclear cells with $r=0.228$ and $p=0.157$

Keywords. Adenosine deaminase, pleural fluid, leukocytes

PENDAHULUAN

Efusi pleura merupakan manifestasi klinis yang sering terjadi pada berbagai penyakit. Efusi pleura merupakan kumpulan cairan abnormal di ruang pleura¹⁻³. Efusi pleura terjadi karena adanya peningkatan produksi cairan atau penurunan resorpsi cairan di ruang pleura. Efusi pleura dapat disebabkan oleh berbagai penyakit seperti penyakit infeksi (tuberkulosis, empiema, pneumonia, dan infeksi parasit), keganasan, penyakit kolagen, penyakit gastrointestinal, penyakit jantung, serta penyebab lain seperti obat-obatan, sindrom nefrotik, dan radiasi. Tuberkulosis merupakan penyebab terbanyak penyakit yang dapat menimbulkan efusi pleura di negara sedang berkembang diikuti oleh pneumonia dan keganasan. Insiden efusi pleura di Amerika Serikat yang disebabkan oleh keganasan diperkirakan sebanyak 250.000 kasus pertahun⁴.

Diagnosis efusi pleura selain berdasarkan keluhan dan gejala klinis memerlukan berbagai pemeriksaan penunjang seperti radiografi, analisis cairan pleura, dan pemeriksaan lain sesuai dengan etiologi penyakit yang menyebabkan terjadinya efusi pleura^{1,2}.

Adenosine deaminase merupakan enzim yang terlibat pada proses katabolisme purin yang mengkatalis perubahan *adenosine* menjadi *inosine* dan *deoksiadenosine* menjadi *deoksinosine*. Enzim ini memegang peranan penting pada diferensiasi sel limfoid. Distribusinya pada manusia menyebar di seluruh tubuh namun peran fisiologisnya terutama penting pada jaringan limfoid⁵.

Pemeriksaan aktivitas *adenosine deaminase* (ADA) telah lama digunakan sebagai penunjang diagnosis tuberkulosis karena cepat, murah, dan memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi⁵. Metode pemeriksaan ADA dibagi menjadi 2 yaitu metode Giusti Galanti dan metode Non Giusti. Suatu kajian metaanalisis dari 63 penelitian menyatakan metode Giusti dilakukan pada 42 penelitian dan 17 penelitian dengan metode Non-Giusti⁶ Metode Non Giusti dan Giusti menggunakan prinsip fotometri⁵.

Pemeriksaan analisis cairan pleura masih menjadi pemeriksaan utama pada penderita dengan efusi pleura untuk membantu penegakan diagnosis dan etiologi efusi pleura. Penelitian terdahulu membandingkan aktivitas ADA dengan hasil analisis cairan pleura seperti hitung limfosit dan kadar LDH cairan pleura didapatkan hasil korelasi yang bervariasi^{6,7}. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan aktivitas ADA cairan pleura dan hitung sel leukosit serta sel polim nuklear (PMN) dan sel mononuklear (MN) pada cairan pleura

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini telah mendapat persetujuan dari komite Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Soetomo Surabaya dan semua pasien menandatangani *informed consent*. Jenis penelitian adalah penelitian observasional *cross-sectional*. dan dilaksanakan di Ruang Perawatan Paru dan Poliklinik

Paru RSUD Dr. Soetomo Surabaya dan laboratorium swasta di Surabaya dari bulan Agustus s/d November 2016.

Populasi dalam penelitian ini adalah penderita efusi pleura yang dirawat di Ruang Perawatan Paru dan Poliklinik Paru Rumah Sakit Umum Dr. Soetomo Surabaya pada bulan Agustus s/d November 2016. Sampel dalam penelitian ini adalah sebagian populasi yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi berupa usia lebih dari 18 tahun, terdiri dari pria dan wanita, pemeriksaan klinis dan penunjang menunjukkan efusi pleura, bersedia mengikuti penelitian dengan menandatangani formulir persetujuan (*informed consent*). Kriteria eksklusi berupa penderita efusi pleura yang disertai dengan kelainan faal hemostasis.

Sampel yang digunakan untuk pemeriksaan aktivitas ADA adalah cairan. Preparasi dilakukan dengan mensentrifus cairan pleura dengan kecepatan 3.000 rpm selama 15 menit sehingga didapatkan serum dan supernatan cairan pleura. Sampel dipindahkan ke dalam tabung eppendorf menjadi *aliquot* kemudian sampel disimpan pada suhu -80 ° C. Pemeriksaan aktivitas ADA dikerjakan dengan metode fotometri (cara Non Giusti) menggunakan reagen *Diazyme* dengan alat TMS 24i Premium. Sampel yang digunakan untuk pemeriksaan hitung sel leukosit, sel polim nuklear dan sel mononuklear adalah cairan pleura. Pengambilan sampel cairan pleura ditampung dalam tabung tanpa antikoagulan. Pemeriksaan hitung sel leukosit, sel polim nuklear dan sel mononuklear menggunakan metode otomatis dengan prinsip *flow cytometry* menggunakan *laser optic* dengan alat Sysmex XN-1000.

Aktivitas ADA pada cairan pleura dan sel polim nuklear (PMN) serta sel mononuklear (MN) dikorelasikan dengan menggunakan uji korelasi *Spearman* karena data tidak terdistribusi normal.

HASIL

Karakteristik demografis dan klinis dari 40 subyek penderita yang dimasukkan dalam penelitian ini tercantum dalam tabel 1. Subyek penelitian didapatkan laki-laki lebih banyak daripada perempuan, dimana laki-laki berjumlah 23 orang (57,5%) dan perempuan berjumlah 17 orang (42,5%). Rentang usia subyek penderita berkisar antara 19-74 tahun, dengan rerata usia 46,95 tahun. Jenis penyakit penyebab efusi pleura yang didapat adalah keganasan sebanyak 18 orang (45 %) , tuberkulosis 18 orang (45 %), dan penyakit sistemik 4 orang (10%). Hasil analisis menunjukkan terdapat korelasi positif yang signifikan antara aktivitas ADA pada cairan pleura dan hitung sel leukosit untuk seluruh subyek penelitian dengan $r = 0,495$ dan $p = 0,001$

Gambar *scatterplot* korelasi aktivitas ADA cairan pleura dan hitung sel leukosit dari keseluruhan subyek penelitian penderita efusi pleura disajikan pada gambar 1.

Hasil analisis menunjukkan terdapat korelasi positif yang tidak signifikan antara aktivitas ADA pada cairan pleura dan sel mononuklear untuk seluruh subyek penelitian dengan $r = 0,228$ dan $p = 0,157$

Gambar *scatterplot* korelasi aktivitas ADA pada cairan pleura dan sel mononuklear dari keseluruhan subyek penelitian penderita efusi pleura disajikan pada gambar 2.

Hasil analisis menunjukkan terdapat korelasi positif yang signifikan antara aktivitas ADA pada cairan pleura dan sel polimononuklear untuk seluruh subyek penelitian dengan $r = 0,521$ dan $p = 0,001$

Gambar *scatterplot* korelasi aktivitas ADA pada cairan pleura dan sel polimononuklear dari keseluruhan subyek penelitian penderita efusi pleura disajikan pada gambar 3.

PEMBAHASAN

Data hasil penelitian menunjukkan bahwa proporsi subyek penderita efusi pleura laki-laki lebih banyak daripada perempuan. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Verma, 2008 menyatakan hal yang sama yaitu proporsi penderita efusi pleura laki-laki lebih banyak dibandingkan dengan perempuan⁹. Hasil tersebut kemungkinan berhubungan etiologi efusi pleura dimana laki-laki lebih berkontribusi terhadap etiologi TB dan tumor paru sedangkan perempuan lebih banyak berkontribusi terhadap etiologi lain seperti keganasan payudara⁸⁻¹⁰. Jenis penyakit didapatkan proporsi yang sama antara keganasan dan tuberkulosis, hal ini mungkin disebabkan oleh Indonesia merupakan negara endemis tuberkulosis dan usia pasien lebih banyak pada usia tua yang menjadi faktor predisposisi pada penyakit keganasan.

Adenosine deaminase (ADA) adalah enzim katabolisme purin yang mengkatalisis perubahan *adenosine* menjadi *inosine* dan *deoksiadenosine* menjadi *deoksiinosine* dengan melepas amonia. Enzim ini berperan dalam jalur katabolisme purin. Enzim ini banyak terdapat di limfosit dan berperan dalam proliferasi dan diferensiasi limfosit. Aktivitas ADA sepuluh kali lebih tinggi di limfosit dibandingkan di eritrosit terutama pada limfosit T yang aktif. ADA juga berperan dalam maturasi monosit menjadi makrofag^{5,11}. ADA mempunyai 2 isoenzim yang utama yaitu ADA-1 dan ADA-2. ADA-2 merupakan komponen terbesar dari total aktivitas ADA di dalam tubuh manusia. Isoenzim ADA-1 terdapat pada sel darah merah, limfosit, dan makrofag sedangkan isoenzim ADA-2 terbanyak terdapat pada monosit dan makrofag^{5,11}.

Fokus penelitian ADA beberapa tahun ini dilakukan pemeriksaan pada cairan pleura. Penelitian yang dilakukan Piras dkk menyebutkan aktivitas ADA pada cairan pleura dapat digunakan sebagai diagnostik pasien tuberkulosis dengan efusi pleura. Peningkatan aktivitas ADA dapat terlihat pada berbagai penyakit seperti demam tifoid, infeksi mononukleosis, penyakit hati, sarkoidosis, leukemia akut, *brucellosis*, *rheumatoid arthritis*, dan keganasan^{5,11}.

Perhitungan sel leukosit pada penelitian ini tidak dapat membedakan secara rinci antara sel neutrofil, limfosit, monosit, basophil, dan eosinophil. Sel leukosit pada cairan pleura pada penelitian ini hanya

dibedakan menjadi sel mononuklear dan sel polimononuklear. Efusi pleura transudat pada beberapa penelitian didapatkan sel leukosit yang didominasi oleh sel limfosit serta sel mononuklear lain. Penelitian yang dilakukan oleh Sameer dkk didapatkan sebanyak 83,33 % sampel efusi pleura transudate yang disebabkan oleh sirosis dan gagal jantung, hasil hitung sel leukosit didominasi oleh sel mononuklear sedangkan pada sampel efusi pleura eksudat yang disebabkan oleh tuberkulosis didapatkan dominasi sel polimononuklear¹². Penelitian ini didapatkan penyakit yang terbanyak adalah tuberkulosis dan keganasan sehingga efusi pleura yang didapat adalah efusi pleura eksudat.

Penelitian ini mendapatkan hasil korelasi yang bermakna yang signifikan antara aktivitas Adenosine deaminase (ADA) dengan cairan pleura dan hitung sel leukosit, hal ini mungkin disebabkan oleh pada cairan pleura terdapat dominasi sel leukosit yang dapat mengekspresikan aktivitas ADA karena isoenzim ADA-1 dan ADA-2 terbanyak terdapat pada sel limfosit, monosit, dan makrofag¹³. Penelitian yang dilakukan oleh Nan dkk menyebutkan jumlah sel dalam efusi pleura bisa digunakan sebagai indeks referensi penting untuk menilai sifat penyakit terutama pada penyakit tuberkulosis¹⁴. Peningkatan monosit yang signifikan terjadi pada efusi pleura tuberkulosis dan pada penelitian yang dilakukan Nan dkk proporsi sel mononuklear pada efusi pleura dikelompokkan pleurisy tuberkulosis secara signifikan lebih tinggi daripada kelompok empiema¹⁴.

Penelitian ini mendapatkan hasil efusi pleura lebih banyak disebabkan oleh penyakit tuberkulosis dan keganasan dengan predominasi limfosit tetapi ketika secara keseluruhan sel mononuklear dikorelasikan dengan nilai ADA didapatkan hasil yang tidak signifikan, hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Kusuma di Surabaya tahun 2015 yang mana kemungkinan disebabkan oleh subyek penelitian dengan berbagai macam diagnosis dan sel mononuklear yang tidak dapat dibedakan menjadi sel limfosit ataupun sel monosit⁹.

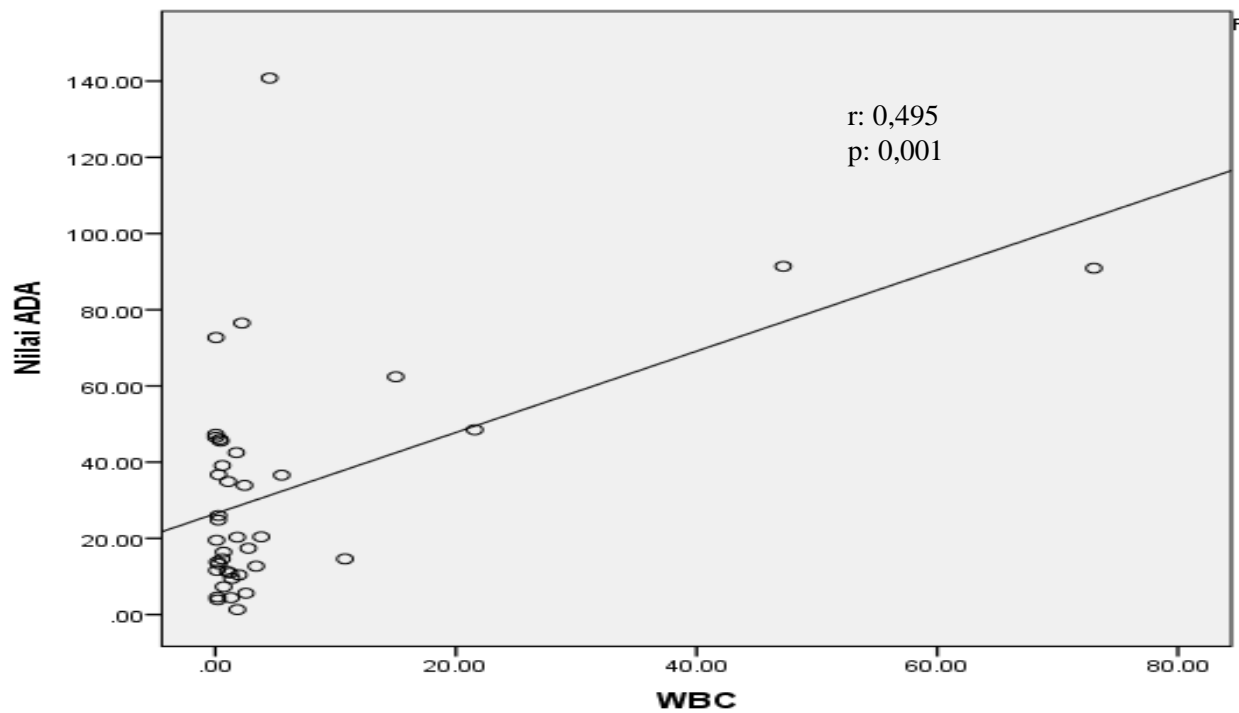
Sel polimononuklear dalam penelitian ini kemungkinan berasal dari sel neutrophil, sel basophil, dan sel eosinophil serta mendapatkan hasil korelasi yang bermakna secara signifikan antara aktivitas ADA dengan sel polimononuklear. Korelasi ini kemungkinan dapat disebabkan aktivitas ADA total terekspressi oleh seluruh sel polimononuklear pada cairan pleura di seluruh subyek penelitian.

Penelitian yang dilakukan Kusuma dkk memberikan hasil yang berbeda dengan subyek penelitian hanya pada pasien efusi pleura tuberkulosis⁹. Nan dkk menyebutkan aktivitas ADA dan proporsi mononuklear sel dalam efusi pleura dapat digunakan sebagai indeks penting

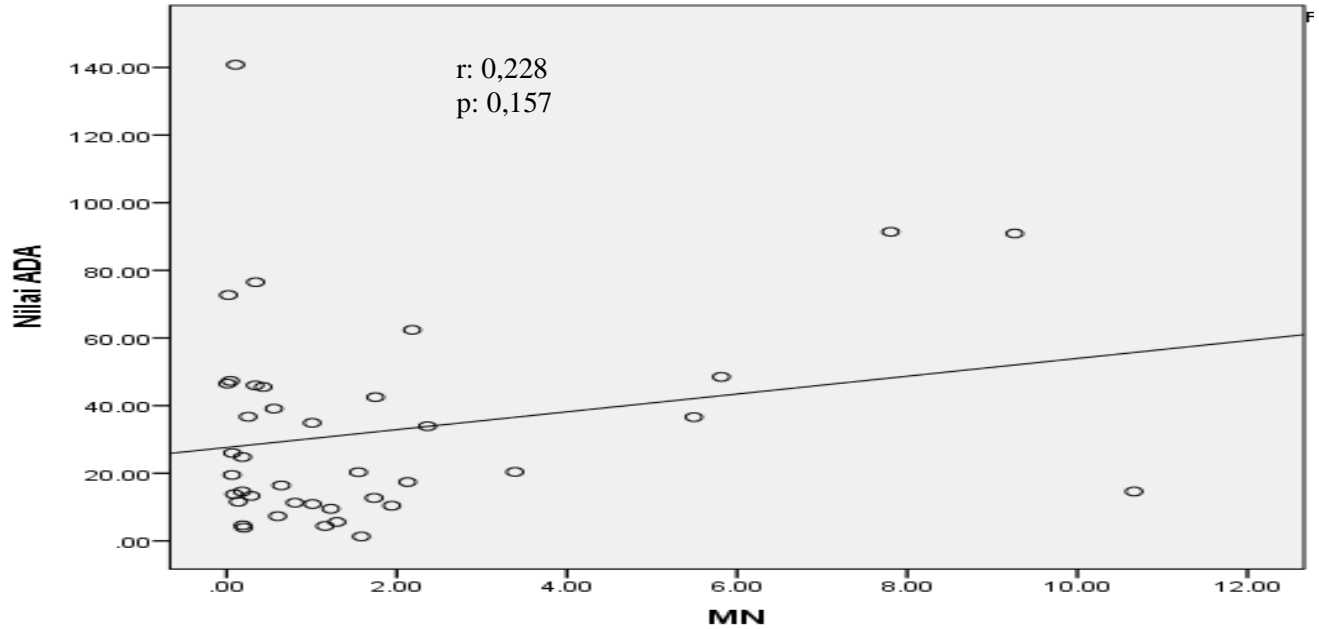
untuk membedakan efusi pleura yang disebabkan oleh tuberkulosis dan empyema¹⁴ sehingga penelitian yang lebih lanjut diperlukan untuk melihat korelasi antar aktivitas ADA dengan sel leukosit secara terperinci.

Tabel 1 Karakteristik sampel penelitian penderita efusi pleura di RSUD Dr. Soetomo antara bulan Agustus-November 2016.

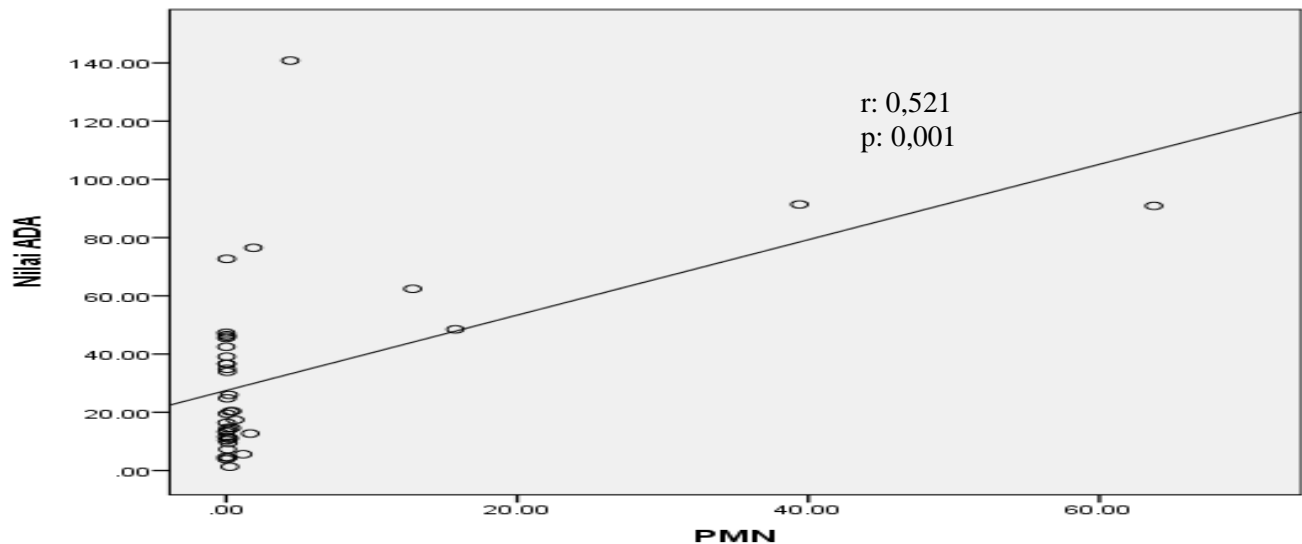
Karakteristik sampel	N	%
Jenis kelamin		
Laki-laki	23	57,5
Perempuan	17	42,5
Usia rerata ± SB	46,95 ± 13,647	
Jenis penyakit		
Keganasan	18	45
Tuberkulosis	18	45
Penyakit Sistemik	4	10



Gambar 1. Korelasi aktivitas ADA cairan pleura dan hitung leukosit dari keseluruhan subyek penelitian penderita efusi pleura.



Gambar 2. Korelasi aktivitas ADA cairan pleura dan sel mononuklear dari keseluruhan subyek penelitian penderita efusi pleura.



Gambar 3. Korelasi aktivitas ADA cairan pleura dan sel polimononuklear dari keseluruhan subyek penelitian penderita efusi pleura.

SIMPULAN DAN SARAN

Terdapat korelasi antara aktivitas ADA pada cairan pleura dan hitung sel leukosit untuk seluruh subyek penelitian dan korelasi antara aktivitas ADA pada cairan pleura dengan sel polimononuklear. Korelasi positif tidak bermakna ditunjukkan antara aktivitas ADA pada cairan pleura dengan sel mononuclear. Jumlah sampel yang lebih besar diperlukan dengan periode pengambilan sampel yang lebih panjang pada masing-masing kategori penyakit yang menyebabkan efusi

pleura untuk memastikan reliabilitas perhitungan komparasi maupun korelasi secara statistik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kepada PT Nelta Multi Gracia atas bantuan reagen Diazyme.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hooper C, Lee YC, Maskell N. "Investigation of a unilateral pleural effusion in adults: British Thoracic

- Society pleural disease guideline 2010". In: *Thorax*, 2010;65:4 – 17.
2. Sato T. Differential Diagnosis of Pleural Effusion. In: *JMAJ*,2006 ;49(9):315-19.
 3. Khan FY, Alsamawi M, Yasin M, Ibrahim AS, Hamza M,et al.Etiology of pleural effusion among adults in the State of Qatar: a 1-year hospital-based study. In: *EMHJ*, 2011;17(7):611-18.
 4. Najib, MR. Local anaesthetic thoracoscopy: British Thoracic Society pleural disease guideline 2010.In: *Thorax*,2010; 65(2):54-i60.
 5. Barua R, Hossain M. Adenosine Deaminase in Diagnosis of Tuberculosis: A Review. In: *AKMMC Journal*, 2014;5(2):43-48.
 6. Lee YCG, Rogers GT.,Rodriguez RM.,, Miller K.,, Light RW.Adenosine Deaminase Levels in Nontuberculous Lymphocytic Pleural Effusions.In: *Chest*, 2001; 120:356–361
 7. Tay RA, Tee A.Factors affecting pleural fluid adenosine deaminase level and the implication on the diagnosis of tuberculous pleural effusion: a retrospective cohort study. In: *BMC Infectious Diseases*,2013;13 (546):1-7
 8. Verma S.Role of pleural fluid adenosine deaminase in aetiological diagnosis of pleural effusion. In: *The Internet Journal of Infectious Diseases*, 2008;7(1):1-4.
 9. Kusuma C, Anniwati L,Pradjoko I. Korelasi antara Aktivitas Adenosine Deaminase dan Hasil Analisis Cairan Pleura pada Penderita Curiga Efusi Pleura Tuberkulosis. 2015. Surabaya, Universitas Airlangga.
 10. Ogunleye EO. Aetiology and Demographic Attributes of Common Pleural Collections in an African Population. In:*Surgical Science*, 2013;4:332-34.
 11. Boonyagars L, Liertiburanakul S. Use of adenosine deaminase for the diagnosis of tuberculosis: a review. In:*Journal of Infectious Disease and Antimicrobial Agents*,2010;27:111-8.
 12. Sameer et al. Cells in pleural fluid and their value in diffeential diagnosis. *Journal of Medical Sience and Clinical Research*,2020, 08 (1):561-568
 13. Lei et al. Diagnostic Value of Pleural EffusionMononuclear Cells Count and Adenosine Deaminase for Tuberculous Pleurisy Patients in China: A Case-Control Study. *Front. Med*, 2019;6:301.Doi: 10.3389/fmed.2019.00301
 14. Nan et al. The Value of ADA Level and Monocyte Ratio in Pleural Effusion to Differentiate Tuberculous Pleurisy From Malignant Effusion and Empyema. *Acta Medica Mediterranea*, 2022, 38: 109-113