



Deteksi *Treponema pallidum* pada Sampel Darah Ibu Hamil Menggunakan Metode PCR

Indas Wari Rahman *, Apriani Allosius Sarambu, Handayani Halik, Nurfitri Arfani

Program studi D-IV Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Teknologi Kesehatan, Universitas Megarezky, Indonesia

*Email (Penulis Korespondensi) : indas.rahman@gmail.com

Abstrak. Sifilis merupakan salah satu penyakit menular seksual yang disebabkan oleh bakteri *Treponema pallidum*. Penularan sifilis dapat terjadi melalui hubungan seksual, jarum suntik, donor darah dan secara vertikal dari ibu ke janin, dan penularan ini banyak terjadi tanpa disadari oleh ibu hamil. Beberapa metode pemeriksaan darah untuk mendeteksi antibodi bakteri sering digunakan dalam diagnosis sifilis (skrining) terutama pada ibu hamil yang datang melakukan pemeriksaan di puskesmas. Metode tersebut adalah metode serologi seperti tes VDRL, RPR atau TPHA, tetapi metode molekuler dengan PCR (Polymerase Chain Reaction) yang memiliki spesifitas dan sensitivitas yang tinggi masih jarang digunakan. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi *Treponema pallidum* pada sampel darah ibu hamil menggunakan metode PCR. Jenis penelitian yang digunakan adalah deskriptif laboratorik dengan pendekatan cross sectional study dengan jumlah sampel darah dari ibu hamil sebanyak 15 sampel. Berdasarkan hasil pemeriksaan PCR ditemukan 12 sampel positif terdeteksi *Treponema pallidum* pada gen target PolA yaitu pada pita (band) ukuran 376 bp, sedangkan 3 sampel lainnya dinyatakan negatif. Kesimpulan dari penelitian ini bahwa metode PCR dapat mendeteksi keberadaan DNA *Treponema pallidum* pada sampel darah ibu hamil sebanyak 80% di Puskesmas Pattingalloang Kota Makassar.

Kata kunci: Sifilis; Ibu Hamil; *Treponema pallidum*; PCR; Gen PolA

Abstract. Syphilis is a sexually transmitted disease caused by the bacterium *Treponema pallidum*. Syphilis can be transmitted through sexual contact, shared needles, blood transfusions, and vertically from mother to fetus, and this transmission often occurs without the pregnant woman being aware of it. Several blood tests to detect bacterial antibodies are often used in the diagnosis of syphilis (screening), especially in pregnant women who come for check-ups at health centers. These methods include serological tests such as VDRL, RPR, or TPHA, but molecular methods using PCR (Polymerase Chain Reaction), which have high specificity and sensitivity, are still rarely used. This study aimed to detect *Treponema pallidum* in blood samples from pregnant women using the PCR method. The type of study used was a descriptive laboratory with a cross-sectional study approach, involving 15 blood samples from pregnant women. Based on the PCR test results, 12 samples were found to be positive for *Treponema pallidum* in the PolA target gene, namely in the 376 bp band, while the other 3 samples were negative. The conclusion of this study is that the PCR method can detect the presence of *Treponema pallidum* DNA in the blood of pregnant women by 80% at the Puskesmas Pattingalloang in Makassar City.

Keywords: Syphilis; Pregnant Women; *Treponema pallidum*; PCR; PolA Gene

1. Pendahuluan

Infeksi Menular Seksual (IMS) adalah suatu penyakit yang paling umum menyebabkan masalah kesehatan dan sampai saat ini masih menyita perhatian karena

kejadiannya yang selalu meningkat. Ada 4 jenis IMS yang sering terjadi yaitu sifilis, gonore, kondiloma dan bartolinitis, dengan rentang umur berkisar antara 12-62 tahun dan terbanyak pada rentang umur 12-25 tahun sebanyak 50% yang terinfeksi penyakit tersebut. Menurut Betan & Pannyiwi (2020) IMS disebabkan oleh faktor pengetahuan dan juga perilaku seseorang dalam pergaulan.

Salah satu jenis penyakit IMS adalah sifilis, yang disebabkan oleh bakteri *Treponema palladium* dengan kejadian di dunia sekitar 12 juta kasus setiap tahun (Pinilla *et al.*, 2018). Menurut data *World Health Organization* pada 2019 menunjukkan ibu hamil yang datang untuk pemeriksaan *antenatal care* (ANC) terdapat 3,2% positif sifilis. Sifilis pada kehamilan merupakan penyebab kedua dari kelahiran mati di dunia. Secara global, 200.000 kelahiran mati dan kematian neonatal terjadi akibat sifilis kongenital sebanyak 661.000 (Baguna *et al.*, 2021). Di Indonesia sifilis memiliki prevalensi infeksi menular sangat tinggi ditemukan di kota Bandung, yaitu dengan prevalensi infeksi sifilis 25,2%, di kota Surabaya prevalensi infeksi sifilis 28,8%, sedangkan di Jakarta prevalensi infeksi sifilis 25,2%. Kebanyakan penderita penyakit menular seksual adalah usia remaja, tetapi ada juga ibu yang menularkan ke bayinya (Evi, 2019).

Kasus prevalensi sifilis di Rumah Sakit Umum Daerah Mangusada sebagaimana penelitian yang dilakukan oleh Dewi & Silayukti (2020), didapatkan hasil tertinggi kasus sifilis yaitu sebesar 10,54 % (35 kasus), kemudian proporsi kasus baru kejadian sifilis sebesar 80% (28 kasus), pada stadium lanjut sifilis ditemukan 91,42% (32 kasus), dan stadium sekunder sebesar 8,58% (3 kasus). Dari penelitian tersebut didapatkan bahwa penderita sifilis lebih banyak didominasi oleh wanita daripada laki laki. Penelitian yang dilakukan Yulyanti *et al.*, (2019) yang dilakukan di Bandung didapatkan hasil positif sebesar 23,3%. Di Sulawesi Selatan tepatnya di Makassar ditemukan sebesar 79 kasus dengan pemeriksaan serologis (Kusumawaty *et al.*, 2019).

Wanita yang hamil biasanya lebih rentan terinfeksi penyakit menular seksual disebabkan oleh perubahan yang sering terjadi selama kehamilan, baik dalam hal hormon maupun respon imun serta anatomis sehingga menimbulkan masalah dalam diagnosis (Evi, 2019). Salah satu penyakit menular yang dapat menginfeksi ibu hamil adalah penyakit sifilis. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Fitrianiingsih & Tuti Suparyati (2022) yang dilakukan di Puskesmas Tirto II didapatkan hasil positif sifilis 6% pada ibu hamil, Penelitian Kitong *et al.*, (2022) yang dilakukan di Puskesmas Pitu Kabupaten Halmahera Utara didapatkan hasil positif sifilis sebesar 13% pada ibu hamil, penelitian yang dilakukan oleh Prastyawati *et al.*, (2021) yang dilakukan di RSUD Kwingga Kabupaten Keerom didapatkan hasil positif sifilis sebesar 3%.

Penyebab penyakit sifilis adalah bakteri *Treponema pallidum* dengan penularan umumnya melalui kontak seksual, dapat juga terjadi melalui jarum suntik yang telah digunakan oleh penderita sifilis, donor darah, melalui kontak bibir dengan penderita sifilis, dan juga penularan Ibu ke anak yang dikandungnya (Aliviameita & Puspitasari, 2020). Menurut Penelitian yang dilakukan oleh Prastyawati *et al.*, (2021), sifilis yang menular dari ibu ke janin yang dikandungnya apabila terjadi pada fase awal maka dapat dilakukan pemberian antibiotik, sehingga deteksi dini penyakit sifilis perlu untuk dilakukan sejak dini.

Treponema pallidum dapat dideteksi menggunakan beberapa metode, yaitu menggunakan metode *Treponema Pallidum Haemagglutination Assay* (TPHA), metode *Imunokromatograf*, metode *Veneral Disease Research Laboratory* (VDRL) dan metode *Polymerase*

Chain Reaction (PCR), (Fitrianingsih dan Tuti, 2022). Kesulitan dalam menegakkan diagnosis karena, di negara-negara yang berkembang, wanita hamil biasanya tidak semua memiliki akses ke perawatan prenatal. Selain permasalahan tersebut, teknik serologis tidak memiliki spesifisitas yang cukup untuk mendeteksi adanya penyakit yang terjadi pada *neonatus* serta sensitivitasnya juga yang rendah, sehingga dapat timbulnya positif palsu atau negatif palsu, dan metode diagnostik tidak tersedia secara luas (Pinilla *et al.*, 2018). Dari beberapa metode pemeriksaan *Treponema pallidum*, metode PCR adalah metode yang baik untuk digunakan dalam mendeteksi *Treponema pallidum*. Pada studi Shields *et al.*, (2012) menunjukkan bahwa sensitivitas PCR rutin berkisar antara 84,6% hingga 89,1%, dan spesifisitas berkisar antara 93,1% sampai 100% (Wang *et al.*, 2021).

Pada penelitian Tsang *et al.*, (2022), mengemukakan sebagian besar (98,8%) spesimen PCR positif ditemukan mengandung tiga gen *Treponema pallidum*, di antaranya yaitu gen *PolA*, gen *tpp47* dan gen *bmp*). Pada penelitian ini gen target yang akan dideteksi adalah gen *polA*. Kemudian berdasarkan Penelitian Pinilla *et al.*, (2018) didapatkan 70% kasus positif sifilis menggunakan metode PCR dan penelitian Marra *et al.*, (2022), mengemukakan metode PCR memiliki *odds ratios* (ORs) dengan interval kepercayaan 95%. Sehingga metode PCR adalah metode yang akan digunakan pada penelitian ini.

Jenis sampel yang digunakan adalah sampel serum dari darah. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Wang *et al.*, (2021) didapatkan hasil positif pemeriksaan sifilis sebesar 51,7% menggunakan sampel darah. Sebagaimana penyakit sifilis adalah penyakit infeksi menular seksual yang umumnya lebih banyak menginfeksi remaja yang bergonta ganti pasangan, sehingga ketika remaja perempuan hamil maka mereka cenderung memeriksakan diri ke Puskesmas, bukan ke Rumah sakit. Sehingga lokasi penelitian dilakukan di Puskesmas Pattingalloang Kecamatan Ujung Tanah Kota Makassar dengan target responden penelitian adalah ibu hamil. Di Puskesmas tersebut juga pernah didapatkan hasil positif sifilis pada ibu hamil berdasarkan metode imunokromatografi.

Berdasarkan uraian di atas maka penelitian ini dilakukan untuk mendeteksi adanya bakteri *Treponema pallidum* pada ibu hamil menggunakan metode PCR yang dapat mendeteksi DNA bakteri walaupun belum menampakkan gejala.

2. Metode

2.1 Jenis Penelitian, Lokasi dan Sampel

Jenis penelitian ini merupakan penelitian deskriptif laboratorik dengan pendekatan *cross sectional study* untuk melihat ada atau tidaknya DNA bakteri pada serum ibu hamil dari hasil pemeriksaan molekuler. Lokasi pengambilan sampel dilakukan di Puskesmas Pattingalloang Kecamatan Ujung Tanah Kota Makassar dan analisis pemeriksaan molekuler dilakukan di Laboratorium *Hasanuddin University Medical-Research Center* (HUM-RC) Makassar. Jenis sampel yang digunakan adalah darah ibu hamil yang telah diseleksi berdasarkan kriteria yang telah ditentukan. Teknik sampling dilakukan secara *puposive sampling* dengan penentuan jumlah sampel berdasarkan *total sampling* dalam periode penelitian selama dua bulan. Kriteria sampel yang memenuhi syarat adalah ibu hamil yang mengalami satu atau lebih gejala sifilis seperti gatal pada alat kelamin, terdapat lesi pada tubuh dan tonjolan pada alat kelaminnya, dan sedang tidak mengonsumsi antibiotik.

2.2 Prosedur Kerja

2.2.1 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, *GeneAmp PCR system 9700 (Applied Biosystem)*, vortex, alat elektroforesis, inkubator, *microwave*, mikropipet *Adjustable Socorex (single channel 0,5-10 µl, 2-20 µl, 20-200 µl, 100-1000 µl)*, neraca analitik, rak tabung, sentrifuge mini. Bahan yang digunakan adalah sampel darah lengkap, bubuk gel agarose *molecular grade*, ddH₂O atau *Nuclease free water (NFW)*, DNA *leader/marker*, enzim *Kapa DNA Polymerase*, ethanol absolut, *etidium Bromida (ETBR)*, filter tip (1.000 µl, 200 µl, 20 µl), geldoc transminator, kit ekstraksi *Geneid*, larutan PBS, primer *Forward (5'-TGCGCGTGTGCGAATGGTGTGGTC-3')* dan primer *Reverse (5'-CACAGTGCTCAAAAACGCCTGCACG-3')* (Liu, *et al.* 2001). tabung eppendor 1,5 ml, tabung *spin column*, TBE buffer 0,5%.

2.2.2 Pengambilan dan Penanganan Sampel

Sebelum pengambilan sampel pada responden, dibagikan terlebih dahulu lembaran *informed consent*, dan setelah mendapat persetujuan dari responden, maka dilakukan pengambilan sampel darah vena menggunakan spoit maupun vacutainer. Pengambilan darah vena pada daerah yang akan ditusuk dan didesinfeksi menggunakan kapas alkohol 70%. Sampel darah dimasukkan ke dalam tabung EDTA, diberi label kode nama pasien. Kemudian sampel darah vena langsung dibawa ke laboratorium dan disimpan pada suhu 2°-8° C hingga sampel terkumpul dan dilakukan pemeriksaan molekuler.

2.2.3 Pemeriksaan Molekuler

Sampel darah vena diekstraksi sesuai protokol DNA kit. Tahapan pertama dalam ekstraksi DNA yaitu proses pelisisan sel (*lisis*), dimana sebanyak 200 µl sampel dimasukkan ke dalam tabung *micro centrifuge* steril 1,5 ml, lalu ditambahkan 20 µl *proteinase-K* lalu divortex selama 10 detik kemudian diinkubasi selama 5 menit pada suhu 60°C kemudian ditambahkan 200 µl buffer GSB lalu vortex dan diinkubasi kembali selama 2 menit pada suhu 60°C, setelah itu ditambahkan etanol absolut sebanyak 200 µl dan divortex kembali selama 10 detik. Tahap kedua yaitu pengikatan DNA (*DNA binding*) dilakukan dengan dipindahkan semua sampel ke dalam *tube spin column* lalu disentrifus selama 1 menit dengan kecepatan 14.000 rpm kemudian dibuang *collection tube* yang berada dibagian bawah *spin column* lalu dipipet sisa sampel dan dipindahkan ke dalam *tube* baru.

Tahap berikutnya yaitu pencucian (*wash*), dilakukan dengan menambahkan 400 µl *wash buffer* ke dalam *tube* lalu disentrifus selama 1 menit dengan kecepatan 14.000 rpm, dibuang endapannya dan ditambahkan kembali *wash buffer* sebanyak 600 µl, dilakukan sentrifus selama 30 detik dengan kecepatan 14.000 rpm lalu dibuang cairan pada *collection tube* dan disentrifus kembali selama 3 menit dengan kecepatan 14.000 rpm lalu dibuang *collection tube* dan diletakkan tabung eppendor baru pada bagian bawah *spin column* dan dipipet sisa sampel. Tahap terakhir yaitu dengan memipet *elution buffer* sebanyak 100 µl kemudian didiamkan selama 3 menit lalu disentrifus selama 30 detik dengan kecepatan 14.000 rpm. Hasil ekstraksi disimpan pada lemari es dengan suhu -4°C untuk digunakan sebagai templat PCR.

Hasil dari ekstraksi DNA kemudian diamplifikasi menggunakan campuran reaksi PCR sebanyak 200 µl yang terdiri dari ; *Taq DNA Polymerase* 125 µl, primer *forward* dan primer

reverse masing-masing 10 µl , *nuclease free water* (ddH₂O) 55 µl , kemudian di vortex selama 5 detik dan dipipet masing-masing 10 µl ke tabung PCR dan tambahkan masing-masing 5 µl template DNA hasil ekstraksi kedalam tabung PCR kemudian di *spin down*. Tahapan dalam amplifikasi DNA *Treponema pallidum* yaitu dengan reaksi berantai polimerase (PCR) dilakukan dengan mesin *Thermocycler* (*GeneAmp PCR System 9700*), dimana reaksi PCR ini terdiri dari pra-denaturasi dengan suhu 95°C selama 3 menit, denaturasi selanjutnya dengan suhu 95°C selama 30 detik, annealing dengan suhu 57°C selama 36 detik , ekstensi awal dengan suhu 72°C dengan waktu 45 detik, dan ekstensi terakhir berlangsung pada suhu 72°C selama 10 menit.

Hasil dari amplifikasi kemudian dilakukan elektroforesis dengan gel agarose 1 gram, lalu dicampur 100 ml TBE (*Tris Borate EDTA*) lalu dihomogenkan dan Setelah itu dipanaskan dengan *microwave* selama 2 menit dengan suhu 100°C kemudian dikeluarkan dari *microwave* dan dipipet *Etidium Bromida* (ETBR) sebanyak 10 µl, dihomogenkan lalu dituang kedalam pencetak gel yang telah dipasangkan sisiran dan di tunggu hingga mengeras. Dimasukkan gel agarosa ke dalam *chamber elektroforesis* lalu ditambahkan larutan *buffer TBE* 0,5 kedalam *chamber* sampai tanda batas maksimal kemudian dipipet *DNA ladder marker* 5 µl ke dalam sumur pertama, dan dipipet masing-masing sampel DNA sebanyak 10 µl kedalam sumur kedua sampai sumur ke enam belas, dipipet pooling pada sumur ke tujuh belas, kontrol positif pada sumur ke delapan belas dan kontrol negatif kedalam sumur terakhir. Setelah itu ditutup *chamber* dan atur arus listrik 400 volt selama 60 menit dengan kuat arus 100 mA. Lalu ditekan tanda “*RUN*” selanjutnya setelah proses elektroferesis selesai gel diangkat lalu dibaca dengan alat visualisasi *Bio-rad Geldoc UV transilluminator*.

Hasil elektroforesis akan menunjukkan adanya pita DNA yang terbentuk sesuai target gen yaitu *PolA* dan dinyatakan positif jika pita terpihat pada ukuran 376 bp (Liu *et al.*, 2001).

2.2.4 Analisis Data

Pada penelitian ini digunakan data primer dari hasil pemeriksaan laboratorium, data sekunder dari observasi dan mengumpulkan data di puskesmas. Data dari hasil uji laboratorium ini akan disajikan dalam bentuk tabel dan gambar menggunakan pendekatan secara deskriptif.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Hasil Penelitian

Pada penelitian ini responden yang digunakan adalah ibu hamil yang melakukan pemeriksaan di wilayah Puskesmas Pattingalloang dengan kriteria yang telah ditentukan. Jumlah sampel darah ibu hamil yang memenuhi syarat sebanyak 15 sampel, kemudian dilanjutkan dengan pemeriksaan PCR. Karakteristik responden berdasarkan beberapa variabel, dapat dilihat pada tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Karakteristik Responden Berdasarkan Usia dan Pekerjaan

Variabel	N	%
1. Usia		
17-25 tahun	7	47
26-35 tahun	8	53
Total	15	100%
2. Pekerjaan		
Ibu Rumah Tangga	13	86
Guru	1	7
Buruh Harian	1	7
Total	15	100%

Berdasarkan tabel 1, karakteristik ibu hamil berdasarkan usia, yaitu pada usia 17-25 tahun sebanyak 7 orang, dan usia 26-35 tahun sebanyak 8 orang, sementara karakteristik berdasarkan pekerjaan, yaitu sebagai ibu rumah tangga sebanyak 13 orang, dan sebagai guru dan buruh harian masing-masing sebanyak 1 orang.

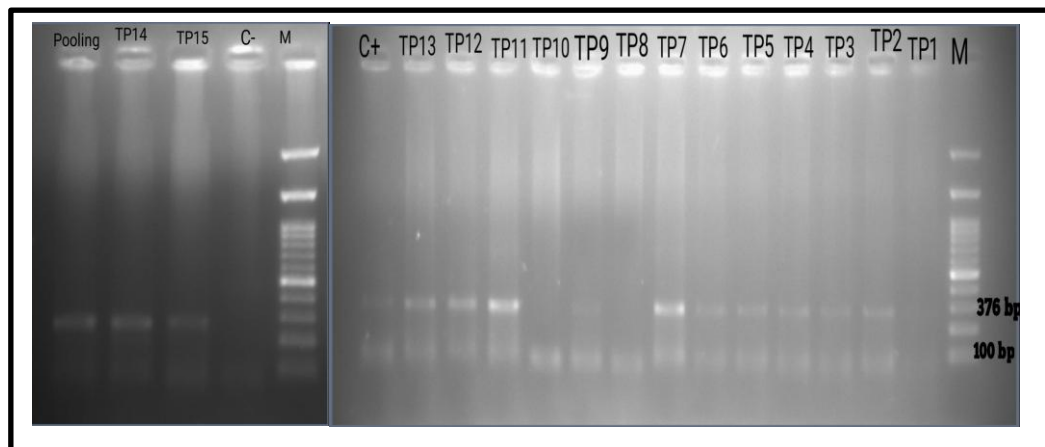
Tabel 2. Karakteristik Responden Berdasarkan Gejala, Lama Gejala dan Usia Kandungan

Variabel	N	%
1. Gejala		
Gatal pada kelamin	15	100
Lesi dan tonjolan pada kelamin	0	0
Lesi dan luka pada tubuh	0	0
Total	15	100%
2. Lama Gejala		
1-7 hari	9	60
8-14 hari	2	13
30 hari	3	20
60 hari	1	7
Total	15	100%
3. Usia Kandungan		
1-3 bulan	8	53
4-6 bulan	6	40
7-9 bulan	1	7
Total	15	100%

Karakteristik subjek penelitian ibu hamil pada tabel 2, berdasarkan gejala yaitu gatal pada alat kelamin sebanyak 15 orang, mengalami lesi dan luka pada tubuh serta mengalami lesi dan tonjolan pada alat kelamin tidak ada ibu hamil yang memiliki gejala tersebut. Karakteristik berdasarkan lama gejala yang timbul yaitu 1-7 hari sebanyak 9 orang, 8-14 hari sebanyak 2 orang, 30 hari sebanyak 3 orang dan 60 hari sebanyak 1 orang. Sementara karakteristik berdasarkan usia kandungan ibu hamil yaitu usia 1-3 bulan sebanyak 8 orang, usia 4-6 bulan sebanyak 6 orang dan usia 7-9 bulan sebanyak 1 orang.

Sampel yang telah dikumpulkan selanjutnya akan dideteksi bakteri *Treponema pallidum* dengan menggunakan metode PCR. Hasil PCR tersebut kemudian akan di

elektroforesis untuk melihat ada tidaknya pita/band yang menentukan keberadaan dari bakteri *Treponema pallidum*. Hasil pemeriksaan elektroforesis dapat dilihat pada gambar 1 dibawah ini.



Keterangan :

M = Marker/Penanda

TP1-TP15 = Kode Sampel

C+ = Kontrol Positif

C- = Kontrol Negatif

100 bp = Ukuran Marker yang digunakan

376 bp = Ukuran Marker *Treponema pallidum*

Berdasarkan gambar 1, menunjukkan hasil visualisasi gel doc yaitu terbentuk pita DNA dengan target 376 bp pada 12 sampel dengan kode yaitu TP2, TP3, TP4, TP5, TP6, TP7, TP9, TP11, TP12, TP13, TP14, dan TP15. Dan tidak terbentuk pita DNA pada 3 sampel dengan kode yaitu TP1, TP8, dan TP10. Sehingga dapat diketahui bahwa dari 15 sampel yang diperiksa terdapat adanya DNA *Treponema pallidum* pada 12 sampel dan tidak adanya DNA *Treponema pallidum* pada 3 sampel (tabel 3.). Hal ini ditunjukkan dengan munculnya band atau pita DNA pada hasil Elektroforesis tersebut.

Tabel 3. Hasil Pemeriksaan Deteksi *Treponema pallidum* pada Ibu Hamil

NO	Kode Sampel	Hasil
1	Tp 1	-
2	Tp 2	+
3	Tp 3	+
4	Tp 4	+
5	Tp 5	+
6	Tp 6	+
7	Tp 7	+
8	Tp 8	-
9	Tp 9	+
10	Tp 10	-
11	Tp 11	+

NO	Kode Sampel	Hasil
12	Tp 12	+
13	Tp 13	+
14	Tp 14	+
15	Tp 15	+

Keterangan:

+ = Terdeteksi pita/band *Treponema pallidum*

- = Tidak terdeteksi pita/band *Treponema pallidum*

Tabel 4. Persentase Hasil Deteksi *Treponema pallidum* pada Ibu Hamil

Hasil	N (Jumlah)	Persentase (%)
Positif	12	80
Negatif	3	20
Total	15	100

Berdasarkan pada tabel 4, menunjukkan hasil persentase pemeriksaan yaitu terdeteksi 12 orang ibu hamil (80%) yang positif ditemukan *Treponema pallidum* dalam darah, dan 3 orang ibu hamil (20% yang hasilnya negatif atau tidak ditemukan *Treponema pallidum* dalam darah.

3.1. Pembahasan

Tujuan dari penelitian ini yaitu mendeteksi adanya bakteri *Treponema pallidum* pada ibu hamil di Puskesmas Patingalloang menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Adapun target dalam penelitian ini yaitu ibu hamil dengan kriteria mengalami satu atau lebih gejala sifilis seperti gatal pada alat kelamin, terdapat lesi pada tubuh dan tonjolan pada alat kelaminnya, ibu hamil yang datang memeriksakan diri di Puskesmas Patingalloang. Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah sampel darah ibu hamil yang tidak dibatasi usia kandungan, yang memenuhi kriteria penelitian. Dalam mendeteksi *Treponema pallidum* pada ibu hamil ada beberapa tahapan pemeriksaan molekuler yang dilakukan yaitu proses pengumpulan sampel, ekstraksi DNA, amplifikasi dengan PCR, dan Elektroforesis. Dalam proses penelitian dikenal ada tiga tahapan penting yaitu tahap pra analitik, analitik dan pasca analitik. Menurut Wijayati dan Ayuningtyas (2021) kesalahan pada tahap pra analitik dapat mencapai 70% dari total kesalahan laboratorium, kesalahan pada tahap ini tidak bisa diabaikan karena informasi yang diberikan dari hasil laboratorium dapat memengaruhi hingga 60-70% termaksud didalamnya masalah identifikasi pasien dan sampel.

Pengumpulan sampel pada penelitian ini dilakukan dengan mengambil darah *vena* ibu hamil kemudian sampel tersebut disimpan dalam kulkas dengan suhu 4°C yang berguna untuk mempertahankan suhu optimal sampel. Kemudian sampel yang sudah terkumpul dilanjutkan ketahapan ekstraksi DNA. Ekstraksi DNA merupakan tahapan penting untuk mendeteksi *Treponema pallidum* dari spesimen klinis dengan memperoleh molekul DNA murni dengan kualitas yang baik serta cukup untuk amplifikasi dengan PCR. Pada tahap ekstraksi DNA dilakukan menggunakan *geneid viral nucleic acid extraction kit II* yang berisi beberapa reagen seperti proteinase-K yang memiliki fungsi untuk membersihkan kandungan protein yang ada. *Elution buffer* yang berfungsi untuk mengikat pengotor selain DNA agar

DNA terpisah sempurna dari pengotor. *Etanol absolut* yang bertujuan untuk melarutkan senyawa lain selain DNA. *W1 buffer* yang berfungsi untuk melarutkan protein serta lemak, *wash buffer* berfungsi sebagai pembersih serta melarutkan sisa lemak, protein maupun pengotor lain yang masih menempel pada *column*.

Menurut Marwayana (2015) masalah dan kendala yang dapat terjadi dalam proses ekstraksi DNA dimana dapat mengakibatkan DNA tidak terekstrak dengan optimal. Faktor utama yang dapat menjadi masalah dan kendala yaitu karena *human error*, kurang terampil, tidak hati-hati serta kesalahan dalam penggunaan bahan kimia. Faktor homogenisasi dengan vortex pun dapat menjadi alasan DNA tidak terdeteksi, dikarenakan sampel dan *buffer* yang bertugas menghancurkan sel tidak terhomogenisasi dengan baik sehingga sel tidak hancur dengan baik dan DNA tidak dapat keluar dari sel. Pada penelitian ini gen target yang dideteksi adalah gen *PolA* sebagaimana terdapat pada penelitian Liu *et al.* (2001) yaitu *polA* memiliki sensitivitas 95,8% dan juga memiliki spesifisitas 95,7%. Dari hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa PCR *PolA* dapat diterapkan sebagai tes diagnostik klinis.

Pada tahap PCR, sebelum dilakukan amplifikasi dilakukan terlebih dahulu pencampuran komponen PCR, seperti pembuatan master mix menggunakan bahan *enzim taq polymerase* yang berfungsi sebagai katalisator untuk reaksi polimerase DNA. Primer *forward* dan primer *reverse* merupakan sebuah oligonukleotida yang pendek dan mempunyai urutan nukleotida yang sesuai dengan urutan nukleotida DNA cetakan. *Nuclease free water* (NFW) digunakan sebagai pelarut. Kemudian dilanjutkan pada tahap amplifikasi DNA pada mesin PCR, dimana terdapat tiga tahapan penting pada PCR yaitu *denaturasi* merupakan proses pemisahan DNA untai ganda menjadi untai tunggal dengan suhu 95°C selama 30 detik. *Annealing* merupakan proses penempelan primer dengan suhu 57°C selama 36 detik. *Extention* atau perpanjangan untai DNA dengan suhu 72°C selama 45 detik (Liu, *et al* 2001). Setelah dilakukan amplifikasi DNA pada mesin PCR, akan dilanjutkan dengan proses elektroforesis menggunakan agarosa sebagai media atau gel. TBE (*Tris-Borat-EDTA*) 0,5x sebagai pelarut untuk mempertahankan keseimbangan ion H⁺ dan OH⁻ dan sebagai penghantar listrik. EtBr (*ethidium bromide*) untuk mewarnai pita-pita DNA. Marker 100 bp sebagai penanda atau acuan untuk mengetahui ukuran DNA hasil amplifikasi.

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil positif lebih banyak daripada hasil yang negatif. Hasil visualisasi elektroforesis pada *gel doc* menunjukkan terbentuknya pita DNA dengan target 376 bp pada 12 sampel dan tidak terbentuk pita DNA pada 3 sampel lainnya. Hasil positif pada sampel ibu hamil sebesar 80% yaitu sampel TP2, TP3, TP4, TP5, TP6, TP7, TP9, TP11, TP12, TP13, TP14, TP15. Dan hasil negatif sebesar 20% yaitu pada kode sampel TP1, TP8 dan TP 10. Sampel yang menunjukkan hasil positif adalah ibu hamil dengan gejala gatal gatal pada kelamin. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Fitrianiingsih, dkk., (2022) yang menyatakan bahwa hasil pada penelitian yang dilakukan didapatkan 6% ibu hamil menderita sifilis mengalami gatal dan terdapat ruam pada tubuh. Ciri-ciri sifilis pada wanita salah satunya adalah mengalami rasa gatal pada alat kelamin atau sekitarnya (Obi, dkk, 2015).

Sementara sampel yang ditemukan negatif tidak terdapat DNA *Treponema pallidum* dapat dipengaruhi oleh beberapa hal seperti gejala yang ditunjukkan bukan karena infeksi *Treponema pallidum* namun bisa saja karena adanya infeksi jamur, karena menurut Arifah (2021) gatal yang terjadi pada alat kelamin wanita paling disering diakibatkan oleh *Candida albicans*. Lamanya gejala yang timbul mempengaruhi hasil positif, dari 12 sampel yang positif

lama gejala yang timbul mulai dari 1 minggu hingga 2 bulan. Hal ini dapat terjadi karena masa inkubasi dari *Treponema pallidum* yaitu sekitar 3 minggu sebelum muncul gejala spesifik lainnya (Kuswiyanto, 2017).

Selain gejala spesifik pada daerah kelamin, faktor usia merupakan salah satu faktor yang juga mempengaruhi penularan sifilis. Rata-rata ibu hamil yang positif sifilis memiliki usia yang masih muda yaitu 19-35 tahun sehingga penularan sifilis dapat terjadi dengan mudah, hasil ini menunjukkan bahwa ibu hamil yang berada di sekitar wilayah Puskesmas Pattingalloang mempunyai resiko penularan yang besar. Sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Kitong, *et al.*, (2022) yaitu dari 30 responden terdapat 4 repsonden yang positif dengan rentang umur <18-30 tahun. Kemudian berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Niniek, dkk. (2010), yaitu sebanyak 38,8% yang terinfeksi sifilis adalah kelompok ibu hamil yang memiliki usia 18-21 tahun. Menurut Fitrianingsih, dkk., (2022) usia 20-29 tahun atau yang dikategorikan sebagai usia muda merupakan usia yang rentan terkena infeksi penyakit menular seksual, dimana hal ini terjadi karena pada usia tersebut aktivitas seksual yang tinggi sehingga penularan penyakit menular seksual dapat terjadi.

Pekerjaan juga merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi banyak hasil positif. Rata-rata yang terinfeksi sifilis adalah ibu hamil dengan pekerjaan harian sebagai ibu rumah tangga. Hal ini juga didukung oleh data yang dikeluarkan oleh Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2023) yaitu penyakit sifilis atau raja singa penularannya didominasi ibu rumah tangga dan telah mengalami peningkatan dalam 5 tahun terakhir (2016-2022). Dari 12 ribu kasus menjadi hampir 21 ribu kasus dengan rata-rata penambahan kasus setiap tahunnya mencapai 17.000 hingga 20.000 kasus. Namun dari lima juta kehamilan hanya sebanyak 25% ibu hamil yang diskринing sifilis setiap tahunnya. Selain itu faktor yang mempengaruhi banyaknya hasil yang positif karena kurangnya pengetahuan mengenai penyakit menular seksual pada ibu hamil. Hasil observasi pada ibu hamil yang menjadi responden, mereka rata-rata tidak mengenal penyakit sifilis karena kurangnya sosialisasi dan penyuluhan mengenai kesehatan terutama mengenai penyakit menular seksual, dan juga diperlukan jarang dilakukan pemeriksaan dini untuk meminimalisir penularan penyakit seksual.

Adapun sampel yang diperiksa menggunakan PCR sebelumnya telah diperiksa menggunakan metode imunokromatografi (metode strip). Dari ke 15 sampel tersebut, pada metode imunokromatografi semua hasilnya adalah negatif. Pada metode PCR dari 15 sampel didapatkan 12 sampel di antaranya positif terdeteksi positif pada gen target *PolA* dan 3 sampel di antaranya negatif. Perbedaan hasil antara kedua metode dapat disebabkan adanya negatif palsu pada metode imunokromatografi ataupun metode tersebut belum bisa mendeteksi adanya bakteri *Treponema pallidum* dalam jumlah yang sedikit. Hal ini sejalan dengan penelitian Pinilla *et al.*, (2018) yaitu teknik serologis tidak memiliki spesifisitas yang cukup untuk mendeteksi adanya penyakit yang terjadi pada neonatus serta sensitivitasnya juga yang rendah, sehingga dapat timbulnya positif palsu atau negatif palsu. Sedangkan pada metode PCR dapat mendeteksi adanya bakteri dalam jumlah yang sedikit. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Wang *et al.*, (2021) menyatakan bahwa PCR rutin memiliki spesifisitas 93,1%-100% dan memiliki 84,6% hingga 89,1%.

Keberhasilan PCR tergantung pada faktor DNA templat, primer, konsentrasi ion reaksi campuran, mix dan pilihan enzim polimerase dan suhu annealing. Penentuan suhu pada tahap annealing harus tepat. Jika suhu terlalu tinggi penempelan primer menjadi sangat lemah, sehingga bisa mengakibatkan produk yang dihasilkan sangat sedikit. Sebaliknya jika

suhu terlalu rendah, bisa mengakibatkan terjadinya penempelan yang tidak spesifik, sehingga menghasilkan frangmen yang tidak diinginkan.

Tingginya tingkat infeksi sifilis pada ibu hamil dapat berefek kepada janin yang ada dalam kandungannya. Adapun efek yang dapat ditimbulkan pada janin menurut Batan & Puspawati (2019) ialah Sifilis yang menginfeksi ibu hamil dapat mengakibatkan bayi lahir mati dan abortus spontan (40%), kematian perinatal (20%), dan Sifilis kongenital serta bayi dengan berat badan lahir rendah (BBLR) (20%).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa dari 15 sampel darah ibu hamil yang dideteksi didapatkan 12 sampel positif (80%) terdeteksi *Treponema pallidum* dan 3 sampel negatif (20%) atau tidak terdeteksi *Treponema pallidum*. Hasil ini menunjukkan bahwa metode PCR dapat digunakan untuk pemeriksaan pendukung dalam diagnosis sifilis pada ibu hamil.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kepada segenap petugas di Puskesmas Patingalloang yang telah membantu proses penelitian ini dari awal observasi hingga pengumpulan sampel, dan kepada para pendamping peneliti di Laboratorium Biologi Molekuler HUM-RC Makassar atas bantuannya selama membimbing dan mengarahkan proses penelitian.

Daftar Pustaka

- Aliviameita, A., & Puspitasari. (2020). *Buku ajar mata kuliah imunohematologi*. Sidoarjo: UMSIDA Press. <https://doi.org/10.21070/2020/978-623-6833-44-5>
- Batan, N. W., & Puspawati, D. (2019). Kondiloma Lata Sebagai Manifestasi Klinis Sifilis Sekunder Pada Kehamilan Trimester Kedua. *Medicina*, 50(2), 249-254. <https://doi.org/10.15562/medicina.v50i2.393>
- Baguna, T., Niode, N. J., & Pandaleke, H. E. (2021). Efektivitas Pemeriksaan Serologis Sifilis. *E-Clinic*, 9(1), 134-142.
- Betan, A., & Pannyiwi, R. (2020). Analisis Angka Kejadian Penyakit Infeksi Menular Seksual. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 12(2), 824-830. <https://doi.org/10.35816/jiskh.v12i2.416>.
- Dewi, K. I. P., & Silayukti, A. A. A. A. K. (2020). Gambaran prevalensi penderita sifilis laten, sekunder, dan primer pada pasien Infeksi Menular Seksual (IMS) di Poliklinik Kulit dan Kelamin RSUD Mangusada, Badung, Bali periode 2017 - 2018. *Intisari Sains Medis*, 11(2), 457. <https://doi.org/10.15562/ism.v11i2.586>
- Evi Afriani Mongan, H. S. (2019). *Pemeriksaan Infeksi Menular Seksual (IMS) Pada Ibu Hamil Di Puskesmas Kotaraja Kota Jayapura Papua*. 4(2), 59-63.
- Fitrianingsih., Suparyati, T., Lestari, E.A. (2022). Gambaran Hasil Pemeriksaan Sifilis Pada Ibu Hamil Di Puskesmas Tirta II Kabupaten Pekalongan. *Jurnal Medika Husada* 2(1): 1-6.
- Kemenkes RI (2023) Kasus HIV dan Sifilis Meningkat, Penularan Didominasi Ibu Rumah Tangga.

- Kitong, A., Makalew, L. A., dan Sumampouw, J. E. (2022). Gambaran Hasil Pemeriksaan Sifilis pada Ibu Hamil Dengan Metode Immunochromatography Di Puskesmas Pitu Kabupaten Halmahera Utara. *Indonesian Journal Of Medical Laboratory Techonology* 1(1): 27–30.
- Kusumawaty, M., Djawad, K., Massi, M.N., Adam, A.M., Wahab, S., dan Bahar, B. (2019). Sero-epidemiology and risk factors of syphilis in Makassar, Indonesia. *Serbian Journal of Dermatology and Venereology* 11(2): 43–49. <https://doi.org/10.2478/sjdv-2019-0006>
- Kuswiyanto. (2017). *Bakteriologi 3 Buku Ajar Analis Kesehatan* (E. A. Mardella (ed.)). EGC.
- Liu, H., Rodes, B., Chen, Y. C., and Steiner, B. (2001). *New Tests for Syphilis: Rational Design of a PCR Method for Detection of Treponema pallidum in Clinical Specimens Using Unique Regions of the DNA Polymerase I Gene*. 39(5).
- Marra, C. M., Maxwell, C. L., Sahi, S. K., Tantalo, L. C., Dunaway, S. B., & Lukehart, S. A. (2022). Previous Syphilis Alters the Course of Subsequent Episodes of Syphilis. *Clinical Infectious Diseases*, 74(4), E1–E5. <https://doi.org/10.1093/cid/ciab287>.
- Marwayana, O. N. (2015). Ekstraksi Asam Deoksiribonukleat (DNA) dari Sampel Jaringan Otot. *Oseana*, 15(2), 1–9.
- Niniek L. (2010). Analisis hubungan Perilaku Seks Tidak Aman dan Kesehatan Reproduksi pada Remaja Buletin Penelitian Sistim Kesehatan Oktober 2010, Yogyakarta.
- Pinilla, G., Campos, L., Durán, A., Navarrete, J., & Muñoz, L. (2018). Detección de *Treponema pallidum* subespecie *pallidum* para el diagnóstico de sífilis congénita mediante reacción en cadena de la polimerasa anidada. *Biomedica*, 38(1), 128–135. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3740>
- Prastyawati, R., Romadhonni, T., & Pradasari, T. (2021). Skrining Penyakit Menular Pada Ibu Hamil Di Rumah Sakit Umum Daerah Kwaingga Kabupaten Keerom. *Jurnal Analis Medika Biosains (JAMBS)*, 8(1), 60. <https://doi.org/10.32807/jambs.v8i1.205>.
- Shields, M., Guy, R. J., Jeoffreys, N. J., Finlayson, R. J., & Donovan, B. (2012). A longitudinal evaluation of *Treponema pallidum* PCR testing in early syphilis. *BMC Infectious Diseases*, 12, 353. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-12-353>
- Tsang, R.S., Shuel, M., Hoang, W., Hayden, K., Hink, R., Bullard, J., Caeselee, P. V., dan Alexander, D.C. (2022). Characteristics of polymerase chain reaction–positive syphilis cases in Manitoba, Canada, 2017 to 2020: Demographic analysis, specimen types, and *Treponema pallidum* gene targets. *Official Journal of the Association of Medical Microbiology and Infectious Disease Canada* 7(3): 170–180. <https://doi.org/10.3138/jammi-2022-0015>.
- Obi, S. N., Ozumba, B. C., & Nwokolo, N. C. (2015). Patterns of sexually transmitted infections among patients attending a sexually transmitted infection clinic in South-Eastern Nigeria. *African Journal of Reproductive Health*, 19(3), 79–85.
- Wang, C., Hu, Z., Zheng, X., Ye, M., Liao, C., Shang, M., Gong, W., Guan, Z., Lu, H., Gu, X., Shi, M., dan Zhou, P. (2021). A New Specimen for Syphilis Diagnosis: Evidence by High Loads of *Treponema pallidum* DNA in Saliva. *Clinical Infectious Diseases* 73(9): E3250–E3258. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1613>.
- Wijayati, R. P. W., & Ayuningtyas, D. (2021). Identifikasi waste tahap pra analitik dengan pendekatan lean hospital di Laboratorium Patologi Klinik RS XYZ Depok Jawa Barat Tahun 2021. *Jurnal Manajemen Kesehatan Indonesia*, 9(2), 101–112. <https://doi.org/10.14710/jmki.9.2.2021.101-112>

-
- World Health Organization. (2019). *WHO publishes new estimates on congenital syphilis*. World Health Organization. <https://www.who.int/news/item/26-02-2019-who-publishes-new-estimates-on-congenital-syphilis>
- Yulyanti, D., Novilla, A., dan Khairinisa, G. (2019). Gambaran Infeksi Sifilis pada Komunitas Bisexual Menggunakan Metode Treponema Pallidum Haemagglutination Assay (TPHA). *Proceeding Publication of Creativity and Research Medical Laboratory Technology* 1(1):1-4.
-

CC BY-SA 4.0 (Attribution-ShareAlike 4.0 International).

This license allows users to share and adapt an article, even commercially, as long as appropriate credit is given and the distribution of derivative works is under the same license as the original. That is, this license lets others copy, distribute, modify and reproduce the Article, provided the original source and Authors are credited under the same license as the original.

