

**IDENTIFIKASI BAKTERI *STREPTOCOCCUS* GRUP B (SGB)
DENGAN METODE KULTUR DAN *POLYMERASE CHAIN
REACTION* (PCR) PADA IBU HAMIL DI KOTA MAKASSAR**

NUR IRMA SAFITRI

P062202024



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

2023

HALAMAN JUDUL

**IDENTIFIKASI BAKTERI *STREPTOCOCCUS* GRUP B (SGB)
DENGAN METODE KULTUR DAN *POLYMERASE CHAIN
REACTION* (PCR) PADA IBU HAMIL DI KOTA MAKASSAR**

Identification of Group B *Streptococcus* (GBS) Bacteria by Culture
and Polymerase Chain Reaction (PCR) Methods
in Pregnant Women in Makassar City

DISUSUN DAN DIAJUKAN OLEH:

NUR IRMA SAFITRI

P062202024

PEMBIMBING:

1. dr. Firdaus Hamid, Ph.D, Sp.MK
2. Prof. dr. Muh. Nasrum Massi, Ph.D, Sp.MK

**KONSENTRASI MIKROBIOLOGI
PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

HALAMAN PENGANTAR

**IDENTIFIKASI BAKTERI *STREPTOCOCCUS* GRUP B (SGB)
DENGAN METODE KULTUR DAN *POLYMERASE CHAIN
REACTION* (PCR) PADA IBU HAMIL DI KOTA MAKASSAR**

Identification of Group B *Streptococcus* (GBS) Bacteria by Culture
and Polymerase Chain Reaction (PCR) Methods
in Pregnant Women in Makassar City

TESIS

Diajukan sebagai salah satu syarat
mencapai gelar Master Biomedik

DISUSUN DAN DIAJUKAN OLEH:

NUR IRMA SAFITRI

P062202024

PEMBIMBING:

1. dr. Firdaus Hamid, Ph.D, Sp.MK
2. Prof. dr. Muh. Nasrum Massi, Ph.D, Sp.MK

**KONSENTRASI MIKROBIOLOGI
PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2023

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

**IDENTIFIKASI BAKTERI *STREPTOCOCCUS* GRUP B (SGB)
DENGAN METODE KULTUR DAN *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR)
PADA IBU HAMIL DI KOTA MAKASSAR**

Disusun dan diajukan oleh

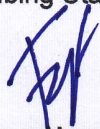
NUR IRMA SAFITRI

P062202024

Telah dipertahankan di hadapan Panitia ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Magister Program Studi Ilmu Biomedik
Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin
Pada tanggal 8 Maret 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

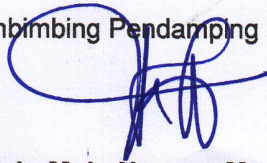
Menyetujui,

Pembimbing Utama



dr. Firdaus Hamid, Ph.D., Sp.MK
NIP. 19771231 2002012 1 002

Pembimbing Pendamping



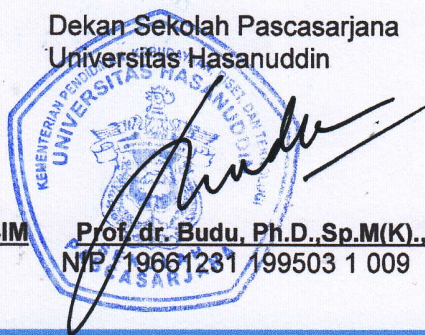
Prof.dr. Muh. Nasrum Masi, Ph.D., Sp.MK
NIP. 19670910 199603 1 001

Ketua Program Studi
Magister Ilmu Biomedik



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

Dekan Sekolah Pascasarjana
Universitas Hasanuddin



Prof. dr. Budu, Ph.D., Sp.M(K), M.Med.Ed
NIP. 19661231 199503 1 009

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis berjudul "**Identifikasi Bakteri *Streptococcus* Grup B (SGB) dengan Metode Kultur dan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) pada Ibu Hamil di Kota Makassar**" adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing dr. Firdaus Hamid, Ph.D, Sp.MK sebagai pembimbing utama dan Prof. dr. Muh. Nasrum Massi, Sp.MK, Ph.D sebagai pembimbing pendamping.


Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini.

Sebagian dari isi tesis ini telah dipublikasikan di KEMAS: Jurnal Kesehatan Masyarakat, **Volume, Halaman dan doi** dengan judul "**Comparative Techniques for Group B Streptococcal Colonization Testing in Makassar's Pregnant Women**".

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 08 Maret 2023




Nur Irma Safitri
P062202024

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah Yang Maha Esa, karena berkat rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul "**IDENTIFIKASI BAKTERI *STREPTOCOCCUS* GRUP B (SGB) DENGAN METODE KULTUR DAN *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR) PADA IBU HAMIL DI KOTA MAKASSAR**".

Dalam penulisan tesis ini, tentu terdapat banyak kesulitan, namun karena adanya bantuan dan bimbingan yang diberikan dari berbagai pihak kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Orang tua penulis, (alm.) dr. Imran As'ad, Sp.PD dan drg. Raden Aju Nuraida, terima kasih atas doa, pengorbanan dan motivasi mereka selama saya menempuh pendidikan. Kepada saudara penulis, Muhammad Ikhdar Isnan Imran dan Muhammad Ikhsan Rizaldi Imran terima kasih atas motivasi dan dukungan yang tak ternilai sampai hari ini.
2. dr. Firdaus Hamid, Sp.MK, Ph.D, dan Prof. dr. Muh. Nasrum Massi, Sp.MK, Ph.D selaku Dosen Pembimbing atas bimbingan dan arahnya.
3. Dr. dr. Deviana Soraya Riu, Sp.OG, M.Kes
Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K)
Dr. Rosana Agus, M.Sc
Selaku tim penguji atas saran, masukan dan arahnya.
4. Dr. dr. Ika Yustisia, S.Ked, M.Sc selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik yang lama dan dr. Rahmawati, Ph.D., Sp.PD-KHOM, FINASIM, selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik yang baru atas dukungan dan nasehatnya selama proses penulisan tesis ini.
5. Ibu Handayani selaku staf dari HUMRC dan Pak Syafri S., selaku staf laboran Bagian Mikrobiologi FK UNHAS atas bimbingan dan bantuannya selama penelitian. Staf peneliti lainnya di HUMRC FK UNHAS atas bantuannya selama proses penelitian.
6. drg. Maisarah, M.Kes, selaku Kepala Puskesmas Cendrawasih dan dr. Ria Adriani Amrulah, yang telah menjadi penanggung jawab medis pada penelitian ini. Bidan Anni dan bidan lainnya yang bertugas dan Poli Kesehatan Ibu dan Anak (KIA) yang turut membantu saat pengambilan sampel di Puskesmas Cendrawasih.

7. dr. Risma Wachyuni R., yang telah menjadi penanggung jawab medis pada pengambilan sampel pasien ibu hamil di Puskesmas Kassi-kassi. Bidan Sri dan semua bidan yang bertugas di Poli KIA yang turut membantu saat pengambilan sampel di Puskesmas Kassi-kassi.
8. Tim penelitian SGB, Mayabi Pratika dan Zainul Muttaqin, juga rekan penelitian TB MDR Project; dr.Muh. Azron Junaedi, dr.Nurul Rifqiani Djerman, dan dr. Itzar Chaidir Islam, M.Biomed, atas bantuannya selama melakukan penelitian di Laboratorium HUM RC FK UNHAS.
9. Arif Tirtana, sahabat Penulis yang turut membantu juga mengarahkan terutama mengenai penulisan tesis sejak ide penelitian, proposal sampai saat ini.
10. Semua pihak yang telah membantu baik secara langsung maupun tidak langsung yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis menyadari kekurangan dan keterbatasan yang ada, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran.

Penulis,

Nur Irma Safitri

ABSTRAK

NUR IRMA SAFITRI. **Identifikasi Bakteri *Streptococcus* Grup B (SGB) dengan Metode Kultur dan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) pada Ibu Hamil di Kota Makassar** (dibimbing oleh Firdaus Hamid dan Muh. Nasrum Massi).

Infeksi *Streptococcus* Grup B (SGB), penyebab sepsis neonatal, masih menjadi masalah serius, terutama pada wanita hamil. Secara global, prevalensi SGB pada ibu hamil berkisar antara 4,2 hingga 28,4%. Di Indonesia, kolonisasi SGB sekitar 10-30 % dari pasien ibu hamil baik yang sehat maupun yang mengalami komplikasi obstetri. Saat ini belum ada data mengenai kasus infeksi SGB pada ibu hamil di Makassar. Penelitian ini membandingkan metode kultur dan *polymerase chain reaction* (PCR) untuk mengidentifikasi kolonisasi SGB. Penelitian observasional dilakukan terhadap 60 ibu hamil dengan usia kehamilan 28-40 minggu yang melakukan pelayanan prenatal di Puskesmas, Makassar, Indonesia. Sampel yang digunakan adalah spesimen vagina ganda yang dikumpulkan dengan menggunakan kapas steril dari vagina bagian bawah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri SGB tidak teridentifikasi secara fenotipik dengan metode kultur. Namun, bakteri yang dominan adalah gamma hemolisis 60% dan kokus gram positif 83,33%. Terdapat pula bakteri basil gram positif 6,67% dan kecurigaan *yeast* 3,33%. Hasil identifikasi dengan metode PCR menggunakan target gen 16S rRNA menunjukkan hasil bahwa terdapat 20 (33,33%) sampel positif SGB dari total 60 sampel. Dengan demikian, pemeriksaan dengan menggunakan PCR lebih sensitif dibandingkan dengan metode kultur.

Kata kunci: kultur, *polymerase chain reaction*, *Streptococcus* grup B, wanita hamil

ABSTRACT

NUR IRMA SAFITRI Identification of Streptococcus Group B (GBS) Bacteria by Culture and Polymerase Chain Reaction (PCR) Methods in Pregnant Women in Makassar City (supervised by Firdaus Hamid and Muh. Nasrum Massi).

Group B Streptococcal (GBS) infection, a cause of neonatal sepsis, remains a serious problem, especially in pregnant women. Globally, the prevalence of GBS in pregnant women ranges from 4.2 to 28.4%. In Indonesia, SGB colonization is around 10-30% of pregnant women, both healthy and those with obstetric complications. There is currently no data on cases of SGB infection in pregnant women in Makassar. This study compared to culture and polymerase chain reaction (PCR) methods to identify SGB colonization. An observational study was conducted on 60 pregnant women with 28-40 weeks of gestation who received prenatal care at a community health center in Makassar, Indonesia. The samples used were double vaginal specimens collected using sterile swabs from the lower vagina. The results showed that SGB bacteria were not phenotypically identified by the culture method. However, the dominant bacteria were gamma hemolysis 60% and gram-positive cocci 83.33%. There were also gram-positive bacilli at 6.67% and suspicion of yeast at 3.33%. The results of identification by PCR method by using 16S rRNA target showed that there were 20 (33.33%) positive samples of GBS from a total of 60 samples. Thus, examination using PCR is more sensitive than the culture method.

Keywords: culture, group B *Streptococcus*, pregnant women, polymerase chain reaction

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGANTAR.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR ISTILAH, SINGKATAN, DAN LAMBANG	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.3.1 Tujuan umum.....	3
1.3.2 Tujuan khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
1.4.1 Manfaat teoritis	3
1.4.2 Manfaat praktis	3
1.4.3 Manfaat klinis	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Disbiosis Ekosistem Flora Normal pada Kehamilan.....	4
2.2 <i>Streptococcus</i> Grup B (SGB).....	7
2.3 Gen 16S rRNA SGB.....	13
2.4 <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	15
2.5 Elektroforesis.....	17
2.6 Terapi pada Infeksi SGB	18
2.7 Kerangka Teori.....	20
2.8 Kerangka Konsep.....	21
2.9 Hipotesis.....	21

BAB III METODE PENELITIAN	22
3.1 Rancangan Penelitian	22
3.2 Waktu dan Lokasi Penelitian.....	22
3.3 Variabel Penelitian	22
3.4 Definisi Operasional dan Kriteria Objektif	23
3.5 Populasi dan Sampel Penelitian	24
3.5.1 Populasi penelitian	24
3.5.2 Sampel penelitian	24
3.6 Teknik Perhitungan Jumlah Sampel	24
3.7 Instrumen Penelitian.....	25
3.8 Teknik Pengumpulan Data.....	26
3.8.1 Permintaan persetujuan tindakan	26
3.8.2 Pengambilan sampel swab vagina.....	27
3.8.3 Identifikasi bakteri SGB dengan metode Kultur	27
3.8.4 Ekstraksi DNA.....	28
3.8.5 Identifikasi bakteri SGB dengan metode <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	29
3.9 Teknik Pengolahan dan Analisis Data	30
3.10 Etika Penelitian.....	31
3.11 Alur Penelitian	32
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	33
4.1 Karakteristik Subjek Penelitian	33
4.2 Hasil Identifikasi Bakteri SGB dengan Metode Kultur	34
4.3 Hasil Identifikasi Bakteri SGB dengan Metode PCR.....	39
4.4 Pembahasan	41
4.5 Keterbatasan Penelitian	52
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	53
5.1 Kesimpulan.....	53
5.2 Saran	53
DAFTAR PUSTAKA.....	54
LAMPIRAN	59
BIODATA PENELITI UTAMA	69

DAFTAR TABEL

Nomor urut	Halaman
1. Definisi operasional dan kriteria objektif.....	23
2. Karakteristik ibu hamil berdasarkan usia, kehamilan, usia kehamilan, riwayat penyakit, serta keluhan selama kehamilan.....	34
3. Karakteristik sampel berdasarkan gambaran makroskopis pada media <i>blood agar</i> (sifat hemolisis) dan gambaran mikroskopis dengan pewarnaan gram.....	37
4. Rekapitulasi sampel positif SGB dengan metode PCR pada Puskesmas Cendrawasih dan Puskesmas Kassi-kassi di Kota Makassar.....	40

DAFTAR GAMBAR

Nomor urut	Halaman
1. Efek eubiotik dari estrogen dan <i>Lactobacillus sp.</i> di lingkungan vagina (Amabebe, 2018).....	5
2. Gambaran mekanisme eksfoliasi epitel yang diinduksi oleh bakteri SGB (Vornhagen, 2018)	6
3. Mekanisme efek terapi memulihkan mikrobiota vagina yang didominasi <i>Lactobacillus</i> pada penyakit menular (Han et al., 2021) ..	7
4. Kolonisasi <i>Streptococcus</i> grup B (SGB) pada vagina (Patras, 2018)	10
5. Faktor virulensi SGB dengan transisi kolonisasi menjadi penyakit invasif (Kenzel, 2014)	11
6. Protein matriks ekstraseluler SGB (Shabayek & Spellerberg, 2018) .	12
7. Gen 16S rRNA	14
8. Komponen dan proses PCR	17
9. Bagan kerangka teori	20
10. Bagan kerangka konsep	21
11. Bagan alur penelitian	32
12. Gambaran <i>beta hemolysis</i> , <i>alpha hemolysis</i> , dan <i>gamma hemolysis</i> (Buxton, 2016)	35
13. Gambaran beta hemolisis pada kontrol positif SGB	36
14. Gambaran gamma hemolisis (kiri) dan alfa hemolisis (kanan) pada sampel penelitian	36
15. Pengamatan secara mikroskopis dengan pewarnaan gram.....	37
16. Uji katalase positif pada 10 sampel dengan kode 043A, 043B, 048A, 048B, 055A, 055B, 057A, 057B, 060A, 060B dan uji katalase negatif pada kontrol positif (SGB)	38
17. Uji CAMP dengan hasil negatif pada sampel penelitian	38
18. Hasil elektroforesis PCR pada sampel 35-46.....	39
19. Hasil elektroforesis PCR pada sampel 47-60.....	39
20. <i>Streptococcus agalactiae</i> dilihat dengan cahaya yang datang: Tidak ada hemolisis yang jelas (a); <i>Streptococcus agalactiae</i> dilihat dengan cahaya yang ditransmisikan: hemolisis yang tidak kentara (b) (Buxton, 2016)	43
21. <i>Streptococcus agalactiae</i> pada <i>Colimycin Nalidixic Acid Agar</i> , CNA (tengah atas); CHROMagar Strep B (kanan bawah); <i>Columbia Horse Blood Agar</i> , COH (kiri bawah) (Poisson et al., 2010).....	49

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor urut	Halaman
1. Formulir persetujuan setelah penjelasan	59
2. Lembar persetujuan sebelum tindakan	62
3. Kuisisioner penelitian.....	64
4. Rekomendasi persetujuan etik	66
5. Hasil elektroforesis PCR dengan target gen 16S rRNA.....	67

DAFTAR ISTILAH, SINGKATAN, DAN LAMBANG

Lambang/Singkatan	Arti dan Penjelasan
%	Persen
°C	Derajat Celcius
16S	16 Svedberg (satuan ukuran untuk laju sedimentasi)
α	Alfa
β	Beta
γ	Gamma
μL	Mikroliter
3'	<i>Three prime</i>
3'-OH	Gugus hidroksil pada ujung 3'
A	Adenin
AGPT	<i>Agar Gel Precipitation Test</i>
AKT	Protein Kinase B
ANC	<i>Ante Natal Care</i>
AST	<i>Antibiotic Susceptibility Test</i>
atr	<i>CAMP factor gene</i>
BA	<i>Blood Agar</i>
BBLR	Berat Badan Lahir Rendah
BibA	<i>GBS Immunogenic Bacterial Adhesin</i>
bp	<i>base pair</i>
BsaB	<i>GBS Surface Adhesion</i>
BSC	<i>Bio Safety Cabinet</i>
C	Sitosin
C4BP	<i>C4-binding protein</i>
CA	<i>Chocolate Agar</i>
CAMP factor	Protein yang dapat berdifusi dan stabil terhadap panas yang dihasilkan oleh bakteri SGB. Singkatan dari <i>Christie–Atkins–Munch–Peterson</i> , penemu faktor virulensi tersebut.
CAP	<i>Colistin Aztreonam Blood Agar Plate</i>
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CFU	<i>Colony Forming Unit</i>
CHROM-B	CHROMagar StrepB agar
CI 95%	<i>Confidence Interval 95%</i>

Lambang/Singkatan	Arti dan Penjelasan
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standard Institute</i>
cm	Sentimeter
CNA	<i>Colistin Nalidixin Acid blood agar</i>
CNA	<i>Colimycin Nalidixic Acid Agar</i>
CO ₂	Karbondioksida
COH	<i>Columbia Horse Blood Agar</i>
ddH ₂ O	<i>double-distilled water</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DP	<i>Direct Plating</i>
EMT	<i>Epithelial-to-Mesenchymal Transition</i>
FAK	<i>Focal Adhesion Kinase</i>
Fbs	<i>Fibrinogen-binding proteins</i>
FbsA	<i>Fibrinogen-binding protein A</i>
FbsB	<i>Fibrinogen-binding protein B</i>
FbsC	<i>Fibrinogen-binding protein C</i>
G	Guanin
g	Gram
GBS	<i>Group B Streptococcus</i>
GD Column	<i>Genomic DNA Column</i>
Gel DOC	<i>Gel Documentation System</i>
cfb	The CAMP-factor gene of streptococci of serological group B (<i>Streptococcus agalactiae</i>)
GSK3	<i>Glycogen Synthase Kinase-3</i>
H ₂ O ₂	Hidrogen Peroksida
HUMRC	<i>Hasanuddin University Medical Research Center</i>
HvgA	<i>Hypervirulent Adhesin</i>
IAP	<i>Intrapartum Antibiotic Prophylaxis</i>
IgA	Immunoglobulin A
IgG	Immunoglobulin G
IL-10	Interleukin 10 (<i>anti-inflammatory cytokine</i>)
IL-12	Interleukin 12
IL-1 β	Interleukin-1 Beta
kg	Kilogram
L	Liter
LIM Broth	<i>Todd Hewitt CNA Broth</i>

Lambang/Singkatan	Arti dan Penjelasan
LIM-SBAP	<i>LIM Broth-Sheep Blood Agar Plate</i>
Lmb	<i>Laminin Binding Protein</i>
LPxTG	<i>Leu-Pro-X-Thr-Gly</i>
Leu	<i>Leucine</i>
Pro	<i>Proline</i>
X	<i>Any amino acid</i>
Thr	<i>Threonine</i>
Gly	<i>Glycine</i>
mL	<i>Mililiter</i>
mm	<i>Milimeter</i>
NGAL	<i>Neutrofil Gelatinase-Associated Lipocalin</i>
NGM	<i>New Granada Medium</i>
NOS2	<i>Nitric Oxide Synthase-2</i>
NP	<i>Nasopharyngal</i>
NSR	<i>Nisin Resistance Protein</i>
OR	<i>Odds Ratio</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
pH	<i>Potential of Hydrogen</i>
RNA	<i>Ribonucleic Acid</i>
rRNA	<i>Ribosomal Ribonucleic Acid</i>
SBAP	<i>Sheep Blood Agar Plate</i>
ScpB	<i>Group B Streptococcal C5a Peptidase</i>
SDA	<i>Sabouraud-Dextrose Agar</i>
SfbA	<i>Streptococcal Fibronectin binding protein A</i>
SGB	<i>Streptococcus Grup B</i>
SLPI	<i>Serin Leukocyte Protease Inhibitor</i>
Srr1	<i>Serine-Rich Repeat Glycoproteins-1</i>
Srr2	<i>Serine-Rich Repeat Glycoproteins-2</i>
SSC	<i>Surviving Sepsis Campaign</i>
β-H/C	<i>β-Hemolysin/Cytolysin</i>
SSU rRNA	<i>Small Subunit Ribosomal Ribonucleic Acid</i>
STGG	<i>Skim milk, Tryptone, Glucose, and Glycerin</i>
T	<i>Timin</i>
TBE	<i>Tris/Borate/EDTA</i>

Lambang/Singkatan	Arti dan Penjelasan
Tris	2-Amino-2-(hydroxymethyl)propane-1,3-diol
Borate	Orthoboric Acid
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic Acid
Uji CAMP	Uji <i>Christie–Atkins–Munch–Peterson</i>
USG	Ultrasonografi
VCS	<i>Vaginal/Cervical Classical Sampling</i>
Viteck [®] MS	Viteck [®] <i>Mass Spectrometer</i>
VSS	<i>Vaginal Self Sampling</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Streptococcus Grup B (SGB), juga dikenal sebagai *Streptococcus agalactiae*, adalah bakteri kokus gram positif yang biasanya muncul berpasangan atau rantai pendek. Mikrobiota manusia berkolonisasi pada selaput lendir di sembilan serotipe yang berbeda, terutama di saluran pencernaan dan saluran kemih-kelamin (Castellano-Filho et al., 2010). SGB mengacu pada sekelompok strain *Streptococcus agalactiae* yang umumnya ditemukan sebagai bakteri komensal dalam mikrobiota vagina dan usus, tetapi juga merupakan penyebab utama sepsis bayi (Raabe & Shane, 2019).

Streptococcus agalactiae ditemukan di saluran pencernaan dan vagina sekitar 18% wanita hamil di seluruh dunia. Tingkat insidensinya berkisar dari satu dari setiap tiga wanita hamil di Karibia hingga satu dari setiap enam wanita hamil di Asia Selatan dan Timur. Sebagian kecil pasien yang terkolonisasi dengan SGB mengembangkan penyakit invasif, menunjukkan bahwa variabel inang spesifik mungkin berperan dalam memprediksi kerentanan penyakit invasif (Armistead et al., 2019).

Kehamilan telah dikaitkan dengan peningkatan risiko penyakit SGB invasif. Dalam sebuah studi multinegara yang dilakukan antara 2007 dan 2009, insiden penyakit invasif terkait SGB dua kali lebih tinggi pada wanita hamil yaitu 4 per 100.000 wanita per tahun dibandingkan pada wanita tidak hamil yaitu 2 per 100.000 wanita per tahun. Terlepas dari kenyataan bahwa sebagian besar infeksi SGB ditemukan selama persalinan dan melahirkan, wanita pada periode *postpartum* berada pada peningkatan risiko berkembang menjadi penyakit SGB invasif, bahkan jika tidak ada faktor risiko lain. Insiden gabungan morbiditas dan mortalitas bayi baru lahir, yang meliputi persalinan prematur terkait SGB, lahir mati, dan infeksi SGB pada neonatus, diperkirakan 49 per 100.000 populasi di seluruh dunia dalam tinjauan sistematis dan meta-analisis terlengkap hingga saat ini (Raabe & Shane, 2019).

Sebanyak 5–30% wanita hamil memiliki kolonisasi *asymptomatic* SGB pada traktus genital dan gastrointestinalnya serta 29–72% bayi yang

dilahirkannya, akan mendapat kolonisasi yang sama melalui transmisi vertikal baik *in utero* maupun ketika ia melewati jalan lahir (Landwehr-Kenzel & Henneke, 2014). Infeksi SGB neonatus terjadi 1 dari 1000 kelahiran hidup. Studi yang dilakukan di Indonesia didapatkan 10,09% wanita hamil yang sehat dilaporkan didapatkan kolonisasi SGB. Sementara itu, prevalensi populasi dengan komplikasi obstetrik naik menjadi 24,6% (Hayati, 2017).

Skринing untuk kolonisasi SGB antara 35 dan 37 minggu kehamilan, serta profilaksis intrapartum, sangat penting untuk meminimalkan hasil kehamilan yang tidak menguntungkan. Identifikasi mikroorganisme, bersama dengan pemulihan spesimen dan penggunaan evaluasi untuk hasil kultur yang lebih tinggi, merupakan langkah kunci dalam pencegahan sepsis. Tingkat transfer SGB dari ibu ke bayi baru lahir berbeda di seluruh dunia, tergantung pada teknik profilaksis yang digunakan (Raabe & Shane, 2019). Selain sepsis, manifestasi lainnya juga dapat berupa pneumonia, meningitis pada neonatus di hari 0 sampai 6 hari awal kehidupan, yang digolongkan sebagai *early onset disease* (Edmond et al., 2012).

Maka dari itu peneliti tertarik untuk mengidentifikasi SGB lebih awal agar, infeksi SGB pada ibu hamil sejak dini tidak berkembang menjadi sepsis, serta penggunaan antibiotik profilaksis yang tepat, yang diharapkan dapat mengurangi morbiditas dan mortalitas sebelum terjadinya komplikasi sepsis atau infeksi lainnya, baik pada ibu maupun pada bayi di kemudian hari. Selain itu, belum ada penelitian terkait insidensi infeksi SGB pada ibu hamil di Kota Makassar.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Apakah terdapat bakteri *Streptococcus* Grup B (SGB) pada ibu hamil dengan metode kultur?
2. Apakah terdapat bakteri *Streptococcus* Grup B (SGB) pada ibu hamil dengan metode PCR?
3. Pemeriksaan apakah yang lebih sensitif dalam mengidentifikasi bakteri SGB?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1.3.1 Tujuan umum

Untuk mengetahui adanya bakteri SGB pada ibu hamil sebagai upaya pencegahan sepsis di Kota Makassar.

1.3.2 Tujuan khusus

1. Untuk mengetahui adanya bakteri SGB pada ibu hamil dengan metode kultur.
2. Untuk mengetahui adanya bakteri SGB pada ibu hamil dengan metode PCR.
3. Untuk mengetahui pemeriksaan yang lebih sensitif dalam mengidentifikasi bakteri SGB.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1.4.1 Manfaat teoritis

Dapat memperoleh informasi mengenai prevalensi infeksi berupa adanya bakteri SGB pada Ibu Hamil di Kota Makassar.

1.4.2 Manfaat praktis

Dapat dijadikan sebagai acuan dalam protokol pemeriksaan rutin *Ante Natal Care* (ANC) pada ibu hamil di trimester ketiga sebagai upaya deteksi dini sebelum menjadi komplikasi sepsis pada ibu juga pada bayi.

1.4.3 Manfaat klinis

Dapat dijadikan sebagai bahan evaluasi dan acuan dalam tata laksana yang sesuai untuk mencegah infeksi SGB yang dapat menjadi komplikasi pada ibu dan bayi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

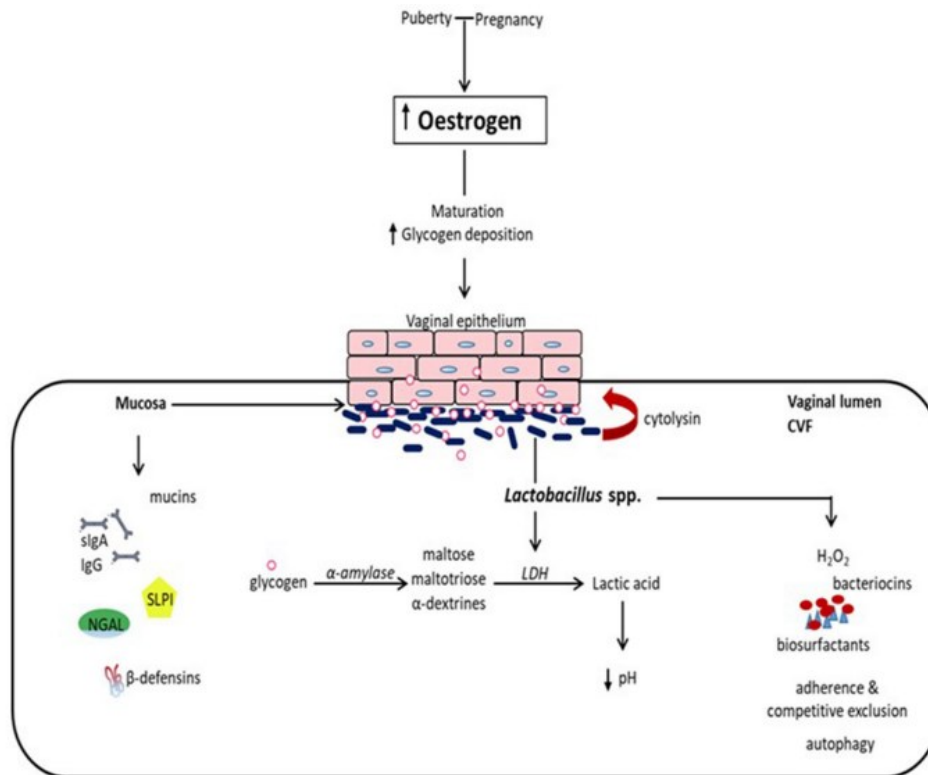
2.1 Disbiosis Ekosistem Flora Normal pada Kehamilan

Selama kehamilan, mikrobiota vagina memainkan peran penting dalam kesehatan ibu dan bayi baru lahir. Pergeseran dalam struktur komunitas bakteri vagina selama kehamilan, dengan satu atau dua spesies *Lactobacillus* biasanya mendominasi riasan. Bakteri ini diduga mampu menekan pertumbuhan patogen dengan menyekresi bakteriosin, antimikroba, dan metabolit seperti asam laktat, yang membantu mempertahankan pH rendah. Disbiosis mikrobiota vagina telah dikaitkan dengan masalah kehamilan, terutama peningkatan risiko kelahiran prematur. Mikrobioma vagina ibu juga dapat menjadi sumber utama bakteri pionir dalam mikrobioma usus neonatus, yang memiliki dampak signifikan pada metabolisme dan imunologi bayi (Amabebe & Anumba, 2018).

Disbiosis adalah istilah yang mengacu pada ketidakseimbangan komunitas bakteri atau maladaptasi. Namun, karena mikrobiota vagina tidak stabil dan berfluktuasi selama siklus hidup wanita dan selama siklus menstruasinya, menerapkan deskripsi ini pada mikrobioma vagina tidak selalu langsung. Definisi mikrobioma vagina "normal" masih bisa diperdebatkan. Disbiosis vagina, di sisi lain, sering didefinisikan sebagai mikrobioma vagina yang tidak didominasi oleh *Lactobacillus*. Namun, anggapan bahwa tidak adanya *Lactobacillus* menunjukkan ketidakseimbangan mikrobioma vagina mungkin tidak akurat atau tidak memadai, karena *Lactobacillus* sering tidak ada pada wanita tanpa gejala yang tidak berisiko tinggi mengalami masalah, seperti gadis pra-remaja dan wanita pasca-menopause (Lev-Sagie et al., 2022).

Estrogen dan *Lactobacillus spp* memiliki pengaruh eubiotik di lingkungan vagina. Peningkatan kadar estrogen merangsang pertumbuhan dan akumulasi glikogen dalam sel epitel vagina selama masa remaja dan kehamilan. Dalam lumen vagina, α -amilase mengatrolisme glikogen dari sel epitel yang terkelupas dan lisis menjadi polimer yang lebih kecil, yang kemudian dimetabolisme menjadi asam laktat oleh *Lactobacillus spp*. Asam laktat dan sitolisin, keduanya dihasilkan oleh *Lactobacilli*, mempercepat lisis sel epitel dan meningkatkan ketersediaan glikogen. Asam laktat membuat lingkungan vagina menjadi alkali,

mendorong pertumbuhan *Lactobacilli* sekaligus mencegah pembentukan organisme penyebab infeksi, seperti yang terlihat pada Gambar 1 (Amabebe & Anumba, 2018).

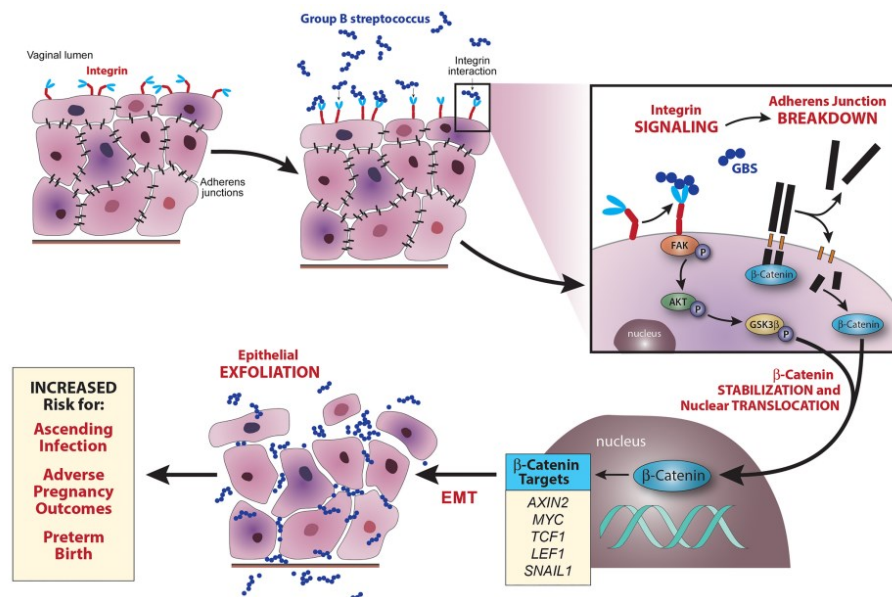


Gambar 1. Efek eubiotik dari estrogen dan *Lactobacillus sp.* di lingkungan vagina (Amabebe & Anumba, 2018).

Bakteriosin dan biosurfaktan serta penghambatan perlekatan fisik patogen ke epitel dengan eksklusi kompetitif dan promosi menelan dan degradasi sel epitel yang terinfeksi (*autophagy*), yang kemudian diperkuat oleh *Lactobacilli* melalui produksi hidrogen peroksida (H_2O_2). Selain itu, terdapat produksi musin, imunoglobulin (IgA dan IgG sekretorik), penghambat protease leukosit sekretorik (SLPI), *neutrofil gelatinase-associated lipocalin* (NGAL), dan β -defensins, serta protein antimikroba lainnya, yang semuanya bersama-sama menyediakan protein antimikroba yang tangguh sebagai garis pertahanan pertama dalam melawan infeksi (Amabebe & Anumba, 2018).

Pada studi yang dilakukan Vornhagen pada tahun 2018, SGB menyebabkan pengelupasan epitel, yang terkait dengan transisi bakteri dari komensal ke habitat invasif. EMT, yang dipicu oleh pensinyalan integrin dan dikendalikan oleh pensinyalan β -catenin, menyebabkan pengelupasan epitel dengan menyebabkan hilangnya fungsi penghalang dan pemisahan seluler.

Studi tersebut menemukan bahwa menghambat jalur pensinyalan ini mengurangi pengelupasan epitel, infeksi meningkat, dan hasil kehamilan yang negatif (Vornhagen et al., 2018).

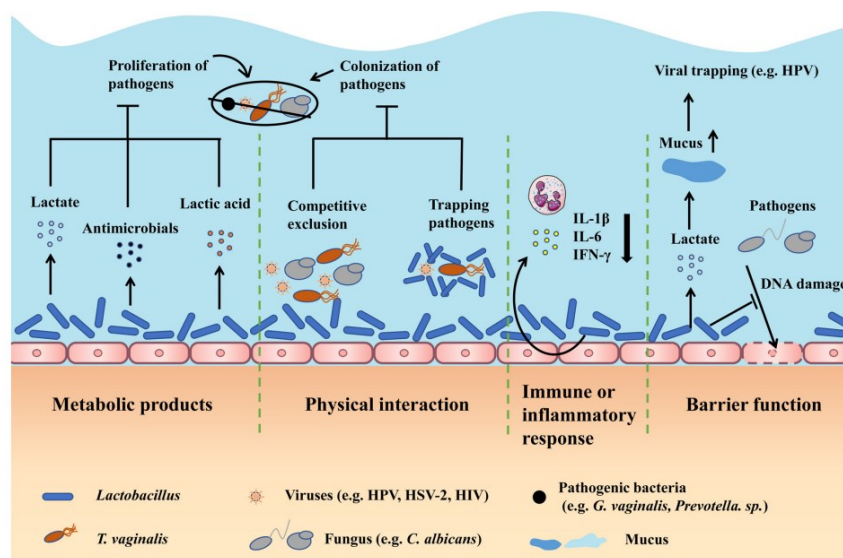


Gambar 2. Gambaran mekanisme eksfoliasi epitel yang diinduksi oleh bakteri SGB (Vornhagen et al., 2018)

Model pengelupasan epitel dan infeksi *ascending* yang disebabkan oleh SGB. Integrin secara langsung atau tidak langsung diaktifkan oleh SGB setelah kolonisasi. Aktivasi integrin ini kemudian menyebabkan FAK menjadi terfosforilasi, yang kemudian memfosforilasi AKT dan GSK3. β-Catenin dilepaskan ke dalam sitoplasma saat sambungan *adherens* rusak. GSK3 menandai β-catenin untuk penghancuran dalam bentuk defosforilasinya, mencegah stabilisasi β-catenin, translokasi *nuclear*, dan pensinyalan; namun, ketika terfosforilasi, ia tidak dapat menandai β-catenin untuk degradasi, memungkinkan stabilisasi β-catenin dan translokasi pun terjadi. Begitu berada di dalam nukleus, β-catenin mengaktifkan sejumlah gen, termasuk yang terlibat dalam EMT dan pengelupasan epitel. Pengelupasan epitel ini, daripada memberantas SGB yang terkolonisasi, memungkinkan dispersi bakteri dengan menghilangkan fungsi penghalang (Vornhagen et al., 2018).

Disbiosis mikrobiota vagina, yang ditandai dengan hilangnya dominasi *Lactobacillus* dan peningkatan keragaman mikroba, terkait dengan penyakit ginekologi; akibatnya, mengubah komposisi mikrobiota penting. Konsekuensi terapi penyakit menular dapat dilakukan dengan memulihkan mikrobiota vagina

yang didominasi *Lactobacillus*. Pada mulanya, *Lactobacillus* dapat membuat metabolit seperti laktat, antimikroba, dan asam laktat, yang dapat menghentikan bakteri berkembang biak. Kedua, *Lactobacillus* dapat membatasi kolonisasi patogen dengan secara kompetitif mengeluarkan patogen dari menempel pada epitel dan menjebak patogen melalui kontak fisik langsung. Ketiga, *Lactobacillus* dapat memodulasi respon imunologi atau inflamasi, mengurangi peradangan dengan menurunkan sitokin seperti IL-1 β . Keempat, *Lactobacillus* meningkatkan fungsi penghalang dengan menghasilkan laktat, yang meningkatkan viskositas lendir untuk membantu penjemakan virus dan mencegah virus menghancurkan DNA sel epitel. Asam deoksiribonukleat, atau DNA, adalah sejenis asam nukleat (Han et al., 2021).



Gambar 3. Mekanisme efek terapi memulihkan mikrobiota vagina yang didominasi *Lactobacillus* pada penyakit menular (Han et al., 2021)

2.2 *Streptococcus* Grup B (SGB)

Streptococcus Grup B (SGB) mengacu pada sekelompok strain *Streptococcus agalactiae* yang umumnya ditemukan sebagai bakteri komensal dalam mikrobiota vagina dan usus, tetapi juga merupakan penyebab utama sepsis neonatorum. Menurut Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), SGB menyebabkan 150.000 kelahiran mati dan kematian bayi secara global, meskipun efektivitas profilaksis antibiotik intrapartum atau *Intrapartum Antibiotic Prophylaxis* (IAP) (do Nascimento et al., 2019).

Rebecca Lancefield membedakan *Streptococcus agalactiae*, sekarang dikenal sebagai *Streptococcus* Grup B (SGB), dari streptokokus lain pada tahun 1930-an setelah diisolasi dari susu dan sapi yang menderita bovine mastitis. Patogenisitasnya pada manusia tidak dijelaskan sampai tahun 1938, ketika tiga contoh infeksi postpartum yang mematikan diterbitkan, ketika Lancefield menggambarkan kolonisasi SGB pada saluran vagina wanita tanpa gejala. Penyakit SGB invasif pada manusia tetap jarang sampai tahun 1960-an, ketika lebih banyak kasus infeksi invasif dewasa dan neonatus mulai muncul. Penyakit SGB invasif menjadi lebih umum, dan masih merupakan patogen serius pada bayi dan orang dewasa (Edwards & Baker, 2018).

Berdasarkan pada wilayah geografis, tingkat kolonisasi pada ibu hamil dengan SGB telah ditemukan di seluruh dunia. Sebuah Studi Kepustakaan *Cochrane* tentang efektivitas profilaksis antibiotik intrapartum untuk SGB diterbitkan pada tahun 2017. Tingkat kolonisasi ibu yang tercatat dalam penelitian ini bervariasi dari 6–36% di Eropa, 19–22% di Afrika, dan 14% di Amerika. Tingkat kolonisasi pada wanita tidak hamil juga bervariasi (do Nascimento et al., 2019). Berdasarkan polisakarida kapsular, *S. agalactiae* telah diklasifikasikan menjadi sembilan serotipe (Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII, dan VIII). Pada tahun 2007, serotipe kesepuluh (IX) diidentifikasi. Serotipe yang paling sering menyebabkan penyakit invasif pada individu tidak hamil di Amerika Serikat adalah kelompok V (29% pada 2005–2006), diikuti oleh serotipe Ia, II, dan III. Dari tahun 2003 hingga 2013, penelitian serotipe yang terkait dengan penyakit SGB invasif di Alberta, Kanada, menemukan bahwa serotipe III adalah yang paling umum (20%), diikuti oleh serotipe V (19%), Ia (19%), Ib (13%), dan II (Slotved et al., 2021). Serotipe penyebab penyakit bervariasi menurut wilayah dan antara isolat invasif dan kolonisasi. Insiden global penyakit SGB invasif sistemik pada wanita hamil diperkirakan 38 kasus per 100.000 kehamilan, dengan tingkat kematian 0,2% kasus. Serotipe Ia dan III menyebabkan lebih dari setengah penyakit SGB sistemik ibu, dengan serotipe V, Ib, dan II mengikuti setelahnya (Cho et al., 2019).

Kehamilan telah dikaitkan dengan peningkatan risiko penyakit SGB invasif. Dalam sebuah studi multinegara yang dilakukan antara 2007 dan 2009, insiden penyakit invasif terkait SGB dua kali lebih tinggi pada wanita hamil (4 per 100.000 wanita per tahun) seperti pada wanita tidak hamil (2 per 100.000 wanita per tahun). Terlepas dari kenyataan bahwa sebagian besar infeksi SGB

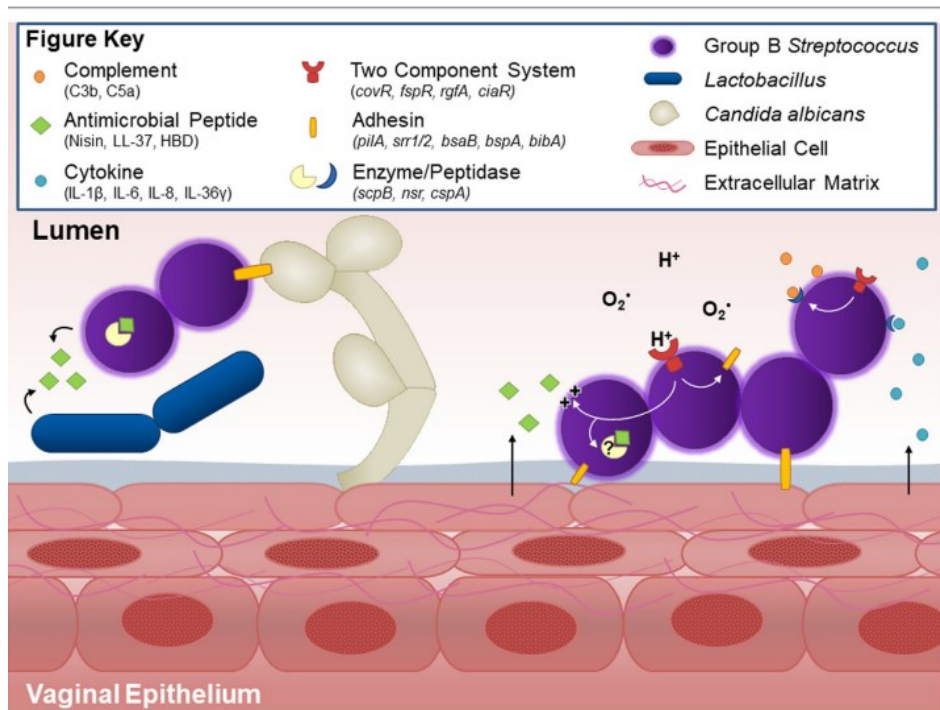
ditemukan selama persalinan dan melahirkan, wanita pada periode *postpartum* berada pada peningkatan risiko mengembangkan penyakit SGB invasif, bahkan jika tidak ada faktor risiko lain (Edwards & Baker, 2018).

Wanita hamil yang telah terinfeksi SGB berkisar antara 3% hingga 41% di seluruh dunia. Di Amerika Serikat, kejadian penyakit SGB invasif ibu bervariasi menurut negara, mulai dari 0,1 per 1.000 persalinan hingga 0,8 per 1.000 kehamilan (Hayati, 2017). Studi di Brazil, tingkat kolonisasi berkisar antara 5% hingga 25%. Kolonisasi SGB bisa bersifat sementara, persisten, atau intermiten. Terlepas dari metode kelahiran (vaginal atau caesar), 50% neonatus yang lahir dari ibu yang terkolonisasi menjadi terkolonisasi juga pada bayi. Infeksi SGB mungkin terjadi pada 2% bayi yang terkolonisasi. Gejala infeksi parah berkembang dalam 72 jam pertama kehidupan, dengan 85% kasus menunjukkan tanda-tanda dalam 24 jam pertama. Tingkat transfer SGB dari ibu ke neonatus bervariasi di seluruh dunia, tergantung pada teknik profilaksis yang digunakan, dan laporan menunjukkan tingkat kejadian sebesar 53 per 100.000 kelahiran hidup (Edmond et al., 2012).

Pusat Pengendalian dan Pencegahan Penyakit (CDC) merilis seperangkat pedoman pada tahun 2010, yang mencakup rekomendasi untuk skrining SGB dan profilaksis intrapartum (Cagno et al., 2012). Untuk membangun kolonisasi vagina yang persisten atau intermiten, SGB menggunakan banyak adhesin dan mekanisme respons stres, serta pertahanan terhadap bakteri lain dan teknik penghindaran imun. SGB memperoleh akses ke pejamu baru, neonatus dengan defisiensi imun, selama periode peripartum, di mana ia dapat bertindak sebagai organisme komensal atau berubah menjadi patogen invasif, menyebabkan sepsis atau meningitis. SGB memiliki patogenisitas yang mencakup toksin hemolitik yang kuat dan berbagai protein permukaan yang memungkinkannya menembus jaringan inang, serta mimikri molekuler dan protease yang menggagalkan deteksi dan respons imun inang (Patras & Nizet, 2018).

Kolonisasi vagina *Streptococcus* Grup B dipengaruhi oleh variabel *host* dan bakteri. Dapat dilihat pada gambar 4, SGB berinteraksi dengan bakteri vagina lainnya di dalam saluran vagina. *Lactobacillus* dan SGB memiliki aktivitas antagonis terhadap satu sama lain, kemungkinan besar karena sintesis peptida antimikroba dan kompetisi mikroba. SGB menciptakan pertahanan seperti

protease NSR, yang menghancurkan antibiotik *Nisin Lactococcus* (Patras & Nizet, 2018).



Gambar 4. Kolonisasi *Streptococcus* grup B (SGB) pada vagina (Patras & Nizet, 2018)

Adhesi adalah tahap pertama dan terpenting dalam kolonisasi SGB. Bakteri SGB mengikat protein matriks ekstraseluler dan sel epitel usus besar dan saluran genital, menghasilkan pembentukan biofilm. Faktor adhesi diekspresikan pada permukaan bakteri dan memungkinkan SGB untuk mengikat protein matriks ekstraseluler dan sel epitel usus besar dan saluran genital, menghasilkan pembentukan biofilm. Invasi juga dapat difasilitasi oleh faktor adhesi, yang memecahkan membran sel epitel atau memodulasi sitoskeleton epitel dan perakitan protein *junctional*, memungkinkan translokasi paraseluler. Perlekatan ke matriks ekstraseluler dimediasi oleh dua faktor adhesi. Protein pengikat Fibrinogen I dan protein pengikat laminin (ii) dinamai menurut ligan khusus (Lmb). Sementara protein pengikat fibrinogen A (FbsA) mempromosikan adhesi, sedangkan invasi SGB dimediasi oleh protein pengikat fibrinogen B (FbsB). Baik fibrinogen yang tidak bergerak maupun yang larut akan berikatan dengan FbsA dan FbsB. Translokasi SGB melintasi epitel usus dan sawar darah otak tampaknya bergantung pada adhesi bakteri ke matriks ekstraseluler melalui Lmb. BsaB, adhesin permukaan SGB, juga berikatan dengan fibronektin. Namun,

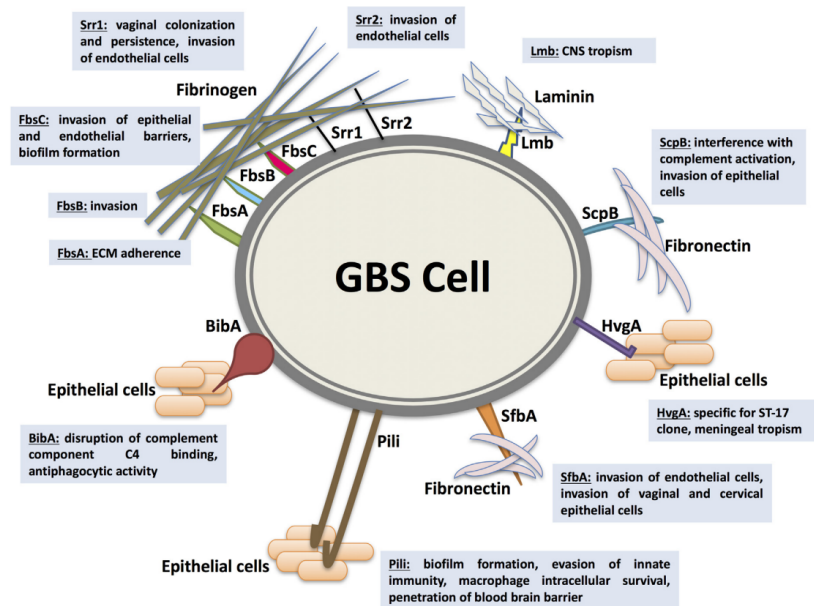
masih belum jelas apakah BsaB berkontribusi pada invasi SGB atau mendukung kolonisasi SGB melalui tindakan peningkatan biofilmnya (Landwehr-Kenzel & Henneke, 2014). Gambar 5 menunjukkan berbagai faktor virulensi dari proses transisi SGB yang berkolonisasi hingga menjadi penyakit invasif.

Virulence factor	Colonization	Adhesion	Invasion	Immune evasion	Neurotropism
Fibrinogen binding protein A (FbsA)	+	+			
Fibrinogen binding protein B (FbsB)			+		
Laminin binding protein (Lmb)			+		+
GBS surface adhesion (BsaB)	+	+	(+)		
Alpha C proteins (ACP)	+	+	+	+	
Serine rich repeat proteins (Srr)	+	+	+		
Pili	+	+	+	+	+
Hypervirulent GBS adhesin (HvgA)	+	+	+	(+)	+
β -hemolysin/cytolysin (β -H/C)	+	+	+	+	+
Capsular polysaccharides (CPS)				+	
Streptococcal C5a peptidase of GBS (ScpB)				+	
GBS immunogenic bacteria adhesion (BibA)				+	
Factor H				+	
IgA-binding beta-antigen				+	
D-alanylation				+	
Superoxide dismutase (SodA)				+	

Gambar 5. Faktor virulensi SGB dengan transisi kolonisasi menjadi penyakit invasif (Landwehr-Kenzel & Henneke, 2014)

Selanjutnya adalah *famili protein Alpha C*, yang dikodekan oleh gen *bca* (grup B, protein C alpha) dan diekspresikan pada sebagian besar strain serotipe Ia, Ib, dan II, adalah kelompok pertama dari faktor adhesi yang mengandung LPxTG. Faktor virulensi β -hemolysin/cytolysin (β -H/C) memfasilitasi translokasi SGB melalui penghalang epitel. β -H/C menyebabkan sel eukariotik lisis dan mendorong penetrasi bakteri melalui penghalang epitel dan endotel, termasuk penghalang darah-otak. Terlepas dari pendakian bakteri, β -H/C menyebabkan peradangan plasenta dan kelahiran prematur pada tikus. Model pneumonia, sepsis, dan meningitis *in vivo*, SGB defisiensi β -H/C telah menurunkan patogenisitas. Namun, pada makrofag yang terinfeksi SGB, β -H/C merangsang ekspresi sitokin anti-inflamasi IL-10 dan menekan ekspresi IL-12 dan NOS2 pada dosis sublitik. Akibatnya, tingkat ekspresi β -H/C tampaknya memutuskan apakah SGB mempertahankan ceruknya untuk memungkinkan kolonisasi atau menjadi invasif. Dalam beberapa kondisi, toksin pembentuk pori dan faktor CAMP co-

hemolisin juga dapat berperan dalam patogenesis SGB (Landwehr-Kenzel & Henneke, 2014). Beberapa faktor virulensi SGB dan mekanismenya tercantum pada Gambar 5.



Gambar 6. Protein matriks ekstraseluler SGB (Shabayek & Spellerberg, 2018)

Kemampuan SGB melawan sistem pertahanan tubuh inang dan protein matriks ekstraseluler inang mempengaruhi kolonisasi SGB, persistensi, translokasi, dan daya hambat inang. Bakteri SGB memiliki pili yang mendorong kolonisasi SGB, persistensi, produksi biofilm, dan invasi sistem saraf pusat. Protein yang memediasi perlekatan dan invasi SGB dengan sel inang yaitu protein pengikat fibrinogen (Fbs), protein pengikat laminin (Lmb), *Streptococcus* Grup B C5a peptidase (ScpB), protein pengikat fibronektin *Streptococcus* A (SfbA), SGB imunogenik adhesin bakteri (BibA), dan adhesin hipervirulen (HvgA) (Gambar 6).

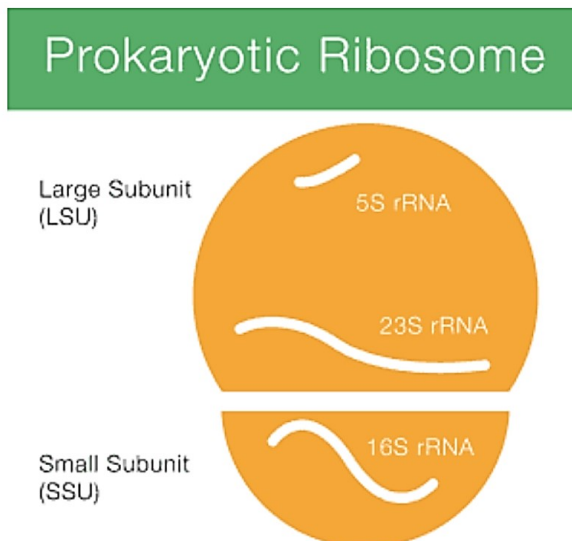
Protein pengikat fibrinogen (Fbs) terdiri dari FbsA, FbsB, Srr1, Srr2, dan FbsC. FbsA berperan dalam perlekatan SGB ke inang, FbsB berperan dalam invasi sel manusia, dan FbsC berperan dalam mendorong invasi penghalang epitel dan endotel, dan pembentukan biofilm. Srr1 berperan dalam kolonisasi dan persistensi vagina dan invasi sel endotel, sedangkan Srr2 berperan dalam mediasi invasi sel endotel mikrovaskular. Lmb berperan dalam tropisme bakteri dari sistem saraf pusat. ScpB berperan dalam mengintrupsi aktivasi komplemen melalui pembelahan neutrofil kemoatraktan C5a dan invasi sel manusia. SfbA

terlibat dalam invasi sel endotel mikrovaskular otak manusia dan berkontribusi pada invasi SGB ke sel epitel vagina dan serviks. BibA berperan dalam kelangsungan hidup SGB dalam darah manusia dengan mengganggu jalur komplemen klasik dengan mengikat C4BP dan memberikan aktivitas antifagosit terhadap pertumbuhan opsonifagositik oleh neutrofil. HvgA bertugas untuk klon hipervirulen (Shabayek & Spellerberg, 2018).

Toksin SGB dapat merusak sel dan memediasi pelepasan nutrisi selama kolonisasi. Toksin SGB yaitu β -hemolisis dan faktor CAMP (Tettelin et al., 2002). Hemolisis SGB dikodekan oleh lokus silinder yang terlibat dalam cedera sel epitel paru, hipertensi paru neonatus, syok septik, dan invasi sel. Hemolisis SGB terdiri dari hemolisin A, hemolisin III, dan prekursor hemolisin. Faktor CAMP yang dihasilkan SGB mengalami oligomerisasi bertujuan untuk membentuk pori-pori dalam sel inang. Semua SGB mengandung gen *cfb*, yang mengkode faktor CAMP, *cfb* adalah salah satu protein yang bertanggung jawab atas virulensi organisme, *cfb* akan mengkode sitokin pembentuk pori pada SGB. Deteksi gen *cfb* dalam spesimen klinis dapat membantu mengidentifikasi keberadaan SGB khususnya *S. agalactiae* sebagai agen infeksi (Herbert et al., 2004).

2.3 Gen 16S rRNA SGB

Gen 16S rRNA adalah singkatan dari 16S *ribosomal ribonucleic acid* (rRNA), dengan S (Svedberg) adalah satuan ukuran (laju sedimentasi). rRNA ini merupakan konstituen penting dari subunit kecil (SSU) ribosom prokariotik serta mitokondria dan kloroplas. Gambar 7 menampilkan bagaimana 16S rRNA terlibat dalam ribosom prokariotik. Gen 16S rRNA merupakan pilihan karena gen ini terdapat pada semua prokariota dan memiliki bagian atau sekuen konservatif dan sekuen lainnya yang sangat bervariasi. Penggunaan gen 16S rRNA telah digunakan sebagai parameter sistematik molekular yang universal, representatif, dan praktis untuk mengonstruksi kekerabatan filogenetik pada tingkat spesies (Rinanda, 2011).



Gambar 7. Gen 16S rRNA

Gen 16S rRNA dipilih sebagai molekul DNA *barcode* dalam taksonomi molekuler karena bersifat ubikuistik dan berisi informasi filogenetik yang cukup. Gen 16S rRNA bersifat ubikuistik, jika tidak, kita tidak dapat memasukkan pada semua organisme. Semua anggota bakteri dan *archaea* diketahui memiliki gen 16S. Selain itu, 16S rRNA harus berisi informasi filogenetik yang cukup. Gen 16S panjangnya sekitar 1.500 bp, yang tidak terlalu pendek atau panjang. Variasi genetik dalam gen 16S yang ditemukan di antara prokariota cukup untuk digunakan dalam analisis filogenetik untuk rentang taksonomi yang luas (Johnson et al., 2019).

Laboratorium sering kali perlu bergantung pada tes genomik lain untuk mengidentifikasi organisme secara langsung dari spesimen klinis ketika pertumbuhan pada media kultur tidak memungkinkan. *Long-Range* PCR dan *Next Generation Sequencing* adalah contoh teknologi yang dapat diakses, tetapi penggunaannya dibatasi karena biayanya yang tinggi dan ketersediaannya yang terbatas di luar laboratorium rujukan tersier. Di laboratorium dengan pengalaman yang relevan dalam mikrobiologi molekuler dan pengetahuan tentang bioinformatika, *Long-Range* PCR 16S rRNA semakin mudah diakses dan biasanya cepat dan mudah dilakukan (Akram et al., 2017).

Selama dua dekade terakhir, teknologi genetik molekuler telah diterapkan untuk patogen yang akurat. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) gen 16S ribosomal RNA (rRNA) dengan jangkauan luas digunakan untuk mendeteksi dan mengidentifikasi patogen bakteri dalam spesimen klinis. Menurut studi

sebelumnya, PCR gen 16S rRNA rentang luas sangat cocok untuk bakteri yang sulit dikultur seperti *Mycobacterium genavense*, *Tropheryma whipplei*, *Ehrlichia chaffeensis*, dan *Coxiella burnetii*. Termasuk bakteri *Streptococcus* Grup B (SGB), atau disebut juga *Streptococcus agalactiae*.

Spesimen klinis dari pasien dengan kemungkinan infeksi yang tinggi menjadi sasaran PCR gen 16S ribosomal RNA (rRNA) untuk mendeteksi dan mengidentifikasi patogen bakteri. Studi yang dilakukan oleh Rampini et al, menelaah kinerja diagnostik PCR gen 16S rRNA yang dibandingkan dengan bakteri dengan metode kultur rutin. Kemudian menilai dampak dan nilai klinis dari *Long-range* PCR untuk diagnosis infeksi akut menggunakan sampel yang dinyatakan negatif oleh kultur bakteri rutin. Sensitivitas diagnostik dan spesifisitas PCR rentang luas pada 394 spesimen dibandingkan dengan kultur bakteri rutin. Studi tersebut menemukan bahwa kesesuaian antara PCR gen 16S rRNA dan kultur adalah >90%. Sensitivitas PCR adalah 81,9% dan spesifisitas 93,8% (Rampini et al., 2011).

2.4 Polymerase Chain Reaction (PCR)

Polymerase Chain Reaction adalah metode yang pertama kali dikenalkan oleh Kary Mullis pada tahun 1980-an. Kapasitas DNA polimerase untuk membuat untaian DNA baru yang melengkapi untaian templat yang disediakan adalah dasar dari PCR. Polimerase DNA memerlukan primer yang dapat menambahkan nukleotida pertama karena hanya dapat menambahkan nukleotida pada gugus 3'-OH yang sudah ada. Prasyarat ini memungkinkan peneliti untuk mengidentifikasi area tertentu dari urutan template yang ingin mereka tingkatkan. Urutan spesifik akan terkumpul dalam miliaran salinan pada akhir reaksi PCR (amplikon). Prosesnya terdiri dari tiga, yaitu Denaturasi, *Annealing*, dan Ekstensi. Gambar 8 secara umum menunjukkan komponen dan proses dalam melakukan metode PCR.

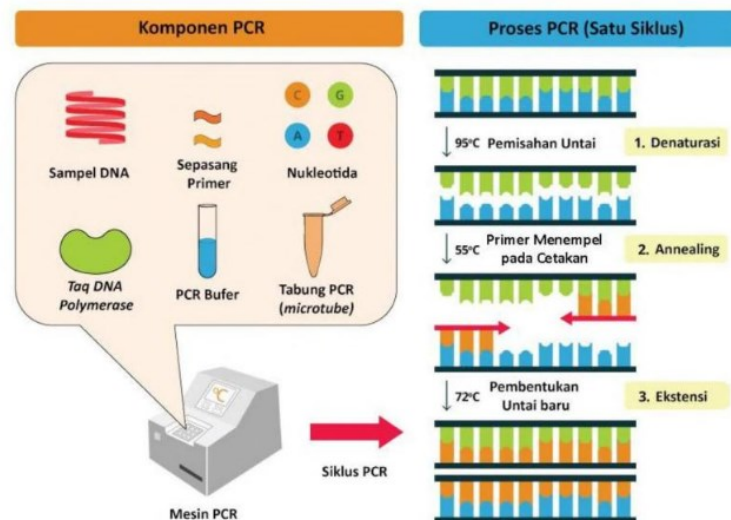
Ada tiga tahapan penting dalam proses PCR yang selalu terulang dalam 30- 40 siklus dan berlangsung dengan cepat:

- 1) **Denaturasi** – Di dalam proses PCR, denaturasi awal dilakukan sebelum enzim Taq polimerase ditambahkan ke dalam tabung reaksi. Denaturasi DNA merupakan proses pembukaan DNA untai ganda menjadi DNA untai tunggal. Ini biasanya berlangsung sekitar 3 menit, untuk meyakinkan bahwa molekul DNA terdenaturasi menjadi DNA untai tunggal. Denaturasi

yang tidak lengkap mengakibatkan DNA mengalami renaturasi (membentuk DNA untai ganda lagi) secara cepat, dan ini mengakibatkan gagalnya proses PCR. Adapun waktu denaturasi yang terlalu lama dapat mengurangi aktifitas enzim Taq polymerase. Aktifitas enzim tersebut mempunyai waktu paruh lebih dari 2 jam, 40 menit, 5 menit masing-masing pada suhu 92,5; 95 dan 97,5°C.

- 2) **Annealing (penempelan primer)** – Kriteria yang umum digunakan untuk merancang primer yang baik adalah bahwa primer sebaiknya berukuran 18–25 basa, mengandung 50–60% G+C dan untuk kedua primer tersebut sebaiknya sama. Sekuens DNA dalam masing-masing primer itu sendiri juga sebaiknya tidak saling berkomplemen, karena hal ini akan mengakibatkan terbentuknya struktur sekunder pada primer tersebut dan mengurangi efisiensi PCR. Waktu *annealing* yang biasa digunakan dalam PCR adalah 30–45 detik. Semakin panjang ukuran primer, semakin tinggi temperaturnya. Kisaran temperatur penempelan yang digunakan adalah antara 36°C sampai dengan 72°C, namun suhu yang umum diaplikasikan ialah antara 50–60°C.
- 3) **Pemanjangan Primer (Extention)** – Selama tahap ini Taq polymerase memulai aktivitasnya memperpanjang DNA primer dari ujung 3'. Kecepatan penyusunan nukleotida oleh enzim tersebut pada suhu 72°C diperkirakan 35–100 nukleotida per detik, bergantung pada buffer, pH, konsentrasi garam dan molekul DNA target. Dengan demikian untuk produk PCR dengan panjang 2.000 bp, waktu 1 menit sudah lebih dari cukup untuk tahap perpanjangan primer ini. Biasanya di akhir siklus PCR waktu yang digunakan untuk tahap ini diperpanjang sampai 5 menit sehingga seluruh produk PCR diharapkan terbentuk DNA untai ganda (Yusuf et al., 2019).

Metode PCR memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi, cepat, akurat, efisien, dan dapat mengidentifikasi berbagai macam bakteri. Jika dibandingkan dengan kultur, tes diagnostik molekuler menggunakan metode PCR memiliki sensitivitas yang tinggi. Karena biayanya yang mahal, metode PCR jarang digunakan di rumah sakit umum meskipun metode ini merupakan standar emas untuk mendiagnosis bakteremia dengan sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi (Koentjoro. et al., 2021).



Gambar 8. Komponen dan proses PCR

2.5 Elektroforesis

Elektroforesis adalah teknik yang digunakan untuk memisahkan asam nukleat. Untuk isolasi dan manipulasi fragmen DNA hasil kloning, elektroforesis asam nukleat sering digunakan di laboratorium. Teknik ini adalah bagian penting dari berbagai prosedur biologi molekuler yang mengevaluasi fungsi dan interaksi asam nukleat dalam sel dan jaringan. Di era DNA *sequencing*, elektroforesis asam nukleat telah mendapatkan banyak arti penting. Praktik elektroforesis asam nukleat telah berkembang untuk memenuhi persyaratan ini karena kecepatan dan keakuratan analisis asam nukleat sangat penting untuk kepentingan ilmiah (Roth, 2005).

Elektroforesis gel agarosa sering digunakan dalam elektroforesis DNA. Sebagai contoh, elektroforesis DNA digunakan untuk memeriksa segmen DNA yang dihilangkan oleh enzim restriksi. Membuat gel agarosa, yang merupakan zat semi-padat berupa polisakarida yang diekstrak dari rumput laut, memungkinkan seseorang untuk mengidentifikasi fragmen untai DNA yang telah dipecah menjadi beberapa bagian. Agarosa dilarutkan dalam pengencer untuk membuat gel. Gel agarosa dipanaskan hingga menjadi cair sehingga dapat dengan mudah dituangkan ke wadahnya. Kemudian, sebelum gel mendingin, sebuah lubang dibuat dengan menggunakan Perspex yang menyerupai sisir dan ditempelkan pada salah satu ujung gel yang masih cair untuk membantu pelarutan. Sehingga ketika gel memadat, terbentuklah sumuran-sumuran kecil. Kedalam sumuran inilah nantinya molekul DNA dimasukkan (Yuwono T, 2005).

Hasilnya akan memberikan rekam jejak berupa pita-pita pemisahan senyawa. Kecepatan gerak molekul tergantung pada nisbah (rasio) muatan terhadap massanya, serta tergantung pula pada bentuk molekulnya (Harahap, 2018).

2.6 Terapi pada Infeksi SGB

Terapi empiris antibiotik yang biasanya digunakan menurut Pedoman SSC 2016 menekankan pentingnya memulai terapi empiris menggunakan antibiotik spektrum luas intravena sesegera mungkin dan dalam waktu 1 jam setelah diagnosis. Terapi kombinasi menggunakan kelas antimikroba yang unik direkomendasikan untuk syok septik, dengan hati-hati untuk menargetkan semua kemungkinan patogen. Setelah menginfeksi organisme diidentifikasi dengan sensitivitas dan perbaikan klinis yang memadai dicatat, antibiotik harus dipersempit. Dua rejimen kombinasi yang efektif untuk terapi empiris untuk sebagian besar sepsis ibu termasuk Ampicillin, Gentamicin dan Clindamycin atau Piperacillin/Tazobactam dan Vancomycin (Asghar et al., 2020).

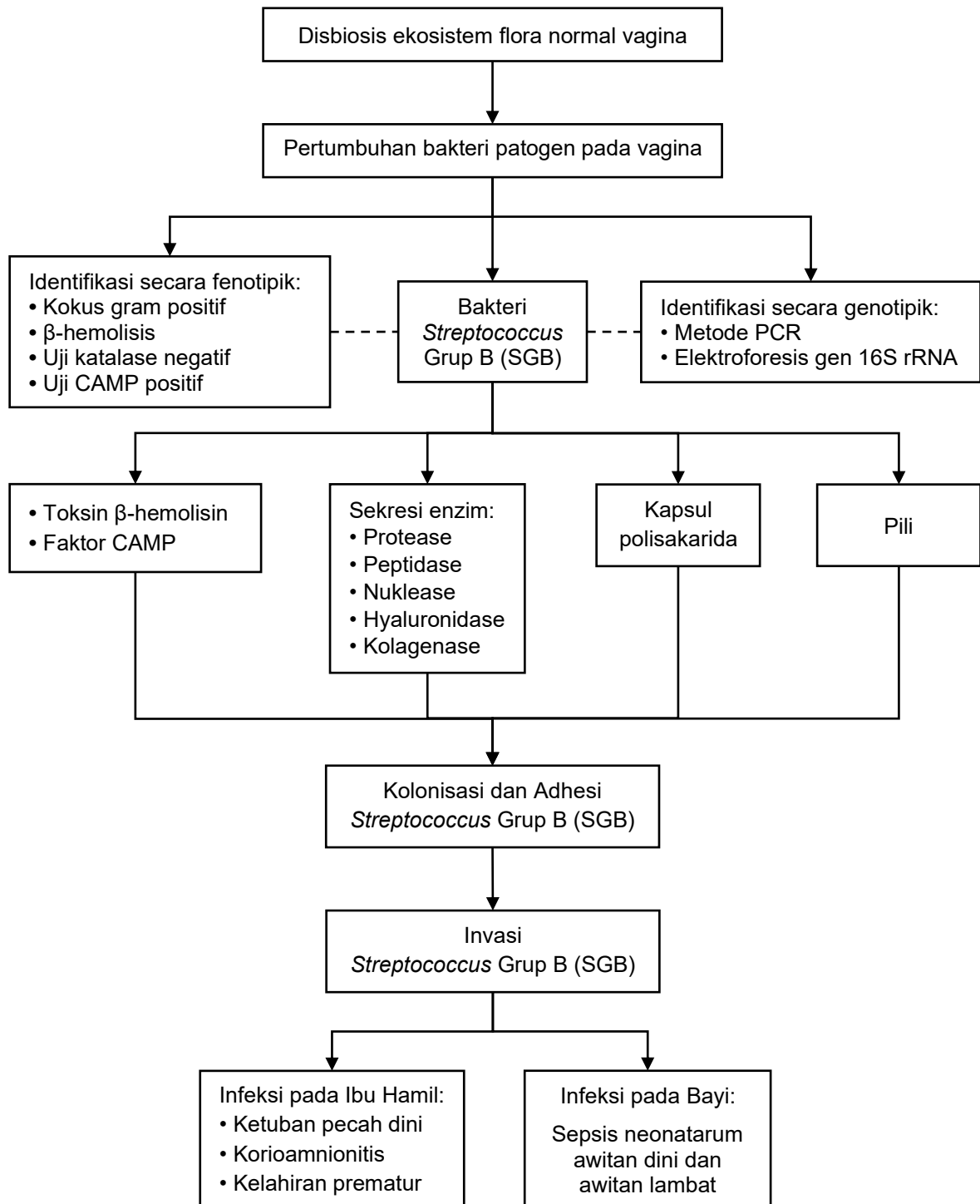
Strategi yang dapat dilakukan untuk mencegah penyakit SGB perinatal adalah dengan penggunaan *Intrapartum Antibiotic Prophylaxis* (IAP). Antibiotika yang dianjurkan sebagai profilaksis infeksi SGB adalah ampisilin intravena intrapartum (2 gram inisial, kemudian dilanjutkan 1–2 gram setiap 4–6 jam) atau penisilin G 5 juta unit setiap 6 jam sampai melahirkan (WHO, 2015). Selain ampisilin, gentamisin diberikan pada wanita dengan korioamnionitis dengan dosis awal 120 mg, diikuti 80 mg intravena setiap 8 jam. Klindamisin diberikan dengan dosis 900 mg intravena setiap 8 jam pada wanita yang memiliki riwayat alergi antibiotik beta-laktam. Prosedur telah terbukti sangat meminimalkan infeksi SGB pada tahap awal (Tran et al., 2021).

Antibiotik yang paling umum digunakan adalah carbapenem spektrum luas (seperti meropenem, imipenem/cilastatin, atau doripenem) atau kombinasi inhibitor spektrum luas penisilin/beta-laktamase (seperti piperacillin/tazobactam atau ticarcillin/clavulanate). Beberapa sefalosporin generasi ketiga atau lebih tinggi juga dapat digunakan, terutama dalam kombinasi dengan antibiotik lain. Manajemen antibiotik dalam de-eskalasi antibiotik yang disesuaikan dengan patogen individu sangat dianjurkan oleh kampanye sepsis yang bertahan untuk mencegah resistensi obat. Durasi antibiotik terbaik masih diperdebatkan, dan hanya beberapa uji coba terkontrol secara acak prospektif yang telah dilakukan. Standar untuk bertahan hidup sepsis menunjukkan 7–10 hari (Fan et al., 2020).

Organisme patogen dapat mengembangkan resistensi antibiotik melalui berbagai mekanisme, antara lain produksi enzim yang merusak daya kerja antibiotik spesifik, perubahan permeabilitas organisme terhadap antibiotik spesifik, perubahan lokus spesifik pada sel organisme target antibiotik, perubahan di jalur metabolisme tindakan antibiotik target, dan perubahan enzimatik yang memungkinkan organisme untuk bertahan hidup sementara menjadi kurang sensitif terhadap antibiotik. Beberapa bakteri dapat membuat enzim beta-laktamase berbahaya, yang memecah cincin beta-laktam antibiotik seperti penisilin. Plasmid memainkan peran penting dalam proses ini karena mereka terlibat dalam produksi enzim yang memungkinkan antibiotik untuk secara aktif diangkut melintasi membran sel. Enzim lain yang dapat dibuat oleh mikroorganisme patogen termasuk adenilase, fosforilase, dan asetilase untuk antibiotik aminoglikosida seperti *Streptococcus*. Semua isolat SGB diuji sensitif terhadap penisilin, ampisilin, dan vankomisin; namun, banyak yang sangat resisten terhadap eritromisin (70,9%), klindamisin (64,0%), dan tetrasiklin (88,4%) (Landwehr-Kenzel & Henneke, 2014).

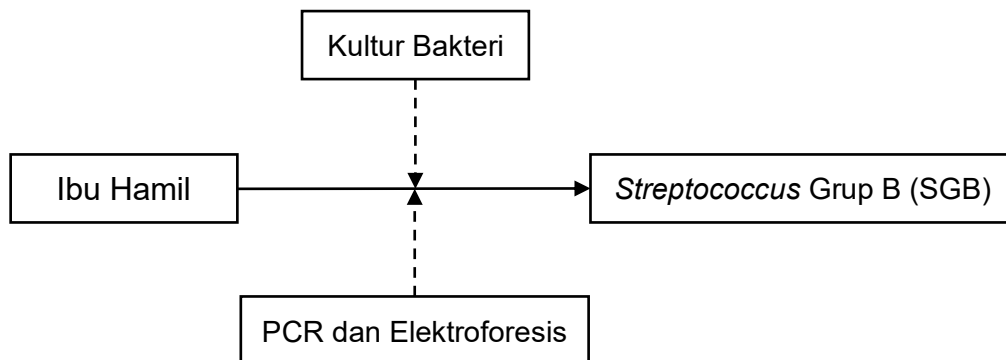
Pada studi yang dilakukan oleh Tran et al. pada tahun 2014 mengungkapkan hasil angka SGB positif pada ibu hamil adalah 16,3%. Tingkat resistensi antibiotik pada sampel SGB-positif yang dianalisis adalah sebagai berikut: Vankomisin (resisten 18,2%, sensitif 81,8%); Cefazolin (resisten 30,3%, sensitif 69,7%); Eritromisin (resisten 24,2%, intermediat 9,1%, sensitif 63,7 %); Clindamycin (resisten 63,7%, intermediat 3% dan sensitif 33,3%), dan Ampisilin (resisten 87,9%, sensitif 12,1%). Di Vietnam, antibiotik profilaksis untuk pencegahan infeksi pada wanita hamil dengan SGB positif termasuk Cefazolin dan Vancomycin. Studi tersebut menyimpulkan bahwa wanita hamil harus diuji untuk infeksi SGB, idealnya antara minggu 35 dan 37 kehamilan. Selama persalinan, antibiotik seperti Cefazolin dan Vancomycin paling efektif untuk mencegah infeksi (Tran et al., 2021).

2.7 Kerangka Teori



Gambar 9. Bagan kerangka teori

2.8 Kerangka Konsep



Gambar 10. Bagan kerangka konsep

2.9 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Terdapat bakteri SGB pada ibu hamil dengan metode kultur
2. Terdapat bakteri SGB pada ibu hamil dengan metode PCR