

**DETEKSI *Treponema pallidum* DALAM DARAH PENDONOR
DENGAN METODE CLIA dan PCR**

Tesis

ARFINA YUSUF

P062202008



**PROGRAM MAGISTER ILMU BIOMEDIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2023

HALAMAN JUDUL

DETEKSI *Treponema pallidum* DALAM DARAH PENDONOR DENGAN METODE CLIA dan PCR

Detecting *Treponema pallidum* in Donated Blood through
CLIA and PCR Method

TESIS

Diajukan sebagai salah satu syarat menyelesaikan
Program Studi Ilmu Biomedik
dan mencapai gelar Magister Biomedik

DISUSUN DAN DIAJUKAN OLEH:

ARFINA YUSUF

P062202008

PEMBIMBING

1. dr. Rizalinda Sjahril, M.Sc, Ph.D, Sp.MK
2. Prof. dr. Nasrum Massi, Ph.D, Sp.MK

**PROGRAM MAGISTER ILMU BIOMEDIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

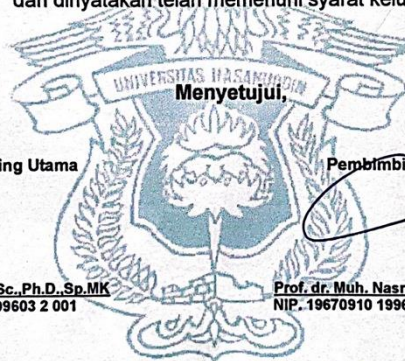
LEMBAR PENGESAHAN TESIS

**DETEKSI *Treponema pallidum* DALAM DARAH PENDONOR DENGAN METODE
CLIA DAN PCR**

Disusun dan diajukan oleh


**ARFINA YUSUF
P062202008**


Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Magister Program Studi Ilmu Biomedik
Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin
pada tanggal 25 Agustus 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan



Pembimbing Utama

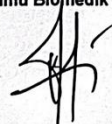
Pembimbing Pendamping


dr. Rizalinda, M.Sc., Ph.D., Sp.MK
NIP. 19690918 199603 2 001


Prof. dr. Muh. Nasrum Massi, M.Sc., Ph.D., Sp.MK
NIP. 19670910 199603 1 001

Ketua Program Studi
Ilmu Biomedik

Dekan Fakultas Pascasarjana
Universitas Hasanuddin


dr. Rahmawati Minhaiat, Ph.D., Sp.PD-KHOM FINASIM
NIP. 19680218 199903 2 002


Prof. dr. Budi, Sp.M(K), M.Med.Ed., Ph.D
NIP. 79861231 199503 1 009

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN TESIS	<i>Error! Bookmark not defined.</i>
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
DAFTAR SINGKATAN, ISTILAH DAN LAMBANG	ix
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	<i>Error! Bookmark not defined.</i>
PRAKATA	xii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT	xv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.3.1 Tujuan Umum	2
1.3.2 Tujuan Khusus	2
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.4.1 Manfaat Praktis	3
1.4.2 Manfaat Klinis	3
1.4.3 Manfaat Masyarakat	3
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Donor Darah	4
2.2 Penyakit Menular	5
2.3 Bakteri <i>Treponema pallidum</i>	6
2.4 Penyakit Sifilis	7
2.4.1 Sifilis Primer	9
2.4.2 Sifilis Sekunder	10
2.4.3 Sifilis Laten	11
2.4.4 Sifilis Stadium Tersier	11
2.5 Tindak Lanjut Pengobatan Sifilis	12
2.6 Epidemiologi	13
2.7 Diagnostik <i>Treponema pallidum</i>	14
2.7.1 CLIA (<i>Chemiluminescence Immunoassay</i>)	16
2.7.2 RPR (<i>Rapid Plasma Reagen</i>)	17
2.7.3 ELISA (<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>)	17
2.7.4 TPPA (<i>Treponema pallidum Particle Agglutination</i>)	17
2.7.5 PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)	18
2.8 Kerangka Teori	19
2.9 Kerangka Konsep	20
2.10 Hipotesis	20
BAB 3 METODE PENELITIAN	21
3.1 Rancangan Penelitian	21
3.2 Waktu dan Lokasi Penelitian	21
3.3 Variabel Penelitian	21
3.4 Definisi Operasional	21
3.5 Sampel Penelitian	22
3.6 Teknik Pengumpulan Data	22
3.7 Alat dan Bahan Penelitian	23
3.8 Uji Skrining dengan Metode CLIA	23
3.9 Uji Molekuler dengan Metode PCR	23

3.10 Deteksi Hasil PCR dengan Elektroforesis Gel	25
3.11 Analisis Data	25
3.12 Alur Penelitian	25
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1 Karakteristik Subjek Penelitian	26
4.2 Distribusi Sampel Berdasarkan Hasil Metode CLIA dan PCR	26
4.3 Hasil Amplifikasi Gen 23s rRNA	27
BAB 5 PENUTUP	30
5.1 Simpulan	30
5.2 Saran	30

Daftar Pustaka

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur Membran Bakteri <i>Treponema pallidum</i>	6
Gambar 2. Klasifikasi Bakteri <i>Treponema pallidum</i>	6
Gambar 3. <i>Clinical of Syphilis</i>	10
Gambar 4. Ulkus Sifilis Primer daerah <i>Labium mayora</i>	10
Gambar 5. Ulkus Sifilis Primer pada alat genital pria	11
Gambar 6. Sifilis sekunder bercak kemerahan ditelapak kaki	12
Gambar 7. Sifilis sekunder bercak kemerahan punggung	12
Gambar 8. Sifilis Tersier gumma di palatum	13
Gambar 9. Masa inkubasi sifilis.....	14
Gambar 10. <i>Cross reactivity</i>	20
Gambar 11. Hasil amplifikasi PCR.....	33

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Definisi Operasional.....	21
Tabel 2. Distribusi Sampel.....	27

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Amplifikasi Gen 23s rRNA	xviii
Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian.....	xix

DAFTAR SINGKATAN, ISTILAH DAN LAMBANG

Lambang/Singkatan	Arti dan penjelasan
M	Mikro
Mm	Mikrometer
Amp	Ampere
Bp	<i>Base pair</i>
CLIA	<i>Chemiluminescence Enzyme Immunoassay</i>
CSF	Cairan Sebospinal
DNA	<i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic Acid</i>
EIA	<i>Enzyme-immunoassay</i>
ELISA	<i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i>
EtBr	<i>Ethidium Bromida</i>
F	Forward
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HPV	Human Papillomavirus
HUM RC	Hasanuddin University Medical Research Center
igG	Imunoglobulin G
igM	Imunoglobulin M
IMLTD	Infeksi Menular Lewat Transfusi Darah
IMS	Infeksi Menular Seksual
LSL	Lelaki Seks dengan Lelaki
MHA-TP	<i>Microhemagglutination Assay</i>
mL	Mililiter
PMI	Palang Merah Indonesia
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
pH	<i>Potencial of Hydrogen</i>
R	<i>Reverse</i>
RI	Republik Indonesia
RNA	Ribonucleid Acid
RLU	<i>Relative Light Unit</i>

RPR	Rapid Plasma Reagen
RSP	Rumah Sakit Pendidikan
STIs	<i>Sexually Transmitted Infections</i>
TBE	<i>Tris-Brorate EDTA</i>
TP	<i>Treponema pallidum</i>
TPHA	<i>Treponema Pallidum Hemagglutination Assay</i>
TPPA	<i>Treponema Pallidum Particle Agglutination</i>
UTD	Unit Transfusi Darah
V	Volt
VDRL	Venereal Disease Research Laboratory
WPS	Wanita Pekerja Seksual
WHO	World Health Organization

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : ARFINA YUSUF

NIM : P062202008

Judul :

DETEKSI *Treponema pallidum* DALAM DARAH PENDONOR DENGAN METODE CLIA dan PCR

dengan ini menyatakan dengan sebenarnya bahwa karya ini benar merupakan hasil saya sendiri, dan bukan merupakan hasil karya orang lain. Jika dikemudian hari terbukti bahwa karya ini adalah hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas tindakan tersebut.

Makassar, Desember 2023



Arfina Yusuf

P062202008

PRAKATA

Puji Syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah Yang Maha Esa, karena berkat Rahmat dan Hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul “**DETEKSI *Treponema pallidum* DALAM DARAH PENDONOR DENGAN METODE CLIA DAN PCR**” ini.

Atas berkat bantuan, doa dan semangat dari berbagai pihak sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini. Dalam penulisan terdapat banyak kesulitan namun karena adanya bimbingan dan doa dari berbagai pihak kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini dengan baik. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Ibu dr. Rizalinda Sjahril, M.Sc, Ph.D, Sp.MK selaku pembimbing utama penulis menghanturkan banyak ucapan terima kasih yang terdalam atas segala bantuan yang beliau berikan baik berupa kritik yang membangun, saran, waktu, pikiran maupun motivasi yang membantu penulis selama proses penulisan tesis ini.
2. Bapak Prof. dr. Muh. Nasrum Massi, Sp.MK, Ph.D selaku pembimbing pendamping penulis mengucapkan banyak terima kasih atas segala nasihat, saran dan kritikan yang membangun kepada penulis.
3. Bapak Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D., Sp. MK(K), Bapak DR. Dr. Khairuddin Djawad, SpKK(K), dan Ibu Prof. dr. Rosdiana Natsir, Ph.D., Sp.Biok.(K) selaku tim penguji penulis mengucapkan banyak terima kasih atas perhatian, saran, masukan dan arahannya.
4. Ibu Dr. Rahmawati Minhajat, Ph.D, Sp. PD-KHOM selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik atas dukungan dan perhatiannya
5. Bapak dan Ibu Dosen serta staff pegawai Fakultas Pascasarjana Universitas Hasanuddin yang senantiasa membantu penulis sehingga dapat mencapai gelar Magister.
6. Ibu Handayani Halik, S.Si, M.Kes selaku laboran HUM RC FK UNHAS dan segenap staff laboratorium atas bimbingan dan bantuannya selama penelitian.
7. Teman-teman Konsentrasi Mikrobiologi Kak Irma, Maya, Kak Azron, Kak Danawir, Kak Fauzan, Kak Kaso, Kak Raymon, Kak Priady, terkhusus Kak Nasrullah dan Zain yang telah banyak membantu penulis dalam menyusun dan melakukan penelitian.

8. Sahabat dan keluarga yang turut membantu penulis dalam hal apapun yang penulis butuhkan dalam menyelesaikan tesis ini.
9. Semua pihak yang telah terlibat membantu yang namanya tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis menyatakan dengan segala kerendahan hati secara khusus dedikasikan sebagai wujud terima kasih yang tak terhingga kepada ayah Drs. H. Muh. Yusuf, ibu H. Masnuniaty, kakak Arfiah Nursani Yusuf, Ardy Yusuf, Armin Yusuf, dan Arfah Yusuf tercinta atas doa, kasih sayang, dukungan dan bantuan mereka yang tak henti-hentinya kepada penulis dalam menuntut ilmu. Terima kasih atas segalanya, penulis berdoa semoga Allah membalas dengan surga-Nya yang indah.

Penulis berharap semoga tulisan ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan kelak, menyadari ketidaksempurnaan dan keterbatasan yang ada, maka penulis mengharapkan kritik dan saran dari pembaca. Terima kasih.

Makassar, Agustus 2023

Penulis



Arfina Yusuf

ABSTRAK

ARFINA YUSUF. **Deteksi *Treponema pallidum* Dalam Darah Pendoror Dengan Metode CLIA dan PCR** (dibimbing oleh Rizalinda Sjahril dan Nasrum Massi)

Sifilis adalah penyakit menular akibat bakteri *Treponema pallidum* yang bersifat sistemik dan dapat menyerang seluruh organ tubuh jika tidak diobati secara dini dengan antibiotik. Oleh karena itu dalam menegakkan diagnosis sifilis sangat diperlukan pemeriksaan penunjang laboratorium. Penelitian ini bertujuan menganalisis keberadaan antibodi spesifik *Treponema pallidum* dengan metode *Chemiluminescent Immunoassay* (CLIA) pada darah pendonor sehat dan dilakukan konfirmasi dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Lima puluh sampel darah yang terdeteksi CLIA reaktif *Treponema pallidum* dites PCR untuk mengevaluasi keberadaan bakteri *Treponema pallidum* secara molekuler menggunakan gen 23s rRNA untuk mengamplifikasi 187 pasangan basa. Pada penelitian ini ditemukan 35 (70%) laki-laki dan 15 (30%) perempuan hasil CLIA reaktif. Sementara itu, hasil tes PCR menunjukkan 24 dari 50 (48%) positif *Treponema pallidum*. Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa bakteri *Treponema pallidum* masih berada di dalam darah pendonor yang sehat. CLIA dapat digunakan sebagai uji skiring dengan riwayat infeksi sifilis. Metode PCR dengan gen 23s rRNA dapat digunakan sebagai konfirmasi dalam mendiagnosis sifilis pada donor darah yang tampaknya sehat.

Keywords: Sifilis; *Treponema pallidum*; CLIA; PCR.



	
GUGUS PENJAMINAN MUTU (GPM) SEKOLAH PASCASARJANA UNHAS	
Abstrak ini telah diperiksa.	Paraf Ketua / Sekretaris.
Tanggal : _____	

ABSTRACT

ARFINA YUSUF. **Detecting *Treponema pallidum* in Blood Donors by CLIA and PCR** (supervised by Rizalinda Sjahril dan Nasrum Massi)

Syphilis is an infectious disease caused by *Treponema pallidum* which can systematically attack all body organs if not treated early with antibiotics. Thus in establishing the diagnosis of syphilis, laboratory supporting examination is needed. This research aimed to analyze the presence of *Treponema pallidum* specific antibodies by *Chemiluminescent Immunoassay* (CLIA) method among healthy blood donors and confirmed it by *Polymerase Chain Reaction* (PCR) method. PCR tested 50 blood samples which by CLIA were reactive. 23s rRNA gene was used to amplify 187 base pairs of *Treponema pallidum* specific DNA polymerase. This study involved of 35 (70%) males and 15 (30%) females samples being reactive in the CLIA test. Meanwhile, PCR test results indicated only 24 of 50 (48%) individuals were positive for *Treponema pallidum*. In this study, it can be concluded that *Treponema pallidum* bacteria are still in the blood of healthy donors. CLIA can be used to screen individuals with a history of syphilis infection. PCR method with 23s rRNA gene can be used as confirming in diagnosing syphilis in apparently healthy blood donors.

Keywords: Syphilis; *Treponema pallidum*; CLIA; PCR.

	
GUGUS PENJAMINAN MUTU (GPM) SEKOLAH PASCASARJANA UNHAS	
Abstrak ini telah diperiksa.	Paraf Ketua / Sekretaris.
Tanggal : _____	

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit menular adalah suatu penyakit yang dapat disebabkan oleh virus, bakteri, atau parasit yang ditularkan melalui media tertentu. Salah satu penyakit menular yang tinggi angka kenaikannya di dunia adalah penyakit sifilis (Zhou et al., 2019).

Sifilis merupakan penyakit infeksi menular seksual yang disebabkan oleh bakteri *Treponema pallidum*. Penularan penyakit ini dapat melalui hubungan seksual, secara vertikal dari ibu ke janin, melalui darah atau transfer jaringan yang telah tercemar, serta kadang dapat ditularkan melalui alat kesehatan.

Kementrian Kesehatan Republik Indonesia menyatakan telah terjadi peningkatan kasus penyakit sifilis lebih dari 70 persen dalam lima tahun terakhir. Pada tahun 2018 kasus sifilis yang terdeteksi berjumlah 12.484 orang jumlah itu kemungkinan terus mengalami peningkatan hingga pada 2022 lalu jumlahnya mencapai 20.783 kasus. Papua merupakan provinsi dengan kasus Sifilis tertinggi di Indonesia dengan angka 3.864 kasus Jawa Barat mencapai 3.186 kasus, DKI Jakarta dengan 1.897 kasus, Sumatera Utara 770 kasus, Kalimantan Timur 399 kasus, Sulawesi Selatan 337 kasus, Sumatera Barat 309 kasus, dan Sulawesi Tengah 119 kasus yang telah dipastikan oleh beberapa uji diagnostik.

Dalam menegakkan diagnosis penyakit sifilis diperlukan pemeriksaan lainnya dalam laboratorium karena manifestasi klinis sifilis bermacam-macam dan dapat menyerupai penyakit lain. Pemeriksaan penunjang dalam menegakkan diagnosis tersebut sampai saat ini mengandalkan uji serologi.

Perkembangan uji diagnostik molekuler menjadi semakin meningkatnya atensi dukungan riset ke arah *precision medicine*. Beberapa metode baru telah dikembangkan guna mendapatkan informasi kesehatan secara akurat dan presisi salah satunya dengan metode berbasis *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Uji molekuler *Treponema pallidum* bersifat spesifik dan diharapkan dapat menjadi alat diagnostik baru untuk sifilis.

Kebutuhan mendesak untuk memberikan diagnosis molekuler patogen dalam transfusi darah *Treponema pallidum*, yang akan menjadi alternatif yang lebih layak untuk pengujian dalam kasus negara-negara yang menghadapi prevalensi penyakit menular yang tinggi (Simpore dkk., 2014).

Berdasarkan standar World Health Organization (WHO), saat ini kantong darah yang tersedia di Indonesia masih belum memenuhi standar pemenuhan kebutuhan darah. Kebutuhan minimal darah di Indonesia sekitar 5,1 juta kantong darah pertahun sedangkan produksi darah dan komponennya saat ini masih sekitar 4,1 juta kantong. Dari jumlah darah yang tersedia, 90% di antaranya berasal dari donasi sukarela. Peningkatan kebutuhan darah bagi pasien yang semakin meningkat. Maka dari itu, penyediaan darah harus terpenuhi dengan maksimal dan mencukupi.

Unit Transfusi Darah (UTD) PMI mengawasi keamanan semua darah pendonor untuk mencegah terjadinya penularan penyakit. Oleh karena itu, Setiap UTD PMI melaksanakan uji saring empat parameter Infeksi Menular Melalui Transfusi Darah (IMLTD) menggunakan metode ELISA, CLIA atau Rapid Test. Empat parameter tersebut meliputi Hepatitis B, Hepatitis C, HIV, dan Sifilis. UTD PMI Makassar mengikuti pedoman sesuai Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 91 Tahun 2015.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah *Treponema pallidum* dapat ditemukan dalam darah?
2. Metode apa yang paling efektif dalam mendeteksi *Treponema pallidum*?
3. Mengapa Sifilis termasuk dalam Uji Saring Infeksi pada UTD PMI?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keberadaan bakteri *Treponema pallidum* pada darah donor di Makassar.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mendeteksi bakteri *Treponema pallidum* dengan metode CLIA dan PCR.
2. Mengevaluasi metode diagnosis Sifilis yang lebih relevan dan akurat.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Praktis

Memberikan gambaran bagi pembaca mengenai deteksi bakteri *Treponema pallidum* pada darah yang lebih akurat.

1.4.2 Manfaat Klinis

Menjadi bahan referensi bagi tenaga medis dan PMI Dinas Kesehatan dalam menindaklanjuti data pasien yang terindikasi reaktif terhadap Sifilis. Serta dapat menjadi informasi bagi pasien.

1.4.3 Manfaat Masyarakat

Sebagai sumber informasi mengenai penularan Sifilis *Treponema pallidum*.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Donor Darah

Transfusi darah adalah penyelamatan hidup dan peningkatan hidup tidak hanya secara langsung dalam situasi darurat dan penyakit akut atau kronis, tetapi juga dalam memfasilitasi pembedahan dan kemoterapi yang tidak akan mungkin terjadi tanpa komponen darah (Roberts et al., 2016).

World Health Organization (WHO) telah mengidentifikasi 4 tujuan utama layanan darah untuk memastikan bahwa darah aman untuk transfusi:

1. Membangun layanan transfusi darah nasional yang terkoordinasi yang dapat menyediakan pasokan darah aman yang memadai dan tepat waktu untuk semua pasien yang membutuhkan.
2. Mengumpulkan darah hanya dari donor darah sukarela yang tidak dibayar dari populasi berisiko rendah, dan gunakan prosedur seleksi donor yang baik.
3. Skrining semua darah untuk infeksi yang dapat ditularkan melalui transfusi, dan miliki prosedur standar untuk pengelompokan dan pengujian kompatibilitas.
4. Mengurangi transfusi yang tidak perlu melalui penggunaan darah secara klinis yang sesuai, termasuk penggunaan cairan pengganti intravena dan alternatif sederhana lainnya untuk transfusi, jika memungkinkan.

WHO juga menekankan bahwa jaminan kualitas yang efektif harus ada untuk semua aspek proses transfusi, mulai dari perekrutan dan seleksi donor hingga skrining infeksi, pengelompokan darah dan penyimpanan darah hingga pemberian kepada pasien dan pemantauan klinis untuk efek samping.

Menurut WHO tiga tipe pendonor darah yaitu :

1. Donor sukarela yang tidak dibayar, orang mendonorkan darah atas permintaan diri sendiri.
2. Donor keluarga atau pengganti, donor pada tipe ini merupakan kerabat pasien yang mendonorkan darahnya untuk menggantikan kebutuhan darah dari pasien tersebut.
3. Donor komersial atau profesional, merupakan pendonor yang menerima imbalan lain dari donor yang mereka sumbangkan.

Salah satu penyakit menular seksual di Indonesia yang banyak ditemukan adalah sifilis, prevalensi penyakit menular seksual yang cukup tinggi ditemukan di

kota Jakarta penyakit sifilis 25,2% dan kejadian sifilis terus meningkat setiap tahun di kota lain (Cuswantoro dkk., 2018). Maka dari itu salah satu upaya Unit Transfusi Darah Palang Merah Indonesia (UTD PMI) dalam mengurangi angka penularan penyakit sifilis adalah dilakukannya Uji Saring Infeksi.

Setiap UTD melakukan uji seleksi pada beberapa penyakit yaitu sifilis, hepatitis B, hepatitis C, dan HIV/AIDS. Ketika dalam uji seleksi terdapat pendonor yang dicurigai terinfeksi, maka pendonor tersebut akan dirujuk ke Unit Transfusi Darah Pusat (UTDP) untuk dilakukan tes ulang mengonfirmasi kembali. Oleh karena itu, uji seleksi dapat memberikan keuntungan terhadap pasien yang memerlukan darah dan pendonor. Salah satu kendala UTD PMI adalah saat puncak liburan atau hari raya jumlah pendonor kurang (PMI, 2022).

Alur untuk pendonor yang reaktif yaitu pemberitahuan secara tertulis atau lewat telepon kemudian diarahkan untuk konseling dan diberikan rujukan untuk pemeriksaan diagnostik, misalnya kerjasama UTD dengan puskesmas atau Rumah Sakit dengan catatan kerahasiaan donor tetap terjaga. UTD PMI Makassar berlandaskan Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 91 Tahun 2015.

2.2 Penyakit Menular

Penyakit menular merupakan penyakit penyebab bakteri, virus, atau parasit yang ditularkan melalui berbagai macam media seperti jarum suntik, transfusi darah, tempat minum atau makan, dan lainnya.

Sifilis disebabkan oleh bakteri *Treponema pallidum* yang penularannya dapat terjadi akibat beberapa cara yaitu kontak dengan lesi infeksius, penggunaan jarum suntik yang tidak steril, hubungan seksual secara bebas, transfusi darah, serta secara transplasenta dari ibu hamil ke janinnya (Gillespie, 2006).

Sejak tahun 2000 tingkat sifilis telah meningkat diantara pria terutama disebabkan oleh peningkatan kasus di antara Lelaki Seks dengan Lelaki (LSL). Seperti dengan tahun-tahun sebelumnya pada tahun 2018, LSL menyumbang mayoritas 53,5% dari semua kasus sifilis yang dilaporkan, dari jumlah tersebut 41,6% diketahui masih hidup. Meskipun tingkat sifilis lebih rendah diantara wanita, telah meningkat secara konkret beberapa tahun terakhir meningkat 30,4% selama 2017–2018, menunjukkan epidemi heteroseksual yang berkembang pesat (Centers for Disease Control and Prevention, 2019).

2.3 Bakteri *Treponema pallidum*

Bakteri *Treponema pallidum* merupakan bakteri patogen penyebab penyakit sifilis. Bakteri *Treponema pallidum* akan memicu infeksi lokal dan berkembang secara cepat menjadi sistemik (Effendi, 2018).



Gambar 1. Struktur Membran Bakteri *Treponema Pallidum*
(Gillespie, 2006).

Tingkatan	Nama
<i>Kingdom</i>	<i>Bacteria</i>
<i>Phylum</i>	<i>Spirochaetes</i>
<i>Ordo</i>	<i>Spirochaetales</i>
<i>Family</i>	<i>Spirochaetaceae</i>
<i>Genus</i>	<i>Treponema</i>
<i>Species</i>	<i>T. pallidum</i>
<i>Subspecies</i>	<i>pallidum</i>

Gambar 2. Klasifikasi Bakteri *Treponema pallidum*
(Jesus, et.al., 2013)

Treponema pallidum termasuk dalam Filum Spirochaeta dengan bentuk spiral dengan ukuran panjang 5-15 μm dan diameter 0.16-0.2 μm . Bakteri ini kecil dari segi ukuran dibandingkan bakteri pada umumnya. Setiap bakteri *Treponema pallidum* terdapat kurang dari 14 lengkung spiral dengan ujung yang meruncing (Radolf dkk., 2016).

Keberadaan DNA *Treponema pallidum* dinilai dengan PCR real-time dalam sampel donor darah dengan tes serologi reaktif untuk sifilis dengan jumlah terbilang banyak (Ferreira dkk., 2014).

Treponema pallidum diperkirakan menyerang sistem saraf pusat pada 25% pasien dengan sifilis, terlepas dari status HIV. Sebagian besar dari orang-orang ini berhasil membersihkan infeksi, tetapi pasien lain menyimpan spirochete dan tetap berisiko mengalami gejala sisa neurosifilis. Meningitis sifilis, penyakit meningovaskular (sering terjadi dengan stroke), labirinitis, atau kelumpuhan saraf kranial (Marra dkk., 2004).

2.4 Penyakit Sifilis

Manusia adalah sumber utama infeksi sifilis, dibagi menjadi sifilis kongenital dan sifilis didapat dengan cara infeksi yang berbeda. Yang pertama adalah ibu hamil yang terinfeksi sifilis menginfeksi janin secara vertikal melalui plasenta. Kemudian ditularkan melalui kontak seksual setelah lahir atau secara tidak langsung melalui transfusi darah yang sejalan dengan penularan AIDS. Infeksi sifilis dapat menghasilkan berbagai antibodi, terutama antibodi *Treponema pallidum* spesifik dan antibodi nonspesifi asalkan deteksi dini dan pengobatan standar dapat disembuhkan. Sehingga sangat penting dilakukan pencegahan dan pengendalian penyakit sifilis hingga deteksi dini. Diagnosis sifilis terutama tergantung pada tes laboratorium dan gejala klinis, tetapi kadang sulit untuk membuat diagnosis tergantung pada gejala klinis yang dialami (J. Zhou dkk., 2017)

Treponema pallidum dapat menginfeksi sistem saraf pusat yang dapat terjadi pada setiap tahap sifilis dan mengakibatkan neurosifilis. Manifestasi klinis neurologi awal atau meningitis sifilis seperti terganggunya saraf kranial, meningitis, stroke, dan perubahan status mental yang parah biasanya muncul dalam beberapa bulan atau tahun pertama infeksi. Infeksi sistem visual (sifilis okular) dan sistem pendengaran (otosifilis) dapat terjadi pada setiap tahap sifilis tetapi umumnya diidentifikasi selama tahap awal dan dapat muncul dengan tanpa keterlibatan sistem saraf pusat lainnya. Sifilis okular sering muncul sebagai panuveitis tetapi dapat melibatkan struktur di segmen anterior dan posterior mata, termasuk konjungtivitis, uveitis anterior, keratitis interstisial posterior, neuropati optik, dan vaskulitis retina. Sifilis okular dapat menyebabkan kehilangan penglihatan permanen. Otosifilis biasanya muncul dengan gejala tinnitus, vertigo, dan gangguan pendengaran sensorineural. Gangguan pendengaran bisa

unilateral atau bilateral, memiliki gejala yang mendadak, dan berkembang dengan cepat. Otosifilis dapat menyebabkan gangguan pendengaran secara permanen (Workowski dkk., 2021)

Meskipun setiap pasien yang didiagnosis sifilis dan yang memiliki gejala neurologis harus menjalani pungsi lumbal, evaluasi Cairan Sebrospinal (CSF) juga harus dipertimbangkan pada pasien tanpa gejala yang didiagnosis sifilis dan yang memiliki titer Rapid Plasma Reagen RPR > 1:32 atau jumlah sel T CD4+ < 350, karena penanda ini telah dikaitkan dengan peningkatan risiko neurosifilis (Marra dkk., 2004).

Sifilis merupakan faktor risiko penting untuk hasil kehamilan yang merugikan. Konsekuensi dari infeksi ibu yang tidak diobati dapat mencakup kematian janin dan bayi, kelahiran prematur, dan infeksi kongenital pada sebagian bayi yang masih hidup yang mengakibatkan cacat perkembangan fisik dan mental. Sebagian besar kasus sifilis kongenital dapat dicegah jika wanita diskriming untuk sifilis dan diobati lebih awal selama perawatan prenatal (Centers for Disease Control and Prevention, 2018).

Tahap sifilis terbagi menjadi tiga stadium yaitu sifilis stadium primer, stadium sekunder dan stadium tersier yang berbeda dengan stadium laten dimana waktu bervariasi tanpa gejala klinis infeksi. Waktu infeksi antara stadium primer dan stadium sekunder sekitar beberapa minggu sampai beberapa bulan sedangkan waktu infeksi antara stadium sekunder dan stadium tersier biasanya satu tahun lebih (Holmes, et.al., 2008).

Penyakit sifilis merupakan suatu penyakit yang perjalanannya teratur yang disebabkan bakteri *Treponema pallidum*. Sifilis primer secara klasik muncul sebagai ulkus atau chancre tunggal yang tidak nyeri pada tempat infeksi tetapi juga dapat muncul dengan lesi multipel, atipikal, atau nyeri (Townes dkk., 2021)

Analisis wabah sifilis menemukan bahwa DNA bakteri *Treponema pallidum* dapat dideteksi dalam darah orang yang terinfeksi dan tidak diobati selama semua fase infeksi (Marfin dkk., 2001).

Diantara donor darah, beberapa individu tidak kehilangan infektivitas setelah pengembangan antibodi pada infeksi akut. DNA bakteri *Treponema pallidum* yang beredar, sebagaimana dibuktikan dengan pengujian asam nukleat, dapat bertahan positif hingga 3 minggu setelah pengembangan antibodi (Dow dkk., 2009).

Table 3 Syphilis clinical presentations		
Stage	Time	Manifestations
Primary	Starts 10–90 d after exposure; lasts several wk	Chancre (painless, indurated ulcer at the site of inoculation; heals spontaneously)
Secondary	Starts at 1–2 mo; lasts 3–12 wk	Fever, fatigue, sore throat, myalgia, arthralgia, lymphadenopathy, condylomata lata (hypertrophic papular lesions affecting moist areas around vulva or anus), polymorphous maculopapular rash (palms and soles)
Latent	Early, <1 y Late, >1 y	Asymptomatic, but may be interrupted during the first few years by recurrent symptoms of secondary syphilis ^a
Tertiary	15–30 y after the initial infection	Cardiovascular syphilis (aortitis), gummatous syphilis (soft, noncancerous, but destructive growths) Neurosyphilis (CNS involvement that can occur at any stage): meningitis, uveitis, seizures, optic atrophy, dementia, posterior spinal cord degeneration

Abbreviation: CNS, central nervous system.

^a If unknown duration, assume late latent syphilis.

Data from Workowski KA, Bolan GA. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2015. MMWR Recomm Rep 2015;64(RR-03):1–137.

Gambar 3. Clinical of Syphilis

(MMWR, 2015)

2.4.1 Sifilis Primer

Gejala awal pada sifilis primer yaitu lesi pada kulit berupa ruam yang muncul pada alat genitalia sekitar tiga minggu awal setelah kontak seksual. Ruam selanjutnya akan melebar dengan ukuran sekitar 0,5 – 1,5 cm kemudian mengalami ulserasi dan membentuk ulkus (Klausner, 2007).

Pada tahap primer adanya ulkus genital yang positif lapangan gelap terlepas dari serologinya (Marfin dkk., 2001).



Gambar 4. Ulkus Sifilis Primer didaerah labium mayora



Gambar 5. Ulkus Sifilis Primer pada alat genital pria

2.4.2 Sifilis Sekunder

Manifestasi penyakit sifilis pada stadium sekunder dapat mencakup ruam pada kulit, lesi mukokutan, dan limfadenopati. Sifilis tersier dapat hadir dengan keterlibatan jantung, lesi gummatous, tabes dorsalis, dan paresis umum (Workowski dkk., 2021).

Manifestasi akan berminggu-minggu atau berbulan-bulan, kemudian mengalami gejala berupa demam ringan, sakit kepala, penyakit kelenjar getah bening, dan lesi kulit.

Pada tahap sekunder adanya tanda-tanda dermatologis yang khas seperti ruam makulopapular dan limfadenopati generalisata pada orang dengan tes RPR dan *Microhemagglutination* (MHA-TP) reaktif (Marfin dkk., 2001).



Gambar 6. Sifilis sekunder bercak kemerahan ditelapak kaki



Gambar 7. Sifilis sekunder bercak kemerahan punggung

2.4.3 Sifilis Laten

Sifilis laten adalah stadium sifilis yang ketika pasien dengan riwayat sifilis dengan hasil uji serologis reaktif yang belum mendapat pengobatan sifilis serta tanpa gejala klinis.

Infeksi laten yaitu yang tidak memiliki manifestasi klinis dideteksi dengan uji serologis. Sifilis stadium laten yang didapat dalam tahun sebelumnya disebut sebagai sifilis laten dini. Semua kasus pada stadium ini diklasifikasikan sebagai sifilis laten lanjut dengan durasi yang tidak diketahui (Workowski dkk., 2021).

Pada fase laten tidak ada tanda atau gejala sifilis dengan hasil tes RPR reaktif dan MHA-TP (Marfin dkk., 2001).

Stadium sifilis laten merupakan stadium saat gejala klinis tidak muncul lagi akan tetapi hasil uji laboratorium reaktif. Pemeriksaan penunjang lainnya pada sifilis seperti pemeriksaan mikroskopis dan uji serologic (Suryani dan Hendra, 2014).

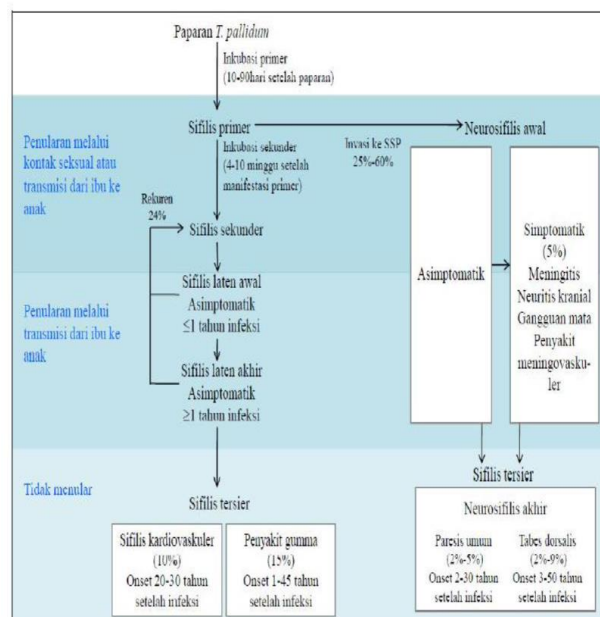
2.4.4 Sifilis Stadium Tersier

Sifilis pada stadium tersier terbagi atas tiga sindrom utama yaitu neurosifilis, sifilis kardiovaskular, dan sifilis benigna lanjut. Waktu fase penyakit neurosifilis dapat asimtomatik dan jarang terjadi dalam bentuk masif. Penyebab

sifilis kardiovaskular yaitu diakibatkan nekrosis aorta yang berlanjut (Suryani dan Hendra, 2014).



Gambar 8. Sifilis Tersier gumma di palatum



Gambar 9. Masa Inkubasi Sifilis

2.5 Tindak Lanjut Pengobatan Sifilis

Sifilis termasuk penyakit yang ditularkan paling banyak melalui hubungan seksual. Pengobatan sifilis sudah mengalami kemajuan dan sudah bisa didapatkan dengan harga yang terjangkau, namun masih dapat menjadi perbincangan yang tersebar diberbagai negara. Bahkan menjadi penyebab morbiditas dan mortalitas perinatal dalam beberapa negara. Sifilis dapat meningkatkan risiko tertular HIV. Pada seseorang HIV yang terkena sifilis akan meningkatkan risiko tertular hingga 3 sampai 5 kali. Risiko penularan sifilis terhadap HIV masih dibawah Infeksi Menular Seksual (IMS) lain yaitu *chancroid*.

Namun angka kejadian sifilis lebih banyak dibandingkan *chancroid*. Tingkat kesembuhan sifilis >95% jika diobati secara layak (Daili, 2005).

Penisilin tetap menjadi pengobatan pilihan untuk sifilis, kemanjuran penisilin ditetapkan sebelum uji klinis acak menjadi praktik rutin, sehingga rejimen yang direkomendasikan didasarkan pada kombinasi data yang berasal dari model kelinci, pengalaman klinis yang luas, rangkaian kasus dan uji klinis terbatas. Persiapan yang digunakan seperti benzatin, prokain cair dengan dosis dan durasi pengobatan tergantung pada stadium dan manifestasi klinis penyakit. Tujuannya adalah untuk mencapai tingkat treponemisida antimikroba, yang untuk penisilin lebih besar dari 0,018 mg/l, selama setidaknya 7 hari untuk mencakup sejumlah kali pembelahan (30–33 jam) treponema, dengan interval subtreponemisida tidak lebih dari 24-30 jam, pada sifilis dini. Durasi pengobatan yang lebih lama digunakan pada sifilis lanjut ketika organisme dianggap membelah lebih lambat. Terapi parenteral daripada oral telah menjadi pendekatan standar karena bioavailabilitas yang lebih baik dan karena pengobatan diawasi (Gillespie, 2006).

2.6 Epidemiologi

Pada tahun 2030 kita harus mengurangi kejadian sifilis dan gonore sebesar 90% berdasarkan tingkat 2018. Sifilis kongenital harus berjumlah tidak lebih dari 50 kasus per 100.000 kelahiran hidup. Semua negara harus mencapai dan mempertahankan cakupan 90% dari vaksin Human Papillomavirus (HPV). Untuk membuat kemajuan yang diperlukan yang akan membantu mengakhiri IMS sebagai masalah kesehatan masyarakat yang utama maka beberapa bidang harus menjadi fokus (Workowski dkk., 2021).

Mayoritas kasus infeksi sifilis berasal dari kontak seksual dengan penderita baik penderita pada stadium primer atau stadium sekunder dengan angka pada beberapa penelitian mengatakan bahwa lebih dari 50% sifilis terjadi penularan melalui kontak seksual (Ryan dkk., 2004).

Angka kasus penyakit sifilis mencapai 90% di beberapa negara berkembang. WHO memprediksi sebesar 12 juta kasus terjadi di Afrika, Asia Selatan dan Tenggara, Amerika Latin dan Caribbean.

Di Indonesia IMS yang banyak ditemukan adalah penyakit gonorrhoea dan sifilis, prevalensi yang tinggi ditemukan di Kota Jakarta yaitu sifilis 25,2%, gonorrhoea 29,8%, dan chlamydia 22,7% (Cuswantoro dkk., 2018).

Melalui Global Health Sector Strategy on Sexually Transmitted Infections (STIs) 2016-2021, WHO telah menetapkan target penurunan kasus sifilis dengan angka 90% dan ≤ 50 kasus dari sifilis kongenital setiap 100.000 kelahiran hidup di 80% negara. Skema yang dilakukan adalah skrining, penatalaksanaan pada ibu hamil, dan mengontrol sifilis pada LSL dan WPS.

Upaya bersama untuk secara cepat meningkatkan intervensi dan layanan yang efektif dapat mencapai tujuan mengakhiri epidemi infeksi menular seksual sebagai masalah kesehatan masyarakat pada tahun 2030, dengan mencapai serangkaian target yang ambisius ini (WHO, 2016) :

- 90% pengurangan insiden *Treponema pallidum* secara global;
- 90% pengurangan insiden *Gonorrhoe* secara global;
- 50 atau kurang kasus sifilis kongenital per 100.000 kelahiran hidup di 80% negara;
- Mempertahankan 90% cakupan nasional dan setidaknya 80% setiap distrik (atau unit administratif yang setara) di negara-negara dengan vaksin human papillomavirus dalam program imunisasi nasional mereka.

2.7 Diagnostik *Treponema pallidum*

Pada uji skrining tepat memberikan hasil positif ketika seseorang memiliki riwayat penyakit dan hasil negatif saat seseorang tidak mempunyai penyakit. Tes skrining adalah uji medis yang dilakukan pada seseorang dari kelompok tanpa gejala tertentu untuk menilai kemungkinan anggota mereka menderita penyakit tertentu. Dengan sedikit pengecualian, tes skrining tidak mendiagnosis penyakitnya. Sebaliknya subjek yang dites positif biasanya memerlukan evaluasi lebih lanjut dengan tes atau prosedur diagnostik berikutnya (Arbyn dkk., 2008)

Hasil uji laboratorium saat nilai sensitivitasnya tinggi menunjukkan bahwa rendahnya hasil negatif palsu, sedangkan jika sensitivitasnya rendah menunjukkan hasil negative palsu yang tinggi.

Hasil uji nontreponemal yang dapat terjadi positif palsu seringkali dikaitkan dengan beberapa kondisi medis dan kasus yang tidak terkait dengan infeksi sifilis, termasuk infeksi lain seperti HIV, autoimun, vaksin, penggunaan narkoba suntik, kehamilan, dan usia yang lebih tua (Tuddenham dkk., 2020).

Skrining dan diagnosis sifilis di Indonesia dilakukan dengan pemeriksaan serologis non spesifik treponema dan dilanjutkan dengan pemeriksaan serologis spesifik treponema berdasarkan antigen yang dikenali selama reaksi. Tidak ada

jenis tes yang dianggap cukup untuk diagnosis dan penggunaan tes nontreponemal (untuk tujuan skrining) perlu dikombinasikan dengan tes treponemal untuk mengkonfirmasi hasil awal. Tes nontreponemal menggunakan campuran antigen lipid untuk mendeteksi antibodi yang ada dalam serum pasien dengan infeksi treponemal.

Hasil uji serologis menunjukkan dapat terjadi negatif saat gejala ruam pertama kali terlihat dan akan reaktif ketika satu sampai empat minggu setelah terinfeksi. Selanjutnya ruam tersebut memudar sekitar dua sampai enam minggu saat itulah terjadi penyembuhan impulsif (Klausner, 2007).

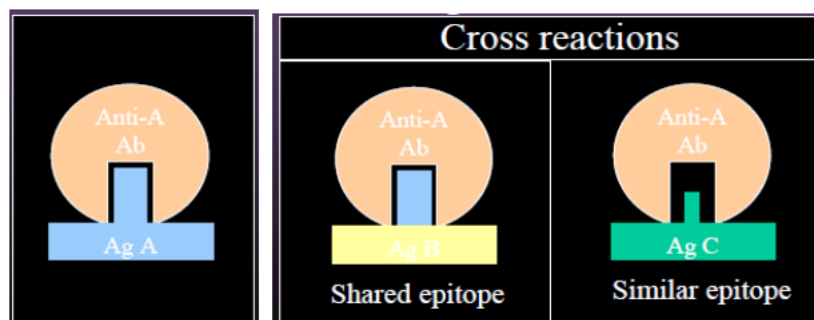
Status HIV tidak mempengaruhi frekuensi deteksi bakteri *Treponema pallidum* di salah satu spesimen yang diuji. Spesimen swab dari lesi mukosa atau kulit tampaknya lebih berguna daripada darah untuk deteksi genom *Treponema pallidum* yang efisien dan dengan demikian untuk diagnosis sifilis. Evaluasi pengaruh status HIV terhadap deteksi *Treponema pallidum* pada swab dan darah dengan nPCR. Sensitivitas dan spesifisitas deteksi DNA *Treponema pallidum* dari swab tinggi untuk pasien HIV negatif masing-masing 83 dan 96% tetapi lebih rendah masing-masing 76,4 dan 93,3% untuk pasien HIV-positif. Namun, perbedaan ini tidak signifikan untuk deteksi *Treponema pallidum* DNA. Tidak ada perbedaan statistik yang ditemukan untuk deteksi DNA *Treponema pallidum* dalam fraksi darah (Grange dkk., 2012).

Uji Serologi sifilis terbagi atas 2 bagian yaitu Uji Treponemal dan Uji Non Treponemal. Pemeriksaan serologis spesifik treponema antara lain Uji TPHA, TPPA, dan TP Rapid sedangkan pemeriksaan serologis spesifik non treponema yang sering digunakan antara lain RPR dan VDRL (Baguna dkk., 2021).

Nilai uji nontreponemal dapat menurun setelah pengobatan dan akan menjadi nonreaktif. Tetapi untuk beberapa orang tertentu antibodi nontreponemal mungkin menurun kurang dari empat kali lipat setelah pengobatan yaitu respons serologis yang tidak memadai atau mungkin menurun dengan tepat tetapi gagal untuk serorevert dan bertahan untuk waktu yang lama. Hasil tes serologis nontreponemal atipikal misalnya, titer yang sangat tinggi, sangat rendah, atau berfluktuasi yang dapat terjadi tanpa memandang status HIV (Workowski dkk., 2021).

Salah satu keuntungan uji serologi nontreponemal yaitu dianjurkan untuk meninjau perjalanan penyakit selama pengobatan dan berlanjut karena pemeriksaannya mudah, cepat, dan murah (Franzen, 2008).

Seseorang yang positif uji skrining treponemal diharuskan memiliki hasil tes nontreponemal dengan nilai titer yang standar agar dapat ditinjau lebih lanjut. Saat negatif uji nontreponemal, laboratorium melakukan uji treponemal sebagai pengujian awal dengan uji TPPA berdasarkan antigen yang berbeda dari uji asli untuk memutuskan hasil uji awal. Jika tes treponema kedua positif seperti, EIA reaktif, RPR nonreaktif, atau TPPA reaktif, orang dengan riwayat pengobatan sebelumnya tidak memerlukan perjalanan lebih lanjut kecuali riwayat seksual menunjukkan paparan ulang. Kemudian tes nontreponemal diulang 2-4 minggu setelah riwayat medis dikonfirmasi dan pemeriksaan lainnya secara fisik dianjurkan untuk mengevaluasi sebagai infeksi awal. Saat tidak memiliki riwayat pengobatan sifilis harus ditawarkan pengobatan. Kecuali hasil pemeriksaan fisik menunjukkan infeksi masih awal, orang yang sebelumnya tidak pengobatan harus diterapi untuk gejala sifilis yang dialami dengan waktu yang tidak diketahui apalagi saat sifilis laten yang tidak diketahui waktunya (Workowski dkk., 2021).



Gambar 10. Cross reactivity

2.7.1 CLIA (*Chemiluminescence Immunoassay*)

Metode yg digunakan oleh UTD Makassar adalah Uji Serologi Sifilis adalah CLIA. Metode *chemiluminescence* merupakan suatu pancaran cahaya dari sesuatu yang distimulus oleh reaksi kimia. CLIA adalah metode mendeteksi antigen atau antibodi dengan menggunakan reaksi antara antigen dengan antibodi yang menghasilkan cahaya.

Hasil yang salah mungkin beberapa bahan biologis seperti urin atau plasma menyebabkan pendinginan emisi cahaya, kurang baik untuk penentuan penanda virus (Lee dkk., 2019).

Metode immunoassay memiliki waktu deteksi yang besar sehingga dapat melihat konsentrasi yang bervariasi pada setiap tahap. CLIA tidak memerlukan

lama durasi inkubasi, tidak membutuhkan stop solution, dan tidak mengandung bahaya radioaktif. CLIA dapat secara otomatis dan cepat mendeteksi antibodi spesifik serum *Treponema pallidum* dengan sensitivitas dan spesifisitas tinggi untuk diagnosis sifilis.

2.7.2 RPR (Rapid Plasma Reagen)

Uji rapid plasma reagin (RPR) adalah metode pemeriksaan secara makroskopis dan memerlukan kartu flocculation nontreponemal. Antigen terbentuk dari modifikasi antigen VDRL yang terdiri dari choline chloride, EDTA dan partikel charcoal.

Pengujian RPR menghasilkan antibodi IgM dan IgG terhadap lipoidal, dihasilkan dari kerusakan sel host, dan mungkin kardiolipin dihasilkan dari bakteri (Pope, 2012).

2.7.3 ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

ELISA diperkenalkan pertama kali oleh Engvall dan Pearlmann pada tahun 1971. Metode *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) merupakan metode yang dipakai dalam imunologi dengan tujuan mendeteksi adanya antibodi dan antigen dalam sampel. ELISA merupakan metode immunoassay yang memakai suatu enzim sebagai labelnya (Murphy, 2012).

Deteksi keberadaan antibodi dan antigen yang terkelola dalam sumur dengan antibodi dan antigen spesifik yang terikat dengan enzim (Darwish, 2006).

Pengikatan antibodi dan antigen terbaca saat perubahan warna substrat menjadi produk. Hasil ELISA dapat dideteksi menggunakan spektrofotometer.

Pengerjaan ELISA menggunakan microplate berjumlah 96 sumur dan terbuat dari plastik yang proteinnya dapat terikat dengan mudah. ELISA dapat digunakan dengan banyak kebutuhan seperti jumlah tingkat antibodi, deteksi bakteri dan virus, deteksi perubahan hormon, dan deteksi sirkulasi penanda inflamasi (Murphy, 2012).

2.7.4 TPPA (Treponema pallidum Particle Agglutination)

Pemeriksaan *Treponema pallidum Particle Agglutination* (TPPA) adalah metode uji serologi yang mendeteksi antibodi spesifik treponema penyebab sifilis,

yaws, pinta, dan bejel. Uji metode tersebut termasuk uji konfirmasi atau lanjutan, pengganti pemeriksaan *microchem agglutination assay for toTreponema pallidum* (MHA-TP) (Larsen dkk., 1995).

TPPA adalah yang umum digunakan secara klinis karena spesifisitas dan sensitivitas yang tinggi. Namun, TPPA memiliki beberapa keterbatasan yang tak terhindarkan, seperti prosedur operasi yang rumit, hasil subjektif, sifat memakan waktu, dan otomatisasi yang sulit, sehingga tidak cocok untuk skrining sampel klinis. Dengan perkembangan metodologi, deteksi antibodi sifilis chemiluminescence immunoassay otomatis secara bertahap memperhatikan pemeriksaan klinis (J. Zhou dkk., 2017).

2.7.5 PCR (Polymerase Chain Reaction)

Keberhasilan suatu pengujian diukur berdasarkan validitasnya sensitivitas dan spesifisitasnya. Hasil penelitian dalam jurnal Nagalo dkk, 2012, berfokus pada efektivitas uji serologis non spesifik TP dan uji serologis spesifik TP. Hasil lainnya disesuaikan efektivitas uji serologis sifilis dan tetap diperhatikan. Selain spesifisitas dan sensitivitas PCR, uji molekuler untuk membuat diagnosis yang cepat dan akurat (Nagalo dkk., 2012).

Sejak penemuannya oleh ilmuwan Amerika Mullis pada tahun 1985, teknologi PCR telah memainkan peran yang sangat penting di banyak bidang, terutama dalam prosedur diagnostik. Dengan diperkenalkannya pengurutan seluruh genom dari *Treponema pallidum* dan perkembangan biologi molekuler yang berkelanjutan, semakin banyak metodologi PCR telah dipromosikan untuk beradaptasi dengan kebutuhan klinis dan laboratorium yang luas dan untuk mengatasi keterbatasan PCR.

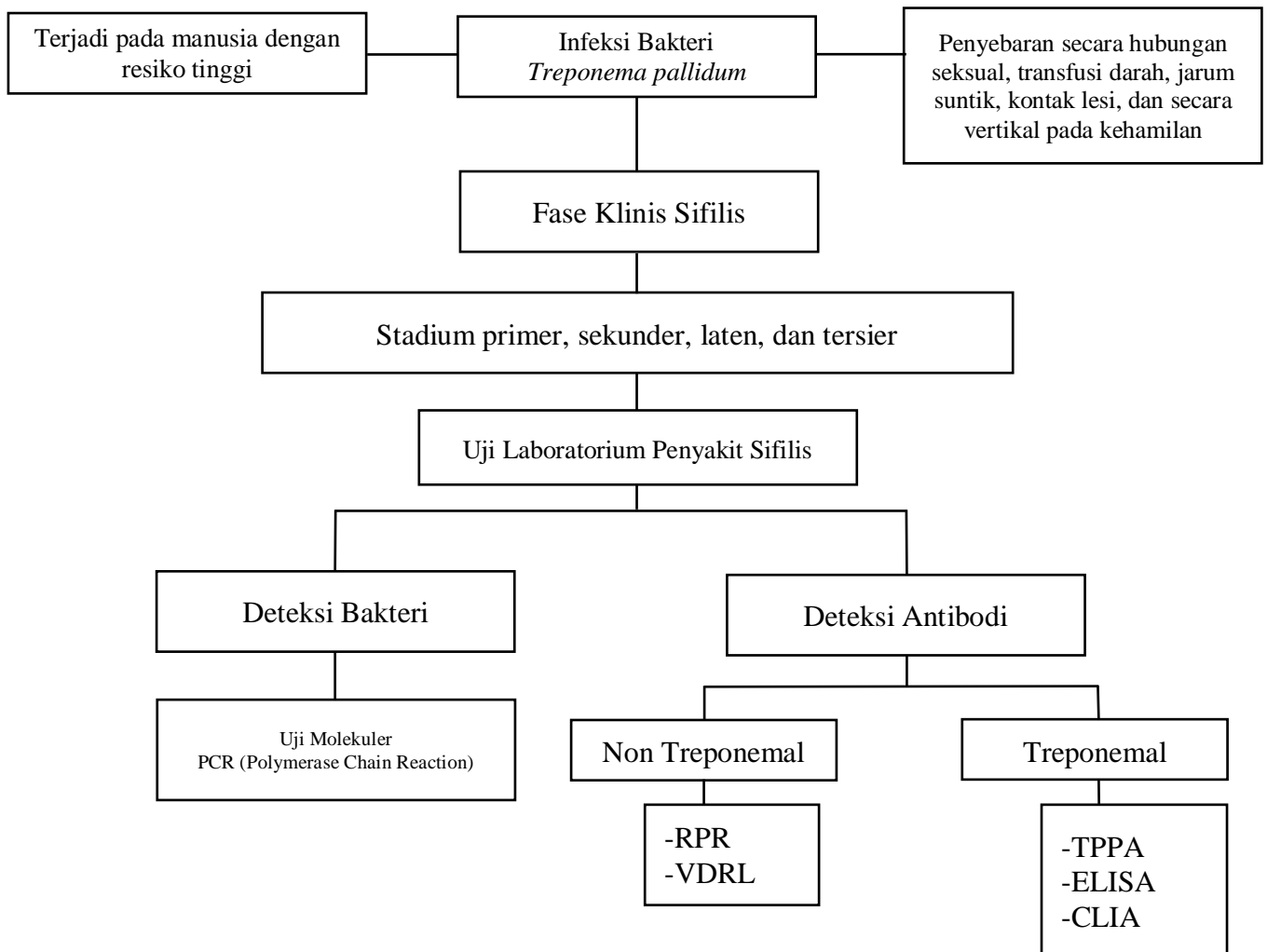
PCR umumnya dilakukan dalam volume reaksi 10-200 ml pada tabung reaksi dalam siklus termal. Tabung reaksi pada siklus termal terjadi panas dan dingin untuk mencapai suhu yang ditetapkan. Thermocycler lama yang tidak mempunyai penutup untuk memanaskan membutuhkan lapisan oil di atas campuran reaksi di dalam tabung (Rahman dkk., 2013).

Studi Matt Shields 2012 menunjukkan bahwa sensitivitas PCR konvensional berkisar antara 84,6% hingga 89,1%, dan spesifisitas berkisar antara 93,1% hingga 100% untuk sifilis primer, sedangkan pada penyakit stadium sekunder, sensitivitasnya menurun hingga 50%. Namun, penelitian lain menunjukkan bahwa PCR konvensional juga dapat digunakan secara efektif untuk

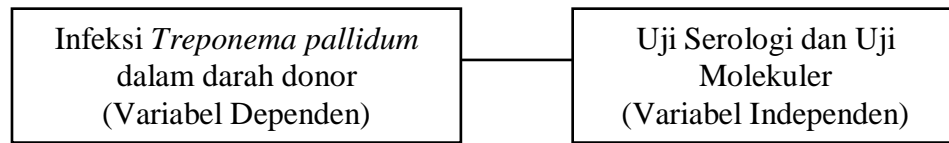
sifilis sekunder dengan sensitivitas dan spesifisitas yang mencapai 81,1% dan 100%.

Dasar metode PCR amplifikasi enzimatik fragmen DNA dengan dua oligonukleotida *primer* yaitu oligonukleotida dari dua untai sekuens target. Oligonukleotida untuk cetakan DNA dikopi oleh DNA polimerase. Thermocycler adalah alat yang digunakan dalam tahap PCR. Terdapat tiga tahap dalam proses PCR yaitu denaturasi DNA template, penempelan (*annealing*) primer, dan polimerisasi (*extention*) rantai DNA (Rahman dkk., 2013).

2.8 Kerangka Teori



2.9 Kerangka Konsep



2.10 Hipotesis

Dapat terdeteksi bakteri *Treponema pallidum* dalam darah dengan menggunakan Metode PCR.