

## KEAMANAN PRODUK DARAH: “DETEKSI IMLTD MENGGUNAKAN METODE CHEMILUMINESCENCE ASSAY (CLIA)”

### *BLOOD PRODUCT SAFETY: CHEMILUMINESCENCE ASSAY (CLIA) METHODS FOR TRANSFUSION-RELATED INFECTIOUS DISEASE DETECTION*

Widaninggar Rahma Putri<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Magister Ilmu Kedokteran Dasar, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga  
email korespondensi: widaninggarrahma.p@gmail.com

#### ABSTRAK

**Latar Belakang:** Pelayanan tranfusi darah merupakan upaya pelayanan kesehatan yang memanfaatkan darah manusia sebagai bahan dasar dengan tujuan kemanusiaan. Darah dan produk darah memegang peranan penting dalam pelayanan Kesehatan. Tindakan tranfusi merupakan salah satu tindakan medis yang mengandung resiko karena kemungkinan adanya resiko infeksi melalui tranfusi darah. Setiap kantong darah yang disumbangkan harus diuji saring terhadap IMLTD (Infeksi Menular Lewat Tranfusi Darah) paling sedikit meliputi uji Hepatitis B *surface antigen* (HBsAg), HIV 1/ HIV 2 Antibody, Hepatitis C *antibody* (anti-HCV), dan sifilis. Deteksi IMLTD dapat dilakukan terhadap antibodi atau antigen dengan berbagai macam metode seperti *Chemiluminescence Immuno Assay* (CLIA). **Metode:** literature review **Hasil:** CLIA telah dikembangkan dalam banyak bidang termasuk pada diagnosis klinis berbagai macam penyakit karena selektif, sensitive, cepat dan waktu analisisnya cukup singkat. Metode *immunoassay* konvensional membutuhkan waktu inkubasi yang lebih panjang sehingga menyebabkan proses pemeriksaan akan lebih panjang. Selain itu, rentang deteksi dari metode konvensional cukup pendek. **Kesimpulan:** Metode CLIA bisa digunakan untuk mengurangi waktu pemeriksaan sekaligus menaikkan sensitivitas dan spesifisitas pada uji saring IMLTD . **Kata kunci :** Tranfusi darah, *Chemiluminescence Immuno Assay* (CLIA), HBsAg, HCV, HIV, Sifilis

#### ABSTRACT

**Background:** Blood transfusion services are attempted to utilize human blood as a basic element for humanitarian purposes. Both blood and blood products are playing a crucial role in health services. Blood transfusion is a medical procedure that contains risks due to the possible risk of Blood-transfusion related infectious disease. Each blood product is requisite to be screened for blood-transfusion related infectious disease at least in 4 parameter such as Hepatitis B Surface Antigen (HBsAg), HIV 1/ HIV 2 Antibody, Hepatitis C antibody (anti-HCV) and Syphilis. Blood-transfusion related Infectious disease can be detected through antibody or antigen detection by various methods such as *Chemiluminescence Immuno Assay* (CLIA). **Methods:** This paper is a literature review, **Results:** CLIA has been developed in various field including clinical diagnosis of various disease due to its selective, sensitive, speedy and short time analysis time consuming. Conventional immunoassay methods requires longer incubation time, longer turnaround time and shorter detection range. **Conclusion:** CLIA can be used to reduce examination time while increasing its sensitivity and spesificity. **Keywords :** Blood transfusion, *Chemiluminescence Immuno Assay* (CLIA), HBsAg, HCV, HIV, Syphilis

## PENDAHULUAN

Pelayanan tranfusi darah merupakan upaya pelayanan kesehatan yang memanfaatkan darah manusia sebagai bahan dasar dengan tujuan kemanusiaan dan tidak untuk tujuan komersil. Darah dan produk darah memegang peranan penting dalam pelayanan kesehatan. Pengamanan pelayanan tranfusi darah harus dilaksanakan pada tiap tahap kegiatan mulai dari pengerahan dan pelestarian pendonor darah, pengambilan dan pelabelan darah pendonor, pencegahan penularan penyakit, pengolahan darah, penyimpanan darah, pendistribusian serta tindakan medis pemberian darah kepada pasien (Kemenkes RI, 2015)

Tindakan tranfusi merupakan salah satu tindakan medis yang mengandung resiko karena kemungkinan adanya resiko infeksi melalui tranfusi darah seperti HIV, Hepatitis C, Hepatitis B, HTLV, Sifilis, *Dengue*, *West Nile Virus*, dan lain sebagainya. Setiap kantong darah yang disumbangkan harus diuji saring terhadap IMLTD (Infeksi Menular Lewat Tranfusi Darah) yaitu paling sedikit meliputi uji Hepatitis B *surface antigen* (HBsAg), HIV 1/ HIV 2 Antibody, Hepatitis C antibody (anti-HCV), dan sifilis. Deteksi IMLTD dapat dilakukan terhadap antibodi atau antigen dengan berbagai macam metode seperti rapid test, *Enzyme Immuno Assay* (EIA), *Chemiluminescence Immuno Assay* (CLIA) dan terhadap materi genetik Virus seperti *Nucleic Acid Amplification Test* (NAT).

Persyaratan sesuai dengan Permenkes RI No 91 tahun 2015, persyaratan sensitivitas dan spesifisitas untuk anti-HIV 1/ 2 menggunakan metode EIA atau CLIA adalah  $\geq 99\%$  dengan spesifisitas  $>99,8\%$ . Untuk pemeriksaan anti HCV dan HBsAg dengan metode CLIA atau EIA harus memenuhi syarat sensitivitas sebesar  $\geq 99,5\%$  dan spesifisitas  $>99,8\%$ . Sedangkan untuk pemeriksaan *Treponema pallidum* dengan CLIA maupun EIA harus mempunyai sensitivitas  $\geq 99,5\%$  dan spesifisitas  $99,8\%$ . Hasil semua pemeriksaan

harus non reaktif and setiap sampel yang reaktif harus diperiksa ulang *induplicate* oleh *assay* yang sama.

*Chemiluminescent immunoassay* (CLIA) telah dikembangkan dalam banyak bidang termasuk pada diagnosis klinis berbagai macam penyakit karena selektif, sensitive, cepat dan waktu analisisnya cukup singkat. CLIA sendiri dapat didefinisikan sebagai emisi dari berbagai jenis sudut dan intensitas cahaya yang berbeda yang berpendar dalam spektrum visible membentuk transformasi kimia. Metode ini mengukur konsentrasi dari sampel sesuai dengan luminesens yang terbentuk oleh reaksi kimia. Secara umum, reaksi *chemiluminescence* akan mengeluarkan salah satu produk reaksi yaitu memunculkan cahaya yang akan tertangkap pada *ground state* (Azim et al., 2018).

Metode immunoassay konvensional selalu membutuhkan waktu inkubasi yang lebih panjang sehingga menyebabkan proses pemeriksaan akan lebih panjang. Selain itu, range deteksi dari metode yang lama cukup pendek. Sehingga, dikembangkan metode baru untuk mengurangi waktu pemeriksaan sekaligus menaikkan sensitivitas dan spesifisitas. Terkadang dengan metode ELISA pemeriksaan menjadi cukup sulit karena konsentrasi analit pada sampel yang rendah. Pada darah yang harus aman dan bebas IMLTD, maka diperlukan metode pemeriksaan yang baik. Dalam artikel ini akan membahas tentang penggunaan metode CLIA pada pemeriksaan uji saring darah terhadap infeksi menular lewat tranfusi darah untuk menjaga keamanan produk darah yang akan ditranfusikan.

## BAHAN DAN METODE

Pada artikel ini menggunakan metode literature review dimana penulis menggunakan sumber rujukan yaitu paper dan jurnal terkait.

## HASIL

Tindakan tranfusi merupakan salah satu tindakan medis yang mengandung resiko karena kemungkinan adanya resiko infeksi melalui tranfusi darah seperti HIV, Hepatitis C, Hepatitis B, HTLV, Sifilis, Dengue, *West Nile Virus*, dan lain sebagainya (Kemenkes RI, 2015). Untuk menyediakan darah yang aman, pendonor harus jujur dalam memberikan riwayat kesehatannya dan selanjutnya upaya pencegahan penularan infeksi dilakukan melalui uji saring di unit tranfusi darah. Risiko seseorang tertular *Human Immunodeficiency Virus* (HIV) melalui darah yang terinfeksi mencapai 100 % dan sekitar 5% dari penderita HIV didapatkan dari tindakan tranfusi darah. Pada insidensi hepatitis setelah tranfusi darah muncul sekitar 7-10 % yang 90% diantara penderita hepatitis pasca tranfusi disebabkan oleh virus hepatitis C. (Erawati & Syukriadi, 2019).

Uji saring IMLTD merupakan bagian dari upaya pengamanan darah yang harus dilakukan untuk setiap tahap pelayanan untuk mencegah timbulnya berbagai resiko penularan penyakit baik bagi penerima pelayanan darah maupun tenaga Kesehatan dan lingkungan sekitarnya. Metode uji saring IMLTD yang telah dikembangkan secara nasional adalah metode rapid test, metode *Enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA) atau *Enzyme immuno Assay* (EIA), metode *Chemiluminescence Immuno Assay* (CLIA) dan metode *Nucleic Acid Amplification Testing* (NAT) (PPSDM Kemenkes RI, 2019).

Hasil uji saring HBsAg pada penelitian yang dilakukan oleh (Ventiani et al., 2012) menunjukkan bahwa dari 26.975 darah donor didapatkan presentase darah dengan hasil HbsAg reaktif sebesar 3,61%. Sedangkan sesuai dengan penelitian (Erawati & Syukriadi, 2019) yang dilakukan di tempat lain dari 2.151 kantong darah didapatkan HbSAg reaktif sebanyak 1,8 %. Hal ini menggambarkan bahwa masih banyak donor yang terinfeksi HbSAg dan perlu dilakukan screening pada darahnya dengan seksama. Pada seroprevalensi Hepatitis C pada darah

pendonor di UTD PMI Semarang Jawa Tengah pada tahun 2019 didapatkan presentase darah reaktif HbC sebanyak 0,2 % yaitu 183 kantong dari 83.074 kantong (Adhyatma et al., 2020).

Untuk insidensi HIV positif pada darah donor, hasil penelitian (Komalasari, 2013) menunjukkan bahwa dari 36.486 pendonor didapatkan prevalensi infeksi HIV sebesar 0,27%. Sedangkan dari penelitian yang sama, infeksi sifilis pada pendonor sebesar 0,77 %. Pada tahun 2017 penelitian di UTD RSUD Rokan Hulu menunjukkan bahwa dari 2639 pendonor, didapatkan hasil 0,2 % darah donor terinfeksi virus HIV dan 1,7 % darah positif sifilis (Erawati & Syukriadi, 2019).

Persyaratan sesuai dengan Permenkes RI No 91 tahun 2015, persyaratan sensitivitas dan spesifisitas untuk anti-HIV 1/2 menggunakan metode EIA atau CLIA adalah  $\geq 99\%$  dengan spesifisitas  $>99,8\%$ . Untuk pemeriksaan anti HCV dan HBsAg dengan metode CLIA atau EIA harus memenuhi syarat sensitivitas sebesar  $\geq 99,5\%$  dan spesifisitas  $>99,8\%$ . Sedangkan untuk pemeriksaan *Treponema pallidum* dengan CLIA maupun EIA harus mempunyai sensitivitas  $\geq 99,5\%$  dan spesifisitas 99,8%. Hasil semua pemeriksaan harus non reaktif and setiap sampel yang reaktif harus diperiksa ulang induplicate oleh assay yang sama (Kemenkes RI, 2015).

Masih tingginya angka insidensi IMLTD pada kantong darah donor menunjukkan bahwa screening sangat diperlukan dan harus dilakukan secara baik dan benar untuk mengeliminasi terjadinya IMLTD pada pasien resipien. Metode pemeriksaan yang dipilih harus memiliki sensitivitas dan spesivisitas yang tinggi untuk menghindari hasil negatif palsu pada sampel dengan konsentrasi analit yang rendah.

### **Chemiluminescence Immunoassay (CLIA)**

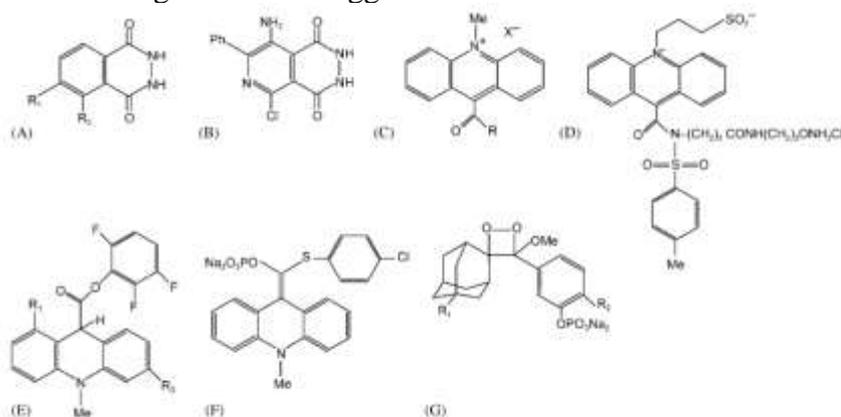
*Chemiluminescent* merupakan salah satu metode yang dipergunakan pada berbagai pemeriksaan kimia analisis rutin

dan juga diaplikasikan pada penelitian klinis lainnya (Kricka, 2003). CLIA merupakan metode atau teknik immunoassay yang menggunakan label atau indikator reaksi berupa molekul luminescent untuk memperkirakan atau menentukan konsentrasi analit pada sampel yang memiliki konsentrasi rendah pada sampel. Disebut chemiluminescent karena melibatkan reaksi kimia pada immunoassay. Metode ini mengukur konsentrasi dari sampel sesuai dengan luminesens yang terbentuk oleh reaksi kimia. Secara umum, reaksi *chemiluminescence* akan mengeluarkan salah satu produk reaksi yaitu memunculkan cahaya yang akan tertangkap pada *ground state* (Azim et al., 2018).

Metode pemeriksaan dengan CLIA ini dipergunakan pada berbagai pemeriksaan kimia klinik, imunologi, toksikologi, virologi, endokrinologi, diagnosis dan monitoring penyalahgunaan narkoba, pemeriksaan screening tumor marker, dan pemeriksaan penyakit infeksius seperti hepatitis dan HIV (Kricka, 2003). CLIA memiliki berbagai keuntungan dibandingkan metode sebelumnya yaitu sensitivitas dan spesifisitasnya yang tinggi, rentang deteksi yang tinggi, tidak terpengaruh oleh gangguan cahaya yang berpencah-pancar, tidak menggunakan zat radioaktif dan peralatannya lebih ringkas. Beberapa tahun belakangan, penelitian dengan menggunakan

*chemiluminescence* meningkat dengan tajam dengan berbagai macam perkembangan material dan teknologi (Xiao & Xu, 2020).

Secara umum, reaksi pada chemiluminescent dapat dibagi menjadi dua mekanisme. Pada jenis reaksi langsung, dua reagen yaitu substrat dan oksidan dengan adanya kofaktor akan bereaksi menjadi produk atau produk intermediat, terkadang dengan tambahan katalis. Kemudian beberapa bagian produk akan terbentuk pada keadaan yang bersifat elektronik (bermuatan listrik) yang akan diam pada *ground state* dengan mengeluarkan emisi berbentuk foton (Azim et al., 2018). Substrat yang digunakan pada chemiluminescence yaitu prekursor akan diubah menjadi molekul yang bersifat elektronik yang berfungsi pada emisi cahaya sekaligus sebagai donor energi pada *chemiluminescence* tidak langsung. Substrat yang populer digunakan pada CLIA adalah luminol, isoluminol serta derivatnya, *acridinium ester derivate*, peroksidase dan *alkaline phosphatase* (Wang et al., 2012). CLIA tidak langsung berdasar pada proses transfer energi dari foton ke *fluorophore*. Proses ini memungkinkan molekul yang tidak bisa dideteksi pada CLIA langsung dapat memindahkan energi yang tersisa menjadi fluorophore yang memungkinkan terlepasnya energi pada *ground state* dengan emisi foton (M. Sauer, J. Hofkens, 2011).



Gambar 1. Reagen chemiluminescence dan labelnya : (A) luminol ( $R_1 = H$ ,  $R_2 = NH_2$ ), Isoluminol ( $R_1 = NH_2$ ,  $R_2 = H$ ); (B) 8-amino-5-chloro-7-phenylpyrido[3,4-d]pyridazine-1,4(2H,3H)dione; (C) acridinium ester; (D) acridinium sulfonamide ester; € carbox-amide acridan-based substrates for peroxidase (PS-1.  $R_1 = H$ ,  $R_2 = OMe$ ; PS-2,  $R_1 =$

OMe, R<sub>2</sub> = OMe; PS-3, R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = H); (F) acridan-based substrate for alkaline phosphatase; (G) adamantly 1,2-dioxetans (AMPPD, R<sub>1</sub> = H; CSPD, R<sub>1</sub> = Cl, R<sub>2</sub> = H; CDP-Star R<sub>1</sub> = Cl, R<sub>2</sub> = Cl) (Azim et al., 2018)

CLIA memiliki banyak kelebihan dibandingkan dengan metode immunoassay lainnya. Dibandingkan dengan metode ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), CLIA lebih sensitive dan cepat dalam proses pemeriksaannya. CLIA memegang peranan penting pada perkembangan deteksi substansi aktif berukuran ultra micro pada diagnosis klinis dan prognosis. Sensitivitas CLIA yang lebih tinggi memungkinkan untuk diagnose penyakit pada fase awal. Jangkauan linearitas CLIA masih bagus sampai 4-6 kali pengenceran sedangkan ELISA hanya sampai 2 kali pengenceran. Dengan 3-4 kali pengenceran serial dan rentang kurva standar yang jauh, deteksi tertinggi CLIA dapat mencapai 10000 kali daripada ambang batas terendah deteksi. Sedangkan ELISA maksimal hanya 128 kali lebih tinggi dari batas deteksi terendahnya. Kebutuhan sampel untuk CLIA hanya membutuhkan 50 µl sedangkan minimal sampel untuk ELISA sandwich yang banyak beredar adalah 100 µl (Azim et al., 2018).

Uji saring darah terhadap IMLTD dahulu dilakukan dengan metode rapid test dengan metode immunokromatografi. Akan tetapi sensitivitas dan spesifitasnya tidak cukup baik untuk mengeliminasi kejadian darah yang terkontaminasi IMLTD. Oleh sebab itu, diperlukan metode lain yang lebih sensitif dan spesifik untuk mengeliminasi adanya IMLTD terutama pada darah donor yang memiliki konsentrasi virus yang rendah. CLIA merupakan metode yang menjanjikan untuk digunakan sebagai metode pemeriksaan salah satunya karena batas deteksi (*Limit of Detection*) yang rendah.

#### **Pemeriksaan HBsAg Dengan Metode CLIA**

Dibandingkan dengan IMLTD lainnya (HIV, Hepatitis C, dan Sifilis), hepatitis B merupakan salah satu penyakit

yang paling infeksius. Hepatitis B di Indonesia menjadi suatu hal yang haru diperhatikan karena Indonesia merupakan salah satu negara berkembang yang memiliki prevalensi Hepatitis B tertinggi kedua setelah Myanmar. Hasil pemeriksaan HBsAg pada kelompok donor di Indonesia didapatkan prevalensi Hepatitis B sebanyak 2,50-3,61%. Hal ini menunjukkan bahwa pendonor di Indonesia perlu melakukan screening terhadap virus Hepatitis B walaupun Sebagian besar tidak menunjukkan tanda dan gejala. Sedangkan penelitian lain pada tahun 2018 di Kota Depok dari 25.385 pendonor, didapatkan hasil reaktif HBsAg sebanyak 0,29% (Hippy, N S I, Ukma, 2021).

Hasil penelitian di Kastruba Medical College, India selama Mei-Juni 2016 dengan membandingkan pemeriksaan HBsAg dengan metode CLIA dan ELISA, didapatkan hasil bahwa CLIA lebih stabil dibandingkan dengan ELISA dalam deteksi antibodi maupun anigen virus hepatitis B (Madiyal et al., 2016). Hasil penelitian tersebut sama dengan penelitian Hippy, et al (2021) di UDD PMI Kota Depok menunjukkan bahwa kasus reaktif dengan metode CLIA lebih banyak dibandingkan metode ELISA pada darah donor.

Pemeriksaan terhadap Hepatitis B *Surface Antigen* (HBsAg) merupakan pemeriksaan imunologi yang penting dalam deteksi infeksi hepatitis B. Pemeriksaan titer terhadap HBsAg juga merupakan pemeriksaan penting dalam menentukan prognosis pasien. Pemeriksaan dengan metode CLIA berbeda dengan metode lainnya seperti ELISA. Pada CLIA, HBsAg rekombinan dilekatkan pada *paramagnetic* mikro yang akan mengikat Anti-HBsAg pada serum. Kemudian pemberian acridinium berlabel rHBsAg dilekatkan pada partikel sebagai konjugat. Konsentrasi antibodi diukur dengan emisi cahaya pada reaksi antigen-antibodi menggunakan *Relative Light Unit* (RLU). Secara umum CLIA

dilaporkan memiliki batas deteksi titer yang lebih rendah daripada ELISA (Madiyal et al., 2016).

Penelitian yang dilakukan oleh (Fei et al., 2011) dari 70 spesimen dengan kadar HBsAg yang rendah metode CLIA dan ECLIA memiliki tingkat deteksi yang lebih bagus daripada ELISA. Dimana ELISA tidak bisa mendapatkan deteksi pada HBsAg dengan titer dibawah 5 ng/ml. CLIA yang telah dimodifikasi dan dikembangkan dengan *Electrochemilumence* pada pemeriksaan HBsAg membutuhkan konsumsi sampel dan reagen serta turn around time yang lebih sedikit daripada ELISA (Chen et al., 2018). Pada penelitian lain, dari total sampel yang dikerjakan yaitu 100.252 sampel, ada 17 sampel yang tidak terdeteksi reaktif HBsAg oleh dua macam ELISA kit tetapi dapat terdeteksi pada metode CLIA (Ye et al., 2021).

Beberapa studi komparatif menunjukkan bahwa sensitifitas CLIA adalah lebih dari 96% dibandingkan dengan PCR. Tingkat sensitifitasnya bisa lebih tinggi dengan berbagai modifikasi oleh beberapa peneliti. Menggunakan kombinasi monoklonal antibodi dari setiap epitope spesifik HBsAg menghasilkan 230 kali lebih sensitif dibandingkan dengan metode CLIA biasa. Dengan menggunakan *amplified luminescent proximity homogeneous assay* (AlphaLISA) for HBsAg, *limit of detection* bisa dibawah 0.01 IU/ml dan koefisien korelasi 0,921 (Ghosh et al., 2015). Pada penelitian (Madiyal et al., 2016) koefisien kappa antara metode ELISA dengan CLIA menunjukkan hasil 0,84 yaitu kesesuaian yang tinggi. Akan tetapi, menilik pada titer deteksi CLIA dilaporkan memiliki batas deteksi yang lebih rendah dan pengerjaan lebih mudah karena dikerjakan secara otomatis.

#### **Pemeriksaan HCV dengan Metode CLIA**

Virus hepatitis C diperkirakan menginfeksi sebanyak 71 juta orang di dunia. Prevalensi Hepatitis C sebesar 0,6%-1,0 % walaupun penyakit ini jarang memberikan dampak yang fatal saat infeksi akut, tetapi mematikan pada fase kronik. Virus hepatitis

C merupakan virus yang menyerang hati, dan umumnya tidak bergejala. Walaupun begitu, dapat menyebabkan fibrosis, sirosis yang akhirnya dapat memicu komplikasi penyakit hati lainnya. Selain itu apabila tidak diobati dapat beresiko menjadi kanker hati (PPSDM Kemenkes RI, 2019). Wilayah asia pasifik memiliki prevalensi infeksi hepatitis tertinggi di dunia. Pada data riset Kesehatan dasar RI dan skrining tahunan oleh PMI didapatkan prevalensi anti-HCV sebesar 1,0% dari 40.233 sampel. Pada tahun 2012, Hepatitis C memiliki prevalensi sebesar 0,3 % dari jumlah donor yang ada di PMI dengan perbandingan 1 :100.000 individu memiliki kemungkinan transmisi virus hepatitis C (Adhyatma et al., 2020).

Penelitian (Adhyatma et al., 2020) pada tahun 2019 didapatkan data dari PMI Semarang Jawa Tengah sebanyak 183 kantong reaktif HCV dengan prevalensi sebesar 0,2 %. Dari data tersebut, karakteristik laki laki lebih banyak daripada perempuan. Penelitian lain yang dilakukan di UDD PMI Kabupaten Bantul didapatkan prevalensi hepatitis C sebesar 0,15 % dengan tren yang meningkat dari tahun 2019 ke 2020. Di Indonesia sendiri, diperkirakan sekitar 9,8 ribu dari 2,5 juta darah donor reaktif HCV. Hal ini menunjukkan masih banyak penderita hepatitis C di Indonesia. (Martias et al., 2022).

Penggunaan metode CLIA pada deteksi anti-HCV menunjukkan hasil yang lebih spesifik dibandingkan metode ELISA. Pada penelitian dengan menggunakan alat ELISA dan CLIA dari pabrikan yang sama, serta antigen yang digunakan adalah identik antara keduanya didapatkan spesifitas yang lebih tinggi walaupun sensitifitasnya sama. Sampel dengan *signal to cut off ratio* (S/C) yang lebih rendah terdeteksi sebagai positif palsu oleh ELISA. CLIA hanya membutuhkan analisis tunggal untuk menentukan hasil positif atau negatifnya dan meningkatkan angka prediksi positif pada sampel (Dufour et al., 2003).

Penelitian evaluasi perfoma klinis terhadap empat jenis alat chemiluminescence

immunoassay otomatis pada parameter deteksi antibodi virus Hepatitis C menunjukkan hasil sensitifitas sebesar 100 % dengan *coefficient variance* sebesar 3,5 – 5,7 %. Metode ini dibandingkan dengan pemeriksaan HCV RNA. Sesuai dengan European Union standard, pemeriksaan anti-HCV diharuskan memiliki sensitifitas sebesar 100 % dan spesifisitas lebih dari 99,5%. Pada penelitian ini, keempat jenis alat CLIA memenuhi syarat tersebut. Untuk pemeriksaan laboratorium pada darah donor, sebaiknya menggunakan metode dengan sensitivitas tinggi serta *signal to cut-off ratio* yang rendah (Kim et al., 2008).

Walaupun pemeriksaan anti-HCV generasi ketiga telah banyak tersedia dan memiliki spesifisitas dan sensitivitas yang lebih baik dibandingkan dengan pendahulunya, akan tetapi masih terdapat prevalensi positif palsu yang tinggi, terutama pada kelompok resiko tinggi, pasien dengan *immunocompromised* atau populasi yang tidak memiliki riwayat penyakit hati (Dufour et al., 2003).

### **Pemeriksaan HIV dengan Metode CLIA**

Kasus HIV/ AIDS merupakan fenomena gunung es, artinya kasus yang dilaporkan hanya Sebagian kecil dari yang benar terjadi di masyarakat (Achsan, 2014). HIV dapat menular salah satunya dengan tranfusi darah maupun produk darah lainnya. Dengan masa jendela (*window period*) yang cukup lama pada tubuh penderitanya serta tidak adanya gejala khas dari orang yang baru terjangkit virus ini menyebabkan tidak dapat terdeteksinya penyakit ini. Hasil penelitian IMLTD pada darah donor di UDD PMI Kota Semarang selama periode 2008-2012 terhadap 259.763 kantong didapatkan hasil HIV reaktif pada tahun 2008 sebanyak 117, tahun 2009 sebanyak 128 kemudian pada 2010-2012 berturut-turut adalah 102, 78, dan 107 (Aminah, 2015).

Di negara berkembang, pemeriksaan HIV dengan metode *Rapid Diagnostic Test* masih banyak digunakan sebagai pemeriksaan lini pertama. Akan tetapi, batas

deteksi menggunakan metode ini masih terbatas. Sehingga diperlukan pengembangan metode pemeriksaan lainnya seperti ELISA (*enzyme linked immunosorbent assay*). Salah satu metode terbaru yang disarankan oleh FDA adalah menggunakan CLIA (*Chemiluminescence Assay*) (Das et al., 2018). Deteksi awal pada infeksi HIV sangat penting untuk mengurangi transmisi dari pasien ke orang lain. Metode yang CLIA mempunyai angka negatif palsu dan positif palsu yang rendah dengan angka rentang spesifisitas antara 97,6% sampai 99,8% (Rao et al., 2016).

Penelitian (Tiwari et al., 2020) yang membandingkan metode ELISA dan CLIA pada deteksi HIV dari 54 sampel donor darah menunjukkan hasil sensitivitas CLIA sebesar 100 % dan spesifisitas sebesar 99,62 %. Deteksi HIV-1 p24 antigen pada serum atau plasma merupakan salah satu pemeriksaan tradisional yang masih dilakukan di laboratorium. Dengan menggunakan metode ELISA generasi pertama, *limit of detection* HIV adalah 5-10 pg/ml. Sedangkan dengan metode CLIA, batas deteksi terendah adalah 0,5 pg/ml. Jangkauan deteksi dari ELISA adalah  $5-2 \times 10^3$  pg/ml, untuk CLIA batas deteksinya adalah  $0,5 - 5 \times 10^3$  pg/ml. Oleh sebab itu, CLIA lebih sensitive dan mampu mendeteksi antigen HIV dengan jangkauan lebih luas daripada ELISA (Zhao et al., 2013).

Pemeriksaan HIV RNA merupakan metode terbaru yang paling sensitif untuk mendiagnosa fase awal infeksi HIV, sedangkan antigen p24 merupakan *biomarker* yang banyak digunakan secara luas di laboratorium klinik yang memiliki keterbatasan pemeriksaan RNA. Sensitivitas dan spesifisitas deteksi antigen p24 harus ditingkatkan sehingga *limit of detection* dari ELISA dapat lebih rendah. Salah satunya dengan menggunakan immunoassay berbasis *luminol-chemiluminescence*. Dengan rentang deteksi yang lebih luas, pemeriksaan tidak memerlukan pengenceran untuk konsentrasi yang tinggi.

Kelebihan CLIA adalah lebih sederhana dan penggunaan waktu pemeriksaan lebih singkat walaupun prosedur CLIA mirip dengan ELISA. Pada CLIA, setelah antigen dan antibodi berikatan inkubasi dengan luminol dan hidrogen peroksida hanya memerlukan waktu selama 2 menit saja. Sedangkan pada ELISA membutuhkan waktu 30 menit inkubasi setelah penambahan substrat TMB. Bahkan beberapa modifikasi ELISA membutuhkan total waktu lebih dari 180 menit. Antigen p-24 pada CLIA lebih murah dan lebih mudah didapatkan daripada antigen pada ELISA. Pemeriksaan HIV dengan skala besar dan pada laboratorium umum, penggunaan CLIA lebih cocok dan lebih praktis untuk dikembangkan (Zhao et al., 2013).

#### **Pemeriksaan Sifilis dengan Metode CLIA**

Sifilis adalah penyakit infeksi sistemik yang disebabkan oleh bakteri *Treponema pallidum* subspecies *pallidum*. Kebanyakan kasus infeksi didapatkan dari kontak seksual langsung dengan orang yang menderita sifilis aktif baik primer maupun sekunder. Secara global, diperkirakan 10,6 juta kasus sifilis terjadi pertahunnya. Seroprevalensi darah donor terinfeksi sifilis di UDD Kabupaten Kudus pada tahun 2020 sebanyak 0,07 % dari 16.081 kantong darah (Lestari & Saputro, 2021). Penelitian lain di UDD PMI Lombok Barat selama tahun 2020 didapatkan ada 36 sampel darah donor yang dinyatakan reaktif sifilis (Puspita et al., 2021).

Sifilis merupakan salah satu masalah Kesehatan global dimana penderitanya cukup tinggi di seluruh dunia. Pemeriksaan sifilis yang umum dilakukan dengan menggunakan nontreponemal (*rapid plasma reagin/RPR*) dan treponemal (*Venereal Disease Research Laboratory/VDRL*). Spesimen yang menunjukkan hasil positif kemudian dikonfirmasi dengan *Treponema Pallidum Hemagglutination Assay* (TPHA) atau *fluorescent antibody absorbtion* (FTA-Ab). Perbandingan hasil pemeriksaan sifilis dengan CLIA dengan *gold standar* yaitu TPHA dan FTA

menunjukkan korelasi yang sempurna antara keduanya dengan hasil  $Kappa = 0,83$ ; CI 95%, 0,72 dari 0,94. Dari 402 sampel, terdapat 17 spesimen terdeteksi negative pada RPR tetapi oleh CLIA dan TPHA hasilnya positif. Seluruh 17 sampel tersebut berasal dari pasien dengan riwayat positif dan telah melakukan pengobatan. (González et al., 2015).

Penelitian lain menggunakan CLIA otomatis yang membandingkan pemeriksaan sifilis dengan EIA, *Western Blot* dan TPHA menunjukkan angka sensitivitas yang paling tinggi yaitu 99,2 % dibandingkan dengan EIA (95,4 %), TPHA (94,7 %). CLIA mempunyai angka deteksi yang tinggi pada pasien sifilis fase laten dan fase awal yang belum diobati dibanding EIA dan TPHA. Sedangkan WB masih memiliki tingkat sensitivitas dan spesifitas tertinggi yaitu 100 %. CLIA telah dievaluasi dalam beberapa tahun terakhir dan menunjukkan sensitivitas dan spesifitas yang tinggi dibandingkan metode imunoenzimatis lainnya. Selain itu, CLIA juga lebih mudah dioperasikan dan biaya yang lebih murah (Marangoni et al., 2005).

Skrining donor darah dengan jumlah yang banyak pada satu waktu yang sama, menggunakan CLIA merupakan metode yang bisa digunakan sebagai alternatif daripada RPR dan VDRL. Pengerjaan CLIA yang sudah otomatis dan lebih singkat akan memudahkan UTD dalam screening. Sensitivitas dan spesifitas CLIA paling tinggi sehingga baik digunakan dalam screening IMLTD darah donor dibandingkan metode lainnya (Park et al., 2019).

#### **KESIMPULAN DAN SARAN**

Pemeriksaan IMLTD merupakan syarat untuk darah yang didonorkan agar tidak terjadi penularan penyakit dari donor ke resipien. IMLTD yang wajib diperiksa menurut peraturan di Indonesia meliputi HIV, HBsAg, HCV, dan Sifilis. Semua pemeriksaan tersebut wajib dilaksanakan oleh semua Unit Donor Darah di seluruh Indonesia. Metode screening darah yang banyak digunakan adalah *rapid diagnostic*

test, ELISA, EIA, dan CLIA. Dari beberapa jenis metode tersebut, laboratorium harus memilih metode dengan tingkat sensitivitas dan spesifisitas yang paling baik untuk menghindari terjadinya hasil *false-negative* pada darah donor.

CLIA merupakan salah satu metode yang beberapa tahun belakang ini digunakan dalam berbagai macam pemeriksaan di laboratorium klinis. Banyak penelitian yang menunjukkan bahwa sensitifitas dan spesifisitas CLIA lebih tinggi dibandingkan metode pemeriksaan lainnya (RDT, ELISA) pada parameter IMLTD. Selain itu, waktu pemeriksaan dan penggunaan alat CLIA lebih mudah dan reagensia yang digunakan lebih murah. Jumlah sampel yang diperlukan lebih sedikit serta *Limit of Detection* metode ini jauh lebih rendah daripada metode lainnya.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu penulisan artikel ilmiah ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Achsan, M. (2014). Insidensi Infeksi Menular Lewat Transfusi Darah (IMLTD) di Unit Donor Darah PMI Kota Semarang. *Medica Hospitalia: Journal of Clinical Medicine*, 2(2), 88–91.  
<https://doi.org/10.36408/mhjcm.v2i2.98>
- Adhyatma, G. P., Luthfita, A., Hanjani, A., Nalaresi, A., Nurraga, G. W., Astuti, A. K. Y., Purnomo, H. D., & Sofro, M. A. U. (2020). Seroprevalence Hepatitis C Reaktif pada Donor Palang Merah Indonesia Semarang, Jawa Tengah The Seroprevalence of Hepatitis C Reactive in Donors of Indonesian Red Cross Blood Bank Semarang, Central Java. *Prosiding Seminar Nasional Unimus*, 3(0), 2015–2021.  
<http://prosiding.unimus.ac.id>
- Aminah, S. (2015). HIV Reaktif pada Calon Donor Darah di Unit Donor Darah ( UDD ) Pembina Palang Merah Indonesia ( PMI ) Provinsi Lampung dan Unit Transfusi Darah PMI RSUD Pringsewu tahun 2010 – 2014 HIV Reactive to potential blood donors at the Blood Transfusion Unit Pemi. *Jurnal Analis Kesehatan*, 4(2), 427–435.
- Azim, M. A. U., Hasan, M., Ansari, I. H., & Nasreen, F. (2018). Chemiluminescence Immunoassay: Basic Mechanism and Applications. *Bangladesh Journal of Nuclear Medicine*, 18(2), 171–178.  
<https://doi.org/10.3329/bjnm.v18i2.35240>
- Chen, Y., Wang, J., Liu, Z., Wang, X., Li, X., & Shan, G. (2018). Regular article A simple and versatile paper-based electrochemiluminescence biosensing platform for hepatitis B virus surface antigen detection. *Biochemical Engineering Journal*, 129, 1–6.  
<https://doi.org/10.1016/j.bej.2017.10.012>
- Das, D., Roy, S., & Mondal, S. (2018). Evaluation of performance characteristics of enzyme chemiluminescence immunoassay (ECLIA) and rapid diagnostic test (RDT) for HBV, HIV and HCV infections. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 12(8), DC14–DC17.  
<https://doi.org/10.7860/JCDR/2018/35169.11877>
- Dufour, D. R., Talastas, M., Fernandez, M. D. A., & Harris, B. (2003). *Chemiluminescence Assay Improves Specificity of Hepatitis C Antibody Detection*. 944, 940–944.
- Erawati, E., & Syukriadi, S. (2019). Hubungan Hasil Uji Saring Darah Pada Donor Sukarela Dan Pengganti Di Rsud Rokan Hulu. *Sainstek: Jurnal Sains Dan Teknologi*, 11(2), 83.

- <https://doi.org/10.31958/js.v11i2.1616>
- Fei, C., Ye, A., & Zhang, J. (2011). [Evaluation of different methods in determination of low level HBsAg]. *Zhejiang Da Xue Xue Bao. Yi Xue Ban = Journal of Zhejiang University. Medical Sciences*, 40(4), 436–439. <https://doi.org/10.3785/j.issn.1008-9292.2011.04.016>
- Ghosh, M., Nandi, S., Dutta, S., & Saha, M. K. (2015). *Detection of hepatitis B virus infection: A systematic review*. 7(23), 2482–2491. <https://doi.org/10.4254/wjh.v7.i23.2482>
- González, V., Fernández, G., Dopico, E., Margall, N., Esperalba, J., Muñoz, C., Castro, E., Sulleiro, E., & Matas, L. (2015). Evaluation of the Vitros Syphilis TPA chemiluminescence immunoassay as a first-line method for reverse syphilis screening. *Journal of Clinical Microbiology*, 53(4), 1361–1364. <https://doi.org/10.1128/JCM.00078-15>
- Hippy, N S I, Ukma, N. (2021). Prevalensi Kasus Reaktif HBsAg pada Pendonor dengan Metode ChLIA dan ELISA Berdasarkan Usia dan Jenis Kelamin di UDD PMI Kota Depok pada Tahun 2019-2020. *Ensiklopedia of Journal*, 3(5), 114–120.
- Kemenkes RI. (2015). *Permenkes No 91 Tahun 2015 Tentang Standar Pelayanan Tranfusi Darah*. 2009, 32.
- Kim, S., Kim, J., Yoon, S., Park, Y., Kim, H., & Al, K. I. M. E. T. (2008). *Clinical Performance Evaluation of Four Automated Chemiluminescence Immunoassays for Hepatitis C Virus Antibody Detection* □. 46(12), 3919–3923. <https://doi.org/10.1128/JCM.01603-08>
- Komalasari, N. luh gede. (2013). *Pendonor Pengganti Dan Pendonor Sukarela Di Unit Donor Darah Provinsi Bali-Rsup Sanglah Tahun 2013*.
- Kricka, L. J. (2003). Clinical applications of chemiluminescence. *Analytica Chimica Acta*, 500(1–2), 279–286. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(03\)00809-2](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(03)00809-2)
- Lestari, C. R., & Saputro, A. A. (2021). Gambaran Hasil Pemeriksaan HCV, HIV, dan VDRL Pada Pendonor Unit Donor Darah PMI Kabupaten Kudus. *Indonesian Journal of Biomedical Science and Health*, 1(1), 11–21.
- M. Sauer, J. Hofkens, J. E. (2011). Fluorophores and Fluorescent Labels. In *Handbook of Fluorescence Spectroscopy and Imaging* (pp. 31–60). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9783527633500.ch2>
- Madiyal, M., Sagar, S., & Vishwanath, S. (2016). *Comparing Assay Performance of ELISA and Chemiluminescence Immunoassay in Detecting Antibodies to Hepatitis B Surface Antigen*. 10(11), 7–10. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/24108.8921>
- Marangoni, A., Sambri, V., Accardo, S., Cavrini, F., D’Antuono, A., Moroni, A., Storni, E., & Cevenini, R. (2005). Evaluation of LIAISON Treponema Screen, a novel recombinant antigen-based chemiluminescence immunoassay for laboratory diagnosis of syphilis. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 12(10), 1231–1234. <https://doi.org/10.1128/CDLI.12.10.1231-1234.2005>
- Martias, V. Y., Ratih, W. U., Kesehatan, P., & Setya, B. (2022). *Prevalensi Hepatitis C ada Pendonor Darah Di UTD PMI Kabupaten Bantul Tahun 2019-2020*. 7(1), 57–64.

- Park, I. U., Fakile, Y. F., Chow, J. M., Gustafson, K. J., Jost, H., Schapiro, J. M., Novak-Weekley, S., Tran, A., Nomura, J. H., Chen, V., Beheshti, M., Tsai, T., Hoover, K., & Bolan, G. (2019). Performance of Treponemal Tests for the Diagnosis of Syphilis. *Clinical Infectious Diseases*, 68(6), 913–918.  
<https://doi.org/10.1093/cid/ciy558>
- PPSDM Kemenkes RI. (2019). Buku Ajar Infeksi Menular Lewat Tranfusi Darah. In *Kementerian Kesehatan RI*.
- Puspita, R., Dewi, Y. A., & Kanaya, L. (2021). Hasil Prevalensi Sifilis Reaktif Metode Chlia dalam Donor Darah UDD PMI Lombok Barat. *Griya Widya: Journal of Sexual and Reproductive Health*, 1(1), 47–50.  
<https://doi.org/10.53088/griyawidya.v1i1.253>
- Rao, C., Wang, T., Chen, Q., An, J., Feng, S., Tao, C., & Wang, L. (2016). Performance evaluation of a novel automated HIV Ag/Ab chemiluminescence immunoassay. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 54(9), e225–e258.  
<https://doi.org/10.1515/cclm-2015-1179>
- Tiwari, A. K., Upadhyay, A. P., Arora, D., Wadhwa, T., Aggarwal, G., Pabbi, S., Luthra, A. S., & Rawat, S. S. (2020). Head-to-head comparison of Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) and Enhanced Chemiluminescence Immunoassay (ECLIA) for the detection of Transfusion Transmitted Disease (TTD) Markers; HIV, HCV and HBV in blood donors, in India. *Journal of Virological Methods*, 285(August).  
<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2020.113962>
- Ventiani, N., Sastri, S., & Pertiwi, D. (2012). Artikel Penelitian Frekuensi HBsAg Positif pada Uji Saring Darah di Palang Merah Indonesia Cabang Padang Tahun 2012. 3(1), 2012–2015.
- Wang, C., WU, J., ZONG, C., XU, J., & JU, H.-X. (2012). Chemiluminescent Immunoassay and its Applications. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 40(1), 3–10.  
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1872-2040\(11\)60518-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1872-2040(11)60518-5)
- Xiao, Q., & Xu, C. (2020). Research progress on chemiluminescence immunoassay combined with novel technologies. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 124(52), 115780.  
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115780>
- Ye, X., Li, T., Li, R., Liu, H., Zhao, J., & Zeng, J. (2021). Molecular characteristics of HBV infection among blood donors tested HBsAg reactive in a single ELISA test in southern China. 1–8.
- Zhao, P., Feng, J., Wu, Y., Xu, F., Lv, C., Fu, E., Ma, X., & Zeng, Y. (2013). Detection of HIV-1 p24 antigen using a simple and highly sensitive chemiluminescence immunoassay. *Future Virology*, 8(7), 717–723.  
<https://doi.org/10.2217/fvl.13.45>