

PERBANDINGAN UJI *Treponema pallidum* Haemagglutination Assay (TPHA) DAN IMUNOKROMATOGRAFI SEBAGAI DETEKSI SIFILIS di PUSKESMAS MEDAENG

COMPARISON OF *Treponema pallidum* Haemagglutination Assay (TPHA) TEST AND IMMUNOCHROMATOGRAPHY AS SYPHILIS DETECTION AT MEDAENG PUBLIC HEALTH CENTER

Desi Fitriatur Romadhon¹⁾, Christina Destri Wiwis Wijayanti^{2)*}, Titik Sundari³⁾, Deni Harmoko⁴⁾

^{1),2)}Program studi D4 TLM, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Maarif Hasyim Latif

³⁾Program studi D3 TLM, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Maarif Hasyim Latif

⁴⁾Program studi S1 Mikrobiologi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Maarif Hasyim Latif

Email: ch.destri@dosen.umaha.ac.id

ABSTRACT

*Syphilis is a sexually transmitted infection caused by the bacteria *Treponema pallidum*. Syphilis detection can be done using the *Treponema pallidum* Haemagglutination Assay (TPHA) method and immunochromatography. *Treponema pallidum* Haemagglutination Assay (TPHA) is a specific antibody test to detect *Treponema pallidum* but the process is long and expensive, compared to fast and relatively cheap immunochromatography. This study aimed to compare the *Treponema pallidum* Haemagglutination Assay (TPHA) method and immunochromatography as syphilis detection by looking at their positive and negative reaction percentage. The type of research used was descriptive-analytical observation. The results of the *Treponema pallidum* Haemagglutination Assay (TPHA) examination were positive for 10 samples (50%) and negative for 10 samples (50%). Meanwhile, positive immunochromatography was in 8 samples (40%) and negative for 12 samples (60%). It can be concluded that TPHA and immunochromatography have a different result.*

Keywords: *syphilis, immunochromatography, TPHA, sensitivity, specificity*

PENDAHULUAN

Laporan tahunan di Amerika Serikat oleh *Centers for Disease Control and Pervention* (CDC) menyatakan bahwa terdapat penonglatan kasus sifilis pada bayi sebesar 7%. Hal ini dapat terjadi akibat penularan dari ibu ke bayi yang disebut sifilis kongenital (Orbe-Orihuela *et al*, 2022). Sifilis sendiri merupakan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Treponema pallidum* dengan cara transmisi melalui hubungan seksual. Transmisi lain juga dapat terjadi melalui kontak dengan luka yang terinfeksi, jarum suntik maupun transfusi

darah. Umumnya penyakit sifilis dapat ditemukan lebih banyak kasusnya pada negara yang masih berkembang (Rinandari *et al*, 2020). Prevalensi penyakit sifilis di Indonesia pada tahun 2017 dilaporkan 3.295 kasus pada wanita hamil (Iskandar & Reza, 2023).

Terdapat gejala yang menandakan infeksi *T. Pallidum* pada tubuh. Sifilis jika memberikan gejala maka akan ditunjukkan dengan adanya ruam pada ulkus, genital dan kulit, sehingga dapat ditangani dengan pengobatan yang tepat. Terdapat pula beberapa

pasien sifilis yang tidak menunjukkan gejala (Giantini *et al.*, 2020).

TPHA (*Treponema pallidum Haemagglutination Assay*) merupakan uji kualitatif dan semi kuantitatif antibodi terhadap *T. Pallidum* pada serum atau plasma manusia. TPHA yang sering digunakan sebagai metode deteksi sifilis memiliki sensitifitas dari 85% hingga 98% serta spesifisitas antara 93% hingga 98% (Sinaga & Said, 2019). Penggunaan *Treponema pallidum Haemagglutination Assay* (TPHA) dapat dilakukan secara otomatis dan memiliki sensitifitas yang baik terhadap anti *Treponema IgM* (19S) spesifik (Sinaga & Said, 2019).

Imunokromatografi merupakan salah satu metode analisis untuk mendeteksi sifilis yang memerlukan waktu yang lebih singkat dan mudah. Metode ini memiliki prinsip memisahkan dan mengidentifikasi antigen dan antibodi dalam sampel (Jayalie, 2016). Deteksi sifilis menggunakan imunokromatografi telah dilaksanakan di beberapa laboratorium di dunia karena memiliki sensitivitas 93% dan spesifisitas 98%. Sensitivitas analitik dapat mendeteksi jumlah terkecil zat dalam sampel yang diukur (Vaulet *et al.*, 2018).

Berdasarkan uraian data di atas, peneliti tertarik melakukan penelitian terhadap perbandingan uji metode *Treponema pallidum Haemagglutination Assay* (TPHA) dan imunokromatografi sebagai deteksi sifilis.

METODOLOGI PENELITIAN

Jenis penelitian

Penelitian dilakukan secara observatif dengan membandingkan hasil uji metode TPHA dan metode imunokromatografi. Pelaksanaan penelitian berlokasi di Puskesmas Medaeng Kabupaten Sidoarjo, pada bulan Desember 2022 - Januari 2023. Subyek penelitian yang dianalisis adalah 20 orang. Sampling dilakukan dengan purposive sampling dipilih 10 orang pasien sifilis dan 10 orang yang bukan pasien sifilis. Sampel memiliki kriteria inklusi laki-laki atau

Perempuan tanpa batas usia serta bersedia berpartisipasi dalam penelitian.

Tahap Pra Analitik

Prosedur pemeriksaan diawali dengan pencocokan data pasien dengan identitas yang tertulis pada tabung sampel. Darah pasien selanjutnya diambil sesuai prosedur flebotomi. Penanganan spesimen yang akan dibawa ke laboratorium dilakukan dengan menggunakan *cool box* agar tidak merusak darah. Darah selanjutnya disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit.

Tahap Analitik - TPHA

Treponema pallidum Haemagglutination Assay (TPHA) dimulai dengan mempersiapkan buffer pada suhu ruang. Sebanyak 10 µl serum dan 190 µl dicampurkan ke sumuran dan dihomogenkan. 25 µl dari sumuran satu ditambahkan pada sumuran kedua, kemudian 25 µl dari sumuran satu ditambahkan pada sumuran ketiga. Pada sumuran kedua ditambahkan tes sel sedangkan pada sumuran ketiga ditambahkan kontrol sel. Sumuran kemudian ditutup dan diinkubasi selama 45 – 60 menit, selanjutnya diamati ada tidaknya aglutinasi.

Interpretasi hasil uji TPHA dilakukan dengan pengamatan pada sumuran mikroplate. Hasil dinyatakan positif bila terdapat bulatan merah merata pada seluruh permukaan sumuran, di sebagian besar permukaan sumur, terbentuk bulatan merah seperti cincin dan bila terdapat bulatan merah kecil terang dan jelas pada sumuran. Nilai +/- dinyatakan apabila terdapat cincin merah yang samar serta nilai – dinyatakan apabila titik merah berada di dasar sumuran.

Tahap Analitik - Imunokromatografi

Uji imunokromatografi dimulai dengan menyiapkan *cassette* uji pada tempat yang datar dan kering. Serum yang telah diambil dari pasien ditetaskan pada lubang S, selanjutnya ditetaskan tiga tetes buffer.

Pembacaan dilakukan setelah 5-20 menit dengan kategori interpretasi jika terbentuk dua garis berwarna pada area C dan T bernilai positif dan jika terbentuk satu garis berwarna pada area C saja bernilai negatif. Hasil dinyatakan *invalid* dan harus diulang apabila tidak terbentuk garis pada kedua area C ataupun T.

Tahap Pasca Analitik

Pasca analitik dilakukan setelah dilaksanakan pembacaan hasil dan dicatat hasilnya. Hasil dilakukan verifikasi dan validasi dengan data awal. Limbah padat dan cair infeksius seperti benda tajam dimasukkan ke dalam *safety box* kuning, sedangkan tabung darah ditambahkan disinfektan (*chlorine* 0,5%) kemudian dibuang ke *safety box*.

Penyajian dan Analisis data

Data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer, yang diperoleh dari hasil observasi langsung kemudian disajikan dalam bentuk persentase untuk mendapatkan hasil penelitian. Analisis data dilakukan secara deskriptif dengan membandingkan kedua data nominal.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan TPHA dan imunokromatografi sebagai deteksi sifilis dilaksanakan terhadap pasien dengan usia di antara 21 tahun – 49 tahun. Perbandingan uji metode TPHA dan imunokromatografi sebagai deteksi sifilis didapatkan hasil persentase hasil positif uji TPHA adalah 40% sementara hasil positif uji melalui imunokromatografi adalah 50%. Hasil uji yang dinyatakan negatif adalah 60% melalui uji TPHA dan 50% melalui uji imunokromatografi.

Perbedaan berdasarkan jenis kelamin menyatakan bahwa, pada uji TPHA, mendapatkan hasil negatif pada wanita 10, sedangkan pada pria hanya terdapat 2 negatif. Laporan tahunan di Eropa pada tahun 2022 menyatakan bahwa prevalensi penyakit sifilis

pada pria jauh lebih tinggi dibandingkan prevalensi positif pada wanita. Kasus sifilis pada pria tercatat hingga 31.000 kasus sementara pada wanita hanya 3.900 kasus (European Centre for Disease Prevention and Control, 2024; Chen *et al.*, 2023).

Pembacaan hasil uji imunokromatografi pasien menunjukkan 10 terduga positif sifilis dan 10 terduga negatif sifilis. Uji imunokromatografi merupakan uji rapid yang umumnya dilakukan untuk kepentingan skrining. Tes imunokromatografi mendapat hasil reaktif lebih banyak dibandingkan dengan hasil TPHA. Hasil reaktif dapat diperoleh ketika penderita sedang terinfeksi atau penderita pernah terinfeksi dan dalam masa pemulihan (Fadhilah *et al.*, 2023).

Pemeriksaan metode tes cepat seperti imunokromatografi memiliki kelebihan dari kecepatannya namun memiliki kecenderungan menunjukkan hasil positif. Metode tes cepat dapat memberikan hasil reaktif palsu terjadinya hasil positif palsu pada tes cepat, yang mungkin disebabkan oleh reaksi silang dengan penyakit menular atau tidak menular lainnya, menyoroiti kompleksitas diagnosis sifilis dan risiko salah tafsir. Penyakit autoimun juga dapat menjadi dugaan penyebab adanya hasil positif palsu dari uji imunokromatografi (Chomean *et al.*, 2024).

Frekuensi terjadinya positif palsu pada pemeriksaan sifilis dapat berkisar antara 0,14% hingga 0,59%). Umumnya pasien yang sering mengalami positif palsu adalah perempuan dan usia lanjut. Positif palsu juga sering dikaitkan dengan kehamilan. Kondisi medis seperti gangguan autoimun termasuk kanker, malaria, hepatitis C, serta infeksi HIV dikaitkan dengan peristiwa ini (Matthias *et al.*, 2019).

Di Indonesia pemeriksaan skrining untuk diagnosis sifilis dilakukan dengan pemeriksaan serologi non spesifik treponema, kemudian dilanjutkan dengan pemeriksaan serologi spesifik treponema. Apabila pemeriksaan non spesifik reaktif, pemeriksaan dilanjutkan dengan

pemeriksaan serologis spesifik treponema (Baguna *et al.*, 2021).

Pemeriksaan *Treponema pallidum* *Haemagglutination Assay* (TPHA) umumnya dilakukan apabila pada uji skrining didapatkan hasil positif. Hasil pemeriksaan TPHA negatif dapat dipengaruhi beberapa kemungkinan yaitu, antibodi terhadap *Treponema* bisa saja belum terbentuk atau titer yang masih rendah

sehingga tidak dapat terdeteksi infeksi bakteri *T. pallidum* (Yulyanti *et al.*, 2019). TPHA adalah tes aglutinasi tidak langsung di mana antigen permukaan diekstraksi dari keseluruhan *T. pallidum* dilapisi sel darah merah atau partikel gelatin dan bereaksi dengan serum (Luo *et al.*, 2021).

Tabel 1. Hasil pemeriksaan imunokromatografi & TPHA

NO	KODE PASIEN	JENIS KELAMIN	USIA	HASIL PEMERIKSAAN	
				IMUNOKROMATOGRAFI	TPHA
1	HZ	P	38 TH	-	-
2	D	P	25 TH	-	-
3	HS	P	26 TH	-	-
4	MJ	P	33 TH	-	-
5	DM	P	29 TH	-	-
6	DF	P	21 TH	-	-
7	YS	P	30 TH	-	-
8	DD	P	24 TH	-	-
9	LS	P	38 TH	-	-
10	DZ	P	27 TH	-	-
11	A	L	39 TH	+	+
12	K	L	49 TH	+	+
13	AD	L	23 TH	+	+
14	PN	L	21 TH	+	+
15	DN	L	25 TH	+	-
16	AA	L	22 TH	+	+
17	AR	L	23 TH	+	+
18	Z	L	25 TH	+	+
19	AB	L	22 TH	+	-
20	X	L	25 TH	+	+

Keterangan : (+) positif, (-) negatif

Tabel 2. Persentase hasil uji TPHA dan imunokromatografi

Metode uji	Hasil positif (%)	Hasil Negatif (%)
TPHA	40%	60%
Imunokromatografi	50%	50%

KESIMPULAN

Hasil penelitian perbandingan metode uji *Treponema pallidum* *Haemagglutination Assay* (TPHA) dengan imunokromatografi sebagai deteksi sifilis didapatkan perbedaan hasil positif dan negatif. Hasil positif pada uji Imunokromatografi memiliki hasil 10 positif

atau 10% lebih tinggi dibandingkan hasil positif Uji TPHA.

DAFTAR PUSTAKA

Chen, T., Wan, B., Wang, M. Lin, S., Huang, J. (2023). Evaluating the global, regional, and national impact of syphilis: results

- from the global burden of disease study 2019. *Sci Rep* **13**, 11386. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-38294-4>
- Chomean, S., Puttaruk, P., Khamsopar, P., Fukpo, W., Kaset, C. (2024). Evaluation of rapid diagnostic test kits for detection of *Treponema pallidum* antibody. *Plos One*. 19(5): e0303477. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0303477>
- European Centre for Disease Prevention and Control. (2024). Syphilis: Annuals Epidemiological Report For 2022. diakses pada Desember 2024. https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/SYPH_AER_2022_Report_0.pdf
- Fadhilah, F.R., Pakpahan, S.E., Atika, R., Reliani, N. (2023). Evaluasi Pemeriksaa *Treponema pallidum* Rapid (TP-Rapid) dan *Treponema pallidum* Haemagglutination Assay (TPHA) pada Kelompok Wanita Pekerja Seks di Kota Bandung. *Journal of Indonesian Medical Laboratory and Science*. 4(1): 59-69. <https://doi.org/10.53699/joimedlabs.v4i1.110>
- Giantini, A., Wulandari, D., Suparmin, S. (2020) Comparison of Syphilis Rapid Diagnostic Test to Rapid Plasma Reagin, *Treponema pallidum* Haemagglutination Assay and Flourescent Treponemal Antibody-Absorbtion for Syphilis and Yaw Diagnostics. *The Indonesian Biomedical Journal*, 12(2). 136-142. <https://doi.org/10.18585/inabj.v12i2.1029>
- Iskandar & Reza, M. D. (2023) Sifilis pada Kehamilan. *GALENICAL: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Mahasiswa Malikussaleh*, 2(1), 13-31.
- Jayalie, V. F., Surya, M., & Nainggolan, L. (2016). Prinsip Imunokromatografi Imunoglobulin A Saliva sebagai Metode Deteksi Dini dan Cepat Virus Dengue secara Non-Invasif. *Jurnal Mahasiswa Kedokteran Indonesia*. 22-28. <http://doi.org/10.1016/j.sbsr.2016.04.002>
- Luo, Y., Xie, Y., & Xiao, Y. (2021). Laboratory Diagnostic Tools for Syphilis: Current Status and Future Prospects. 10(February), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.574806>
- Matthias, J., Klingler, E. J., Schillinger, J. A., Keller, G., Wilson, C., & Peterman, T. A. (2019). Frequency and Characteristics of Biological False-Positive Test Results for Syphilis Reported in Florida and New York City, USA, 2013 to 2017. *Journal of clinical microbiology*, 57(11), e00898-19. <https://doi.org/10.1128/JCM.00898-19>
- Orbe-Orihuela, Y. C., Sánchez-Alemán, M. Á., Hernández-Pliego, A., Medina-García, C. V., & Vergara-Ortega, D. N. (2022). Syphilis as Re-Emerging Disease, Antibiotic Resistance, and Vulnerable Population: Global Systematic Review and Meta-Analysis. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 11(12), 1546. <https://doi.org/10.3390/pathogens11121546>
- Peeling, R. W., Mabey, D., Kamb, M. L., Chen, X. S., Radolf, J. D., & Benzaken, A. S. (2017). Syphilis. *Nature reviews. Disease primers*, 3, 17073. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.73>
- Rinandari, U., & Ellista Sari, E. Y. (2020). Terapi Sifilis Terkini. *Cermin Dunia Kedokteran*, 47(9), 647–658. <https://doi.org/10.55175/cdk.v47i9.559>
- Sinaga, H. & Said, T.A. (2019). Hasil Pemeriksaan *Treponema pallidum* Haemagglutination Assay dan *Treponema pallidum* Rapid pada Penderita Sifilis di Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Papua. *Jurnal Penelitian Kesehatan SUARA FORIKES*. 10(2), 88--92. <http://dx.doi.org/10.33846/sf10203>
- Vaulet, L.G, Morando, N., Casco, R. (2018). Evaluation of the utility of a rapid test for syphilis at a sexually transmitted disease clinic in Buenos Aires, Argentina. *Sci Rep* **8**, 7542. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25941-4>
- Yulyanti, D., Novilla, A., & Khairinisa, G. (2019). Gambaran Infeksi Sifilis pada Komunitas Bisexual Menggunakan Metode *Treponema Pallidum* Haemagglutination Assay (TPHA). 1, 1–4