

**SENSITIVITAS DAN SPESIFISITAS AMPLIFIKASI ASAM  
NUKLEAT TES PCR DALAM MENGIDENTIFIKASI BAKTERI  
STREPTOCOCCUS GRUP B PADA WANITA HAMIL DI  
PUSKESMAS KOTA MAKASSAR**

**MAYABI PRATIKA**

**P062202023**



**SEKOLAH PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2023**

**HALAMAN JUDUL**

**SENSITIVITAS DAN SPESIFISITAS AMPLIFIKASI ASAM  
NUKLEAT TES PCR DALAM MENGIDENTIFIKASI BAKTERI  
STREPTOCOCCUS GRUP B PADA WANITA HAMIL DI  
PUSKESMAS KOTA MAKASSAR**

The Sensitivity and The Specificity of Nucleic Acid Amplification Test PCR  
in Identification of Group B Streptococcus Bacteria Among Pregnant  
Women at A Public Health Center in Makassar

**MAYABI PRATIKA**

**P062202023**



**SEKOLAH PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2023**

**HALAMAN PENGANTAR**

**SENSITIVITAS DAN SPESIFISITAS AMPLIFIKASI ASAM  
NUKLEAT TES PCR DALAM MENGIDENTIFIKASI BAKTERI  
STREPTOCOCCUS GRUP B PADA WANITA HAMIL DI  
PUSKESMAS KOTA MAKASSAR**

Tesis

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Ilmu Biomedik

Disusun dan diajukan oleh

MAYABI PRATIKA

P062202023

Kepada

**SEKOLAH PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2023**

**LEMBAR PENGESAHAN TESIS**

**SENSITIVITAS DAN SPESIFISITAS AMPLIFIKASI ASAM NUKLEAT TES PCR  
DALAM MENGIDENTIFIKASI BAKTERI STREPTOCOCCUS GRUP B PADA  
WANITA HAMIL DI PUSKESMAS KOTA MAKASSAR**

Disusun dan diajukan oleh

**MAYABI PRATIKA  
P062202023**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Magister Ilmu Biomedik  
Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin  
Pada tanggal 24 Februari 2023  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama

Prof. Dr. Mochammad Hatta, Ph.D., Sp.MK(K)  
NIP.1957041619850301001

Pembimbing Pendamping

dr. Firdaus Hamid, Ph.D., Sp.MK  
NIP. 1977123120021212002

Ketua Program Studi  
Magister Ilmu Biomedik

dr. Rahmawati, Ph.D., Sp.PD-KHOM., FINASIM  
NIP. 196802181999032002

Dekan Sekolah pascasarjana  
Universitas Hasanuddin



Prof. dr. Budu, Ph.D., Sp.M(K), M.Med.Ed  
NIP.196612311995031009


## PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "Sensitivitas dan Spesifisitas Amplifikasi Asam Nukleat Tes PCR dalam Mengidentifikasi Bakteri Streptococcus Grup B pada Wanita Hamil di Puskesmas Kota Makassar" adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K) sebagai pembimbing utama dan dr. Firdaus Hamid, Ph.D, Sp.MK sebagai pembimbing pendamping. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan dari penulis lain telah diterbitkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini. Sebagian dari isi tesis ini telah dipublikasikan di Jurnal Malaysian Journal of Microbiology sebagai artikel dengan judul "Identification of Group B Streptococcus Bacteria in Pregnant Women at the Public Health Center of Makassar Using Polymerase Chain Reaction Technique with Its Sensitivity and Specificity Tests".

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

Makassar, 24 Februari 2023



  
Mayabi Pratika

P062202023



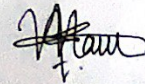
## UCAPAN TERIMA KASIH

Saya bersyukur bahwa tesis ini akhirnya dapat terselesaikan dengan baik. Penelitian yang saya lakukan dapat terlaksanakan dengan sukses dan tesis ini dapat terampungkan atas bimbingan, diskusi dan arahan Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K) sebagai pembimbing utama, dan dr. Firdaus Hamid, Ph.D, Sp.MK sebagai pembimbing pendamping. Saya mengucapkan berlimpah terima kasih kepada mereka. Penghargaan yang tinggi juga saya sampaikan kepada dr. Risna Wachyuni R. dan dr. Ria Adriani Amrulah yang telah menjadi penanggung jawab medis dalam pelaksanaan penelitian di lapangan. Tak lupa juga saya ucapkan banyak terima kasih kepada bapak Safri dan semua staf laboratorium yang telah banyak membantu kami pada saat penelitian di laboratorium HUM-RC FK Universitas Hasanuddin.

Kepada *partner* penelitian saya dr. Nur Irma safitri saya mengucapkan terima kasih atas bantuannya selama saya melakukan penelitian ini. Kepada Zainul Mutaqin dan dr. Muhammad Azron Junaedi yang telah banyak berkontribusi dalam pelaksanaan penelitian ini. Ucapan terima kasih juga saya ucapkan kepada pimpinan Universitas Hasanuddin dan Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin yang telah memfasilitasi saya menempuh program magister serta para dosen dan rekan rekan dalam tim penelitian.

Akhirnya, kepada kedua orang tua tercinta saya mengucapkan limpah terima kasih dan sembah sujud atas doa, pengorbanan dan motivasi mereka selama saya menempuh Pendidikan. Penghargaan yang besar juga saya sampaikan kepada semua keluarga dan teman teman atas motivasi dan dukungan yang tak ternilai.

Penulis,



Mayabi Pratika

## ABSTRAK

**MAYABI PRATIKA.** *Sensitivitas dan Spesifisitas Amplifikasi Asam Nukleat Tes PCR dalam Mengidentifikasi Bakteri Streptococcus Grup B pada Ibu Hamil di Puskesmas Kota Makassar* (dibimbing oleh **Mochammad Hatta** dan **Firdaus Hamid**).

Streptococcus Grup B (SGB) yang biasa disebut *Streptococcus agalactiae* masih menjadi masalah utama terutama pada ibu hamil yang dapat menyebabkan komplikasi berat seperti sepsis neonatorum. Sebanyak 26,3% pasien dengan komplikasi kehamilan di Indonesia mengalami kolonisasi SGB. Namun data mengenai infeksi SGB pada wanita hamil di Kota Makassar masih kurang. Saat ini pedoman CDC masih lebih memilih metode kultur bakteri sebagai standar emas untuk deteksi SGB. Mempertimbangkan fakta bahwa metode kultur membutuhkan waktu dan proses yang lama, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sensitivitas dan spesifisitas uji *polymerase chain reaction* (PCR) dalam identifikasi *streptococcus* grup B pada wanita hamil. Sebanyak 60 sampel swab vagina ibu hamil di Puskesmas Kota Makassar teridentifikasi dengan metode PCR. Tingkat sensitivitas dan spesifisitas ditentukan menggunakan gen *cfb* bakteri *S. agalactiae* sebagai target. Hasilnya menunjukkan bahwa ada 8,3% (5/60) sampel positif untuk *S. agalactiae*, dan hasil sekuensing menunjukkan homologi 98%-100% dengan *S. agalactiae*. Pengukuran sensitivitas menggunakan dilusi primer *cfb* dapat mendeteksi *S. agalactiae* hingga minimal  $10^3$  CFU/ml, dengan spesifisitas 100% (tidak ada mikroorganisme lain yang terdeteksi). Dengan demikian, identifikasi molekuler gen *cfb* menggunakan uji PCR memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi dalam identifikasi *S. agalactie* pada ibu hamil.

**Kata kunci:** *streptococcus agalactiae*, wanita hamil, PCR, spesifisitas, dan sensitivitas





## ABSTRACT

**MAYABI PRATIKA.** *The Sensitivity and the Specificity of Nucleic Acid Amplification Test PCR in Identification of Group B Streptococcus Bacteria Among Pregnant Women at A Public Health Center in Makassar.* (supervised by **Mochammad Hatta** and **Firdaus Hamid**).

Group B Streptococcus (GBS) commonly called *Streptococcus agalactiae* is still a major problem, especially in pregnant women, which can lead to severe complications such as neonatal sepsis. Despite up to 26.3% of patients with obstetric complications in Indonesia have GBS colonization. There is still lack of data available regarding GBS infection among pregnant women, particularly in the city of Makassar. Currently, CDC guidelines still prefer bacterial culture method as the gold standard for GBS detection. Considering the fact that culture method is laborious and time-consuming, this study aims to determine the sensitivity and the specificity of polymerase chain reaction (PCR) assay in identification of group B streptococcus among pregnant women. A total of 60 vaginal swab samples of pregnant women at the Makassar City Health Center were identified by PCR assay. The sensitivity and the specificity rates were determined using *S. agalactiae cfb* gene as a target. The results showed that there were 8.3% (5/60) samples positive for *S. agalactiae*, and a subsequent sequencing analysis showed 98%-100% homology with *S. agalactiae*. Sensitivity measurements using *cfb* primer dilution could detect *S. agalactiae* to as low as  $10^3$  CFU/ml, with 100% specificity (no other microorganism were detected). In conclusion, molecular identification of *cfb* gene using PCR assay has high sensitivity and specificity in identification of *S. agalactiae* among pregnant women.

**Keywords:** *streptococcus agalactiae, pregnant women, pcr, specificity, and sensitivity*





# DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGAJUAN .....	ii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS.....	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT .....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN, ISTILAH DAN LAMBANG.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	15
1.1 Latar Belakang.....	15
1.2 Rumusan Masalah.....	17
1.3 Tujuan Penelitian .....	17
1.3.1 Tujuan Umum .....	17
1.3.2 Tujuan Khusus .....	17
1.4 Manfaat Penelitian .....	18
1.4.1 Manfaat teoritis .....	18
1.4.2 Manfaat praktis .....	18
1.4.3 Manfaat klinis .....	18
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	19

2.1	<i>Streptococcus</i> Grup B.....	19
2.2.1	Karakteristik .....	19
2.2.2	Epidemiologi .....	20
2.2.3	Patogenesis .....	21
2.2.4	Deteksi gen <i>cfb</i> pada <i>Streptococcus</i> grup B.....	23
2.2	Infeksi <i>Streptococcus</i> grup B pada wanita hamil .....	24
2.3	<i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	27
2.4	Elektroforesis gel .....	30
BAB III KERANGKA PENELITIAN.....		31
3.1	Kerangka Teori .....	31
3.2	Kerangka Konsep .....	32
BAB IV METODE PENELITIAN .....		33
4.1	Rancangan Penelitian.....	33
4.2	Waktu dan Lokasi Penelitian .....	33
4.3	Variabel Penelitian.....	33
4.4	Definisi Oprasional.....	34
4.5	Populasi dan Sampel Penelitian.....	35
4.5.1	Populasi .....	35
4.5.2	Sampel .....	35
4.5.3	Teknik perhitungan jumlah sampel.....	36
4.6	Instrumen Pengumpulan Data.....	36
4.6.1	Alat .....	36
4.6.2	Bahan.....	37
4.7	Teknik Pengumpulan Data .....	37
4.7.1	Permintaan persetujuan.....	37
4.7.2	Metode pengumpulan sampel .....	37
4.7.3	Ekstraksi DNA dan amplifikasi PCR.....	38

4.7.4	Analisis hasil amplifikasi DNA .....	38
4.7.6	Uji sensitivitas dan spesifisitas PCR .....	39
4.8	Teknik pengolahan dan analisis data .....	39
4.9	Etika penelitian.....	40
4.10	Alur Penelitian.....	40
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....		41
4.1	Hasil Penelitian .....	41
4.1.1	Karakteristik subjek penelitian .....	41
4.1.2	Identifikasi bakteri <i>Streptococcus agalactiae</i> dengan PCR .....	41
4.1.4	Sensitivitas dan spesifisitas PCR (primer <i>cfb</i> ) .....	45
4.2	Pembahasan.....	47
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....		53
5.1	Kesimpulan .....	53
5.2	Saran.....	53
DAFTAR PUSTAKA .....		54
LAMPIRAN .....		60

## DAFTAR TABEL

Nomor urut	Halaman
1. Urutan primer gen target.....	38
2. Karakteristik sampel.....	41
3. Hasil PCR berdasarkan usia.....	42
4. Gejala Klinis wanita hamil positif SGB.....	43



## DAFTAR GAMBAR

Nomor urut	Halaman
1. Bakteri <i>Streptococcus agalactiae</i> .....	20
2. Protein matriks ekstraseluler SGB .....	22
3. Kolonisasi SGB di vagina.....	26
4. Komponen PCR .....	30
5. Hasil amplifikasi PCR bakteri <i>Streptococcus agalactiae</i> .....	42
6. Hasil Blast sampel kode M43.....	43
7. Hasil Blast sampel kode M48.....	44
8. Hasil Blast sampel M55.....	44
9. Hasil Blast sampel M57.....	45
10. Hasil Blast sampel M60.....	45
11. Uji sensitivitas PCR menggunakan isolat bakteri <i>S. agalactiae</i> .....	46
12. Uji spesifisitas PCR dengan gen target <i>cfb</i> .....	46

## DAFTAR LAMPIRAN

Nomor urut	Halaman
Lampiran 1. Formulir Persetujuan Setelah Penjelasan ( <i>Informed Consent</i> ) .....	60
Lampiran 2. Formulir Persetujuan Setelah Penjelasan .....	62
Lampiran 3. Data Kuisisioner Penelitian .....	64
Lampiran 4. Surat Persetujuan Komisi Etik .....	66

## DAFTAR SINGKATAN, ISTILAH DAN LAMBANG

Lambang/singkatan	Arti dan penjelasan
μ	Mikro
ml	Mililiter
CFU	Colony Forming Unit
bp	Base pair
SGB	Streptococcus Grup B
PCR	Polimerase Chain Reaction
DNA	Deoxyribonucleic Acid
dNTPs	Deoxynucleoside Triphosphates
A	Adenin
G	Guanin
T	Timin
C	Sitosin
Mg <sup>2+</sup>	Magnesium
RNA	Ribonucleic Acid
TBE	Tris Borate EDTA
PBS	Phosphate Buffer Saline
CAMP	Christie, Atkins, Munch-Peterson
WHO	World Health Organization
Fbs	Fibrinogen binding protein
ScpB	Streptococcal C5a peptidase
Cfb	Complement factor B
SfbA	streptococcal fibronectin binding protein A
atr	ATR Serine / Threonine Kinase
BibA	A novel immunogenetic bacteria adhesin
HvgA	Adhesin Hipervirulen
Lmb	Laminin Binding Protein
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
IgM	Imunoglobulin M
IgG	Imunoglobulin G
ssr	Surface Serine Rich

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

*Streptococcus* grup B (SGB) atau *Streptococcus agalactiae* adalah bakteri  $\beta$ -hemolitik Gram positif, berbentuk bulat, kecil, berwarna bening atau keputih-putihan, yang pertama kali diisolasi dari susu sapi dengan mastitis oleh Rebecca Lancefield pada tahun 1930an. Bakteri SGB pada umumnya ditemukan di vagina dan usus serta pembawa asimtomatik (Hayati, 2012); (Rosen et al., 2017); (Raabe & Shane, 2019). Bakteri SGB diakui sebagai patogen oportunistik yang menyebabkan penyakit pada wanita hamil, neonatus, bayi muda, dan orang dewasa. *Streptococcus* grup B menyebabkan penyakit invasif pada orang dewasa khususnya orang tua seperti bakteremia, infeksi kulit atau jaringan lunak, infeksi saluran kemih dan pneumonia (Navarro-Torné et al., 2021). Terdapat sepuluh serotipe SGB berdasarkan tipe polisakarida kapsuler yaitu Ia, Ib, dan II hingga IX. Polisakarida kapsuler tipe Ia, II, III, dan V bertanggung jawab atas 70% infeksi invasif dewasa di seluruh dunia. Sebaliknya, polisakarida kapsuler tipe III telah diidentifikasi sejak 1970-an terkait dengan infeksi neonatus dan tingkat kejadian saat ini lebih dari 60% (Vuillemin et al., 2021).

Infeksi *Streptococcus* grup B invasif yang tinggi dikaitkan dengan kehamilan. Pada wanita sehat, kolonisasi SGB tidak menimbulkan masalah, namun selama kehamilan terkadang dapat menyebabkan penyakit pada ibu dan bayi yang baru lahir (Edwards et al., 2011). Tingkat kolonisasi SGB di vagina berbeda tiap wanita, dengan persentase 0% hingga 36% dan dilaporkan pada vagina wanita yang aktif secara seksual lebih dari 20% (Pignanelli et al., 2015). Kasus infeksi SGB pada wanita hamil dua kali lebih tinggi dibandingkan dengan wanita yang tidak hamil (Doran & Nizet, 2004). Insiden penyakit SGB invasif pada wanita hamil diseluruh dunia mencapai 0,38 kasus per 1000 kehamilan dengan tingkat kematian 0,2%. Serotipe Ia dan III menyebabkan lebih dari setengah penyakit SGB sistemik pada wanita hamil dan diikuti dengan serotipe V, Ib, dan II. Penyakit sistemik SGB pada wanita hamil berpengaruh terhadap kelahiran prematur dan sepsis pada bayi (Hall et al., 2017). Wanita hamil dengan kolonisasi SGB dapat menurunkan



bakteri ke janin melalui vagina baik intrauteri atau selama kelahiran setelah ketuban pecah (Boyer, 1985). Infeksi SGB pada wanita hamil yang tidak ditangani merupakan penyebab utama pada infeksi neonatus yang dapat menyebabkan kematian atau gejala sisa jangka panjang (Edwards et al., 2011).

Identifikasi bakteri secara konvensional digunakan untuk menentukan keberadaan bakteri pada sampel. Gold standar yang dikeluarkan CDC untuk pemeriksaan SGB yaitu dengan menggunakan kultur. Kultur SGB membutuhkan waktu inkubasi sekitar 24-72 jam pada suhu 35-37°C dan dalam kondisi CO<sub>2</sub> 5%, pemeriksaan makroskopis, mikroskopis, Uji katalase dan Uji CAMP. Namun identifikasi dengan cara ini membutuhkan waktu yang lama, jumlah bakteri yang banyak, dan metode pembacaan hasil yang sering tidak tepat. Seiring dengan perkembangan teknologi, identifikasi bakteri dapat dilakukan dengan cepat dan tepat yaitu secara molekuler menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (Mousavi et al., 2016); (Rajalakshmi, 2017).

*Polymerase Chain Reaction* (PCR) adalah salah satu metode umum yang digunakan dalam biologi molekuler modern untuk mengidentifikasi bakteri SGB. Metode ini pertama kali dikembangkan oleh Kary Mullis pada tahun 1984. Metode PCR mengembangkan proses *in vitro* untuk mengamplifikasi DNA. Amplifikasi DNA pada PCR dapat dicapai jika menggunakan primer oligonukleotida yang disebut amplimers. Primer DNA berfungsi mengawali sintesis rantai DNA, umumnya primer yang digunakan pada PCR terdiri dari 20-30 nukleotida. Proses PCR terdiri dari tiga tahapan yaitu denaturasi, annealing dan extension (Shahzad et al., 2020). Kelebihan metode PCR yaitu dapat menghasilkan amplifikasi produk yang akurat, cepat, spesifik, dan hanya membutuhkan jumlah sampel yang sedikit. Metode ini dapat digunakan untuk mengatasi kelemahan identifikasi secara konvensional (Bakri et al., 2015).

Primer *cfb* adalah primer spesifik yang digunakan untuk deteksi gen *cfb* bakteri *S. agalactiae*. Gen ini memiliki ukuran ampikon 153 bp (Dmitriev A et al., 2002). Dalam penelitian sebelumnya gen ini memiliki tingkat sensitivitas yang tinggi dalam mendeteksi bakteri SGB (Mousavi et al., 2016)

Penelitian ini penting untuk mengidentifikasi keberadaan SGB pada wanita hamil dan sensitifitas serta spesifisitas PCR dalam mendeteksi bakteri SGB. Sejauh yang kami ketahui, data mengenai bakteri SGB pada wanita hamil di kota Makassar khususnya dalam lingkup puskesmas masih kurang. Metode amplifikasi menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) telah dilaporkan memiliki sensitivitas dan spesifisitas tinggi untuk mendeteksi gen dari organisme, dimana metode ini dapat diterapkan untuk identifikasi SGB. Oleh sebab itu maka penelitian terkait sensitivitas dan spesifisitas amplifikasi asam nukleat uji PCR dalam mengidentifikasi bakteri SGB pada wanita hamil di Puskesmas Kota Makassar perlu dilakukan.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang, yang menjadi rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Apakah metode PCR dapat mengidentifikasi bakteri *Streptococcus* grup B dari spesimen swab vagina wanita hamil?
2. Seberapa besar sensitivitas dan spesifisitas PCR dalam mendeteksi *Streptococcus* grup B menggunakan primer *cfb*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Mengidentifikasi bakteri *Streptococcus* Grup B pada wanita hamil di Puskesmas Kota Makassar dengan teknik PCR dan mengetahui sensitivitas dan spesifisitasnya

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengidentifikasi bakteri *Streptococcus* grup B dari spesimen swab vagina wanita hamil dengan teknik PCR
2. Mengetahui tingkat sensitivitas dan spesifisitas PCR dalam mendeteksi bakteri *Streptococcus* grup B

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### **1.4.1 Manfaat teoritis**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah terkait bakteri *Streptococcus* grup B yang diidentifikasi dengan teknik PCR dan sensitivitas serta spesifisitas PCR dalam mendeteksi bakteri *Streptococcus* grup B pada wanita hamil.

### **1.4.2 Manfaat praktis**

Manfaat praktis dari penelitian ini yaitu diharapkan dapat memberikan gambaran bagi pembaca mengenai identifikasi bakteri *Streptococcus* grup B dan sensitivitas serta spesifisitas PCR dalam mendeteksi bakteri *Streptococcus* grup B pada wanita hamil.

### **1.4.3 Manfaat klinis**

Manfaat klinis dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan evaluasi bagi para tenaga medis dalam menilai perkembangan bakteri *Streptococcus* grup B pada wanita hamil di puskesmas kota Makassar, dan menjadi bahan pertimbangan untuk metode identifikasi bakteri SGB pada wanita hamil.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 *Streptococcus* Grup B

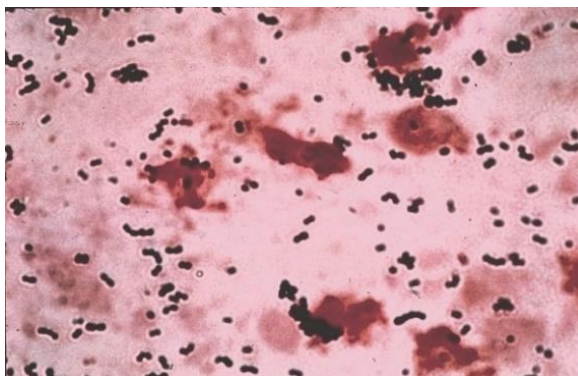
##### 2.2.1 Karakteristik

*Streptococcus* grup B (SGB) juga dikenal sebagai *Streptococcus agalactiae* adalah bakteri  $\beta$ -hemolitik Gram-positif yang menghasilkan hemolisis dengan diameter 1-2mm. Morfologi *S. agalactiae* yaitu berbentuk kokus membentuk rantai yang terdiri dari dua sel (diplokokus), berwarna bening atau keputih-putihan, dan berukuran kecil, katalase negatif, bakteri ini menghidrolisis natrium hipurat dan memberikan respon positif dalam tes CAMP (Christie, Atkins, Munch-Peterson) (Brooks et al., 2007); (Hayati, 2012).

*Streptococcus* grup B memiliki polisakarida kapsuler yang dicirikan oleh antigen Grup B Lancefield yang spesifik pada dinding sel (Maggioni et al., 1993). Rebecca Lancefield pertama kali membedakan spesies ini dari *Streptococcus* jenis lain tahun 1930an yang diisolasi dari susu dan sapi dengan mastitis (Lancefield, 1932). Bakteri ini adalah flora normal tubuh yang biasanya ditemukan di usus dan vagina namun juga bertindak sebagai patogen oportunistik, berkembang dari asimtomatik menjadi penyakit non invasif atau invasif (Rosen et al., 2017); (Shabayek & Spellerberg, 2018).

Serotipe *Streptococcus* grup B dibagi menjadi 10 serotipe berdasarkan polisakarida kapsuler yaitu Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, dan IX (Heard & Mawn, 1993). Serotipe penyebab penyakit bervariasi diberbagai wilayah dan berbeda menurut isolasi invasif dan kolonisasi. Studi di Kanada pada tahun 2003-2013 terkait penyakit SGB invasif menunjukkan serotipe yang paling sering muncul yaitu tipe III (20%), V (19%), Ia (19%), Ib (13%), dan II (11%) (Alhazmi et al., 2016). Di Amerika Serikat serotipe yang menyebabkan invasif pada tahun 2005-2006 umumnya adalah tipe V, Ia, II, dan III (Navarro-Torné et al., 2021).





Gambar 1. Bakteri *Streptococcus agalactiae* (CDC, 2002)

### 2.2.2 Epidemiologi

*Streptococcus* grup B merupakan penyebab utama infeksi neonatus dan infeksi pada wanita hamil, kenaikan SGB ke dalam rahim berpotensi menginfeksi janin melalui aspirasi cairan ketuban (Doran & Nizet, 2004). SGB menyebabkan 150.000 kasus kelahiran mati dan kematian bayi di seluruh dunia (WHO, 2017). Tingkat kolonisasi SGB di Eropa pada wanita hamil berkisar antara 6 hingga 36%, di Afrika tingkat kolonisasi berkisar antara 19 hingga 22%, dan di Amerika sekitar 14%. Sedangkan tingkat kolonisasi SGB bervariasi pada wanita yang tidak hamil (do Nascimento et al., 2019). Sekitar 41% hingga 72% kasus penularan SGB dari wanita hamil ke bayi terjadi secara vertikal. Namun, sekitar 1% hingga 12% kasus kolonisasi SGB pada bayi lahir dari ibu yang tidak memiliki kolonisasi SGB. Kolonisasi SGB berat ditandai dengan jumlah bakteri lebih besar dari 10 koloni per mililiter di saluran genital wanita hamil, hal ini dapat meningkatkan penularan vertikal dan tingkat bayi dengan kolonisasi berat. Bayi dengan kolonisasi berat lebih berpotensi menderita SGB awitan dini atau lambat (Berardi et al., 2013).

Selain pada ibu hamil, infeksi SGB dapat terjadi pada orang yang lanjut usia dan dapat menyebabkan sepsis, selulitis, dan meningitis. Infeksi meningkat pada orang dengan diabetes, penyakit kardiovaskular, dan kanker. Infeksi SGB pada orang dewasa di Amerika Serikat meningkat dua kali lipat pada tahun 2007 yaitu 7,3 kasus per 100.000 penduduk (Lamagni et al., 2013); (Skoff et al., 2009).

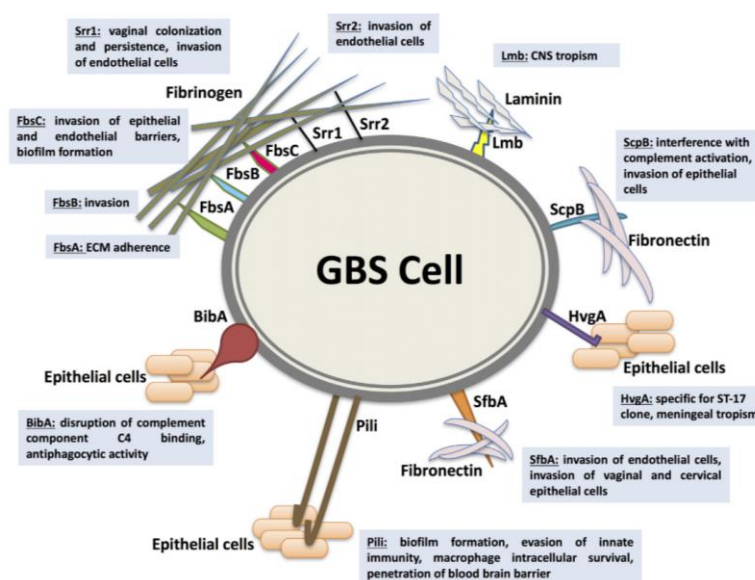
### 2.2.3 Patogenesis

Vaktor virulensi *Streptococcus* grup B yaitu kapsul polisakarida dan  $\beta$ -hemolisin yang berhubungan dengan kapasitas invasif. Mekanisme virulensi SGB bertujuan untuk melemahkan sistem pertahanan tubuh inang sehingga bakteri dapat menyerang jaringan. Vaktor virulensi dipengaruhi oleh serotipe. Distribusi serotipe bervariasi berdasarkan kelompok usia dan wilayah geografis. Perbedaan untuk masing-masing serotipe terletak pada rantai tulang punggung dan ikatan rantai antar cabang gugus polisakarida serta ketebalan kandungan asam sialat. Perbedaan antigenisitas dari masing-masing serotipe disebabkan oleh molar rasio residu monosakarida. (Morozumi et al., 2016); (Kong et al., 2003).

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 (Shabayek & Spellerberg, 2018). Produksi biofilm bakteri berperan dalam faktor virulensi yang menyebabkan infeksi kronis. Pembentukan biofilm dipengaruhi oleh kondisi lingkungan inang. Biofilm menyukai lingkungan asam, vagina memiliki pH asam yang menjadikannya tempat ini optimal untuk kolonisasi SGB. Produksi biofilm pada wanita hamil lebih tinggi pada pH 4,5 dibandingkan pH 7 (Shabayek & Spellerberg, 2018).

Protein yang memediasi perlekatan dan invasi SGB dengan sel inang yaitu protein pengikat fibrinogen (Fbs), protein pengikat laminin (Lmb), *Streptokokus* grup B C5a peptidase (ScpB), protein pengikat fibronektin *Streptokokus* A (SfbA), SGB imunogenik adhesin bakteri (BibA), dan adhesin hipervirulen (HvgA) (Gambar 2). 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, FbsC berperan dalam mendorong invasi penghalang epitel dan endotel, dan pembentukan biofilm. Srr1 berperan dalam kolonisasi dan persistensi vagina, invasi sel endotel, 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 dan mengikat protein C4 dan memberikan aktivitas antifagosit terhadap pertumbuhan opsonifagositik oleh neutrofil. HvgA bertugas untuk klon hipervirulen (Shabayek & Spellerberg, 2018).



Gambar 2. Protein matriks ekstraseluler SGB (Shabayek & Spellerberg, 2018).

Asam sialat pada polisakarida kapsuler SGB bekerja dengan mengikat faktor komplemen H yang mempercepat eliminasi senyawa komplemen C3b sebelum dapat mengeleminasi bakteri. Akibatnya sistem imunitas bawaan inang melalui fagositosis yang dimediasi oleh jalur alternatif komplemen menjadi tidak efektif (Morozumi et al., 2016). *Streptococcus* grup B menginvasi sel dan jaringan inang sehingga menimbulkan kerusakan melalui toksin dan sekresi enzim (Herbert et al., 2004).

Toksin SGB dapat merusak sel dan memediasi pelepasan nutrisi selama kolonisasi. Toksin SGB yaitu  $\beta$ -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 (Herbert et al., 2004).

Enzim sekresi SGB menghasilkan peptidase ekstraseluler, protease, nuklease, kolagenase, dan hyaluronidase, yang berperan dalam pelepasan nutrisi dari sel inang. Enzim-enzim ini berkontribusi pada penghancuran jaringan lokal memfasilitasi penyebaran SGB ke dalam jaringan. Beberapa enzim ini, seperti peptidase C5a dan protease serin, yang dikodekan oleh *cspA* berfungsi dalam penghindaran imun sesifik (Harris et al., 2003). Hyaluronidase (*hylB*) berkontribusi dalam kapasitas invasif SGB dengan menurunkan hyaluronan dan chondroitin sulfat dalam plasenta dan cairan ketuban. Strain serotipe III dan isolat sepsis bayi baru lahir mengekspresikan tingkat hyaluronidase yang lebih tinggi (Herbert et al., 2004).

#### **2.2.4 Deteksi gen *cfb* pada *Streptococcus* grup B**

Penyebab utama penyakit yang disebabkan oleh *Streptococcus* grup B adalah faktor virulensi yang terlibat dalam adhesi dan invasi pada sel host, serta penghindaran sistem imun. Dalam proses infeksi sel inang, ditemukan bahwa gen *cfb* mengkodekan faktor CAMP hemolytic promoting dan berikatan dengan fragmen Fc pada Immunoglobulin M (IgM) dan Immunoglobulin G (IgG), yang kemudian mengaktifkan fragmen Fab pada IgM dan IgG untuk melemahkan fungsi imun pada host (Lasagno et al., 2011).

Dalam penelitian (Tian et al., 2019), di antara 64 isolat *Streptococcus* yang diisolasi, gen *cfb* (31,25%) terdeteksi pada tingkat tertinggi. Hasil penelitian ini konsisten dengan hasil yang dilaporkan oleh Whist & Østerås (2007), yang penelitiannya menunjukkan bahwa *cfb* merupakan faktor virulensi utama dalam mekanisme infeksi bakteri *Streptococcus*.



Primer spesifik yang digunakan untuk deteksi gen *cfb* adalah *cfb* Forwad TTTCACCAGCTGTATTAGAAGTA dan *cfb* Rivers GTTCCCTGAACATTATCTTTGAT dengan ukuran amplicon 153bp untuk gen target *cfb* (Dmitriev A et al., 2002).

## 2.2 Infeksi *Streptococcus* grup B pada wanita hamil

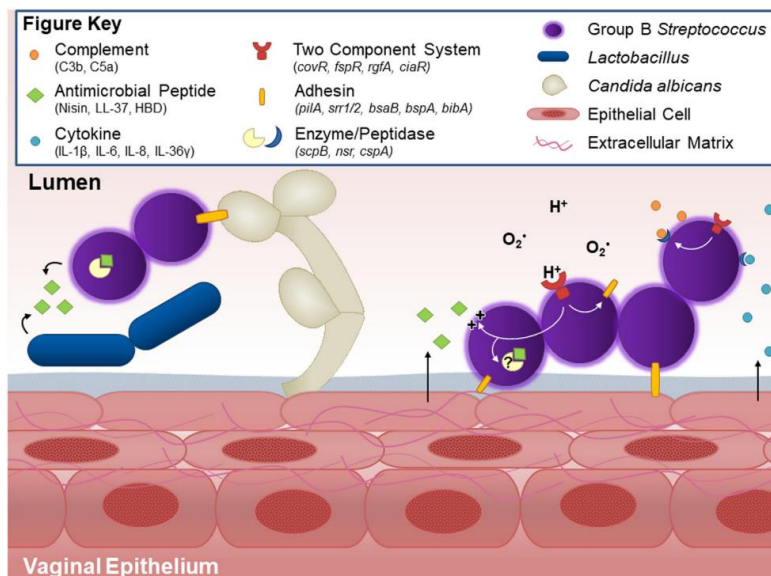
Tingkat kolonisasi bakteri vagina wanita hamil bervariasi di seluruh dunia, namun umumnya sebagian besar vagina dihuni oleh spesies *Lactobacillus* (Ravel et al., 2011). Spesies *Lactobacillus* berperan dalam menjaga keseimbangan pH vagina yang berpengaruh terhadap mekanisme pertahanan melawan berbagai mikroba patogen penyakit menular seksual termasuk HIV. Selain itu *Lactobacillus* dapat menghambat patogen dari saluran genitourinari melalui mekanisme seperti melepaskan bio-surfaktan penghambat adhesi, zat antimikroba dan hidrogen peroksida serta agregasi otomatis, agregasi bersama dengan spesies bakteri lain dan hidrofobisitas permukaan. (Shabayek & Spellerberg, 2017).

Sekitar 18% wanita hamil di seluruh dunia terinfeksi SGB, dengan tingkat kasus tertinggi terjadi pada wanita hamil di Karibia sebesar 35% dan terendah di antara wanita hamil di Asia Timur sebesar 11%, sedangkan di Amerika Serikat kolonisasi SGB berkisar 10-30% (Russell et al., 2017). *Streptococcus* grup B melalui kolonisasi rektovaginal wanita hamil menyebabkan infeksi pada ibu, bayi lahir mati, sepsis awitan dini, kelahiran prematur, dan hipoksia iskemik ensefalopati (Lawn et al., 2017).

Mekanisme SGB untuk mencapai kolonisasi vagina yang persisten dan intermiten menggunakan banyak adhesin mekanisme respon stres, perhindaran imun dan pertahanan melawan bakteri lain. *Streptococcus* grup B menginfeksi neonatus melalui defisiensi imun selama periode peripartum, yang bertindak sebagai organisme komensal atau berubah menjadi patogen invasif, menyebabkan sepsis atau meningitis. *Streptococcus* grup B memiliki patogenisitas yang mencakup toksin hemolitik yang kuat dan berbagai protein permukaan yang memungkinkannya menembus jaringan inang, serta protease ekstraseluler yang menggagalkan deteksi dan respons imun inang (Patras & Nizet, 2018). Kolonisasi SGB di permukaan mukosa terjadi karena adanya perlekatan pada sel epitel luminal dan protein di permukaan inang.

Peningkatan GBS di sel epitel vagina dan protein matriks ekstraseluler berkaitan dengan perubahan pH dari asam ke netral. Determinan spesifik yang berkontribusi terhadap perlekatan sel epitel vagina dan serviks diekspresikan oleh permukaan SGB seperti protein *surface serine-rich* (Srr), Srr-1 dan Srr-2, *alpha-like protein*, *pilus protein* PilA dan *pilus island* (PI)-2a, adhesin permukaan bakteri BsaB, BspA dan BibA. SGB memiliki metallopeptidase yang mampu membelah protein matriks ekstraseluler, yang dapat membantu kontak dan invasi jaringan lokal, atau pembentukan. Konstituen SGB selain dari protein perlekatan permukaan dapat mempengaruhi perlekatan serviks atau persistensi vagina, termasuk serotipe kapsuler tertentu (Patras & Nizet, 2018).

Kolonisasi SGB di vagina dipengaruhi oleh faktor inang dan bakteri. Bakteri ini berinteraksi dengan flora vagina lainnya seperti lactobacillus yang memiliki aktifitas antagonis satu dengan yang lain melalui produksi peptida antimikroba dan kompetisi niche. Protease NSR yang dihasilkan SGB berpengaruh terhadap degradasi lantibiotik Nisin yang diproduksi oleh Lactobacoccus. Flora lain seperti *Candida albicans* berpengaruh terhadap kolonisasi SGB melalui adhesi BspA. Streptococcus grup B berkaitan dengan sel epitel vagina dan protein matriks ekstraseluler melalui adhesin permukaan termasuk pili, Srr-1 dan Srr-2, BsaB, BspA, dan BibA. Saat berinteraksi dengan epitel, SGB memunculkan respons sitokin inang seperti IL-1 $\beta$ , IL-8, CXCL1, dan CXCL2. SGB menghentikan mekanisme sistem imun bawaan dengan memblokir deposisi kapsuler C3b atau melalui degradasi C5a melalui ScpB. Streptococcus grup B menggunakan beberapa sistem komponen untuk mengetahui kondisi lingkungan dan mengatur faktor virulensi dan kelangsungan hidup melalui regulator respons seperti CovR dan CiaR (Patras & Nizet, 2018).



Gambar 3. Kolonisasi SGB di vagina (Patras & Nizet, 2018).

Penularan SGB pada bayi dimulai dari kolonisasi pada ibu saat lahir, SGB menyebar dalam rahim melalui infeksi asenden atau intrapartum melalui aspirasi cairan vagina atau ketuban yang terkontaminasi (Le Doare & Heath, 2013). Sekitar 20-30% wanita sehat memiliki kolonisasi SGB secara rektovaginal, dan 50-70% bayi yang lahir dari wanita yang terinfeksi akan memiliki kolonisasi SGB (Doran & Nizet, 2004). Infeksi neonatus terbagi menjadi onset dini dan onset lambat. Onset dini terjadi hingga 7 hari pasca lahir, menyebabkan infeksi awitan yang terjadi rata-rata hingga 6-8 jam kehidupan, pneumonia, gagal nafas yang disertai infeksi aliran darah dan sepsitemia. Infeksi SGB di plasenta memicu persalinan prematur yang menimbulkan resiko tinggi terkait infeksi awitan dini pada bayi prematur dengan berat badan rendah. Onset lambat terjadi pada bayi hingga usia tujuh bulan dengan gejala yang datang bertahap dan menyebabkan bakteremia (Doran & Nizet, 2004). *Centers for Disease Control* (CDC) pada tahun 2002 mengeluarkan pedoman tentang pencegahan infeksi neonatus yaitu dengan melakukan skrining universal pada wanita hamil dengan usia kandungan 35-41 minggu, skrining yang dilakukan pada saat ini cukup akurat dalam memperdiksi adanya SGB saat melahirkan. Skrining SGB pada wanita hamil dapat dilakukan dengan swab vagina dan rektum, selain itu dapat juga dilakukan dengan pemeriksaan urin yang kemudian akan dibawa ke laboratorium untuk pemeriksaan kultur, spesimen dikultur dalam media selektif. Penularan SGB ke bayi dapat dicegah dengan pemberian antibiotik

profilaksis kepada wanita hamil selama persalinan (Morozumi et al., 2014); (Mousavi et al., 2016).

### **2.3 Polymerase Chain Reaction (PCR)**

Pedoman pengendalian dan pencegahan penyakit mengharuskan wanita hamil untuk melakukan skrining SGB. Skrining SGB biasa dilakukan dengan metode kultur pada akhir kehamilan dengan profilaksis antibiotik intrasputum yang direkomendasikan untuk ibu hamil yang positif SGB dan mencegah onset dini (minggu pertama kehidupan) penyakit neonatus (Verani et al., 2010) (Rosen et al., 2017). Berbagai metode untuk mendeteksi keberadaan SGB telah banyak dikembangkan diantaranya penggunaan media kromogenik untuk memproduksi pigmen SGB namun beberapa isolat SGB tidak mempunyai kemampuan menghasilkan pigmen. Tes aglutinasi dan immunoassay juga dikembangkan untuk mendeteksi SGB dari spesimen klinis dengan tingkat sensitivitas antara 19%-82% namun secara umum tes ini kurang sensitif untuk deteksi langsung (Ke et al., 2000); (Filkins et al., 2020).

*Polymerase chain reaction* (PCR) adalah metode biologi molekuler modern. Proses PCR adalah *in vitro* untuk menggandakan molekul target DNA dengan presisi ekstrim sehingga mudah diperiksa dengan metode biologi molekuler rutin. Teknik ini pertama kali diperkenalkan pada tahun 1984 oleh peraih nobel Kary Mullis. Teknik PCR telah memberi kontribusi yang signifikan dalam perkembangan ilmu biologi (Rajalakshmi, 2017).

Proses PCR dimulai dengan denaturasi (pemisahan untaian molekul DNA target (template)) diikuti dengan annealing (hibridisasi) primer oligonukleotida ke template target. Primer annealing menjadi titik awal DNA polimerase untuk menambahkan nukleotida baru (deoxynucleoside triphosphates atau dNTPs). Urutan nukleotida yang akan ditambahkan ditentukan oleh template. Seluruh proses amplifikasi template, yaitu denaturasi, annealing, dan polimerisasi, dilakukan secara *in vitro* dengan perubahan siklus suhu (Garibyan & Avashia, 2013)

Prinsip PCR melibatkan siklus berulang, dimana terdapat 20-40 siklus. Setiap siklus terdiri dari tiga tahapan berurutan yaitu denaturasi yang merupakan proses pemutusan untai ganda DNA menjadi untai tunggal pada

suhu 94-96°C, annealing yaitu proses penempelan primer pada daerah target yang suhunya tergantung pada primer yang digunakan biasanya 45-60°C, dan extension yaitu proses pemanjangan rantai DNA target biasanya pada suhu 72°C. Produk akhir kemudian dianalisis (Rajalakshmi, 2017) (Joshi & Deshpande, 2011).

Komponen PCR terdiri dari DNA template, primer, DNA polymerase, nuklotida, buffer solution, monovalent cations, divalent cations, PCR tube, thermal cycler.

1. DNA template

DNA template adalah molekul DNA untai ganda yang diampifikasi oleh PCR. Proses ini dilakukan secara in vitro dengan suhu yang bervariasi yang memungkinkan pemisahan untai DNA, hibridasi primer, dan polimerisasi (Shahzad et al., 2020).

2. Primer

Primer adalah molekul DNA beruntai tunggal yang dibutuhkan oleh DNA polimerase untuk menambahkan nukleotida baru selama proses polimerisasi, sehingga mensintesis untai komplementer baru. Pengikatan primer DNA ke target membutuhkan denaturasi. Dua primer dibutuhkan dalam proses PCR yaitu primer untuk satu untai (sense strand) atau primer maju, dan primer untai mental (antisense strand) atau primer terbalik. Panjang primer berperan untuk mengidentifikasi daerah komplemen sasaran yang ditetapkan. Primer ini biasanya disintesis secara komersial dengan ukuran berkisar antara 16 - 30 nukleotida. Temperatur spesifik yang dibutuhkan untuk primer annealing juga bergantung pada urutan primer. Semakin panjang primer maka semakin tinggi temperatur annealing (Ye et al., 2012).

3. DNA Polymerase

DNA polimerase mulai membuat DNA baru dari ujung 3' template. Ujung 3' dari kedua template stand adalah tempat ikatan primer yang kemudian diperpanjang oleh DNA polimerase. DNA polimerase yang paling umum digunakan adalah Taq DNA polimerase yang diisolasi dari bakteri termofilik dari spesies *Thermus aquaticus*. Taq polimerase memperpanjang rantai DNA dengan menambahkan ~1,0 kb per menit dengan waktu enzimatik yang dicapai pada suhu 95°C dalam 40 menit. Sumber lain dari DNA polimerase yang digunakan dalam PCR

termasuk spesies termofilik seperti *Thermus thermophilus* (Tth) dan *Thermus flavus* (Tfl) (Shahzad et al., 2020).

#### 4. Nukleotida

PCR membutuhkan empat deoxynucleoside triphosphates atau dNTPs yang berbeda untuk ukuran untai DNA baru: adenin(A), guanin(G), sitosin(C), timin(T). Konsentrasi keempat dNTP ini harus sama dalam campuran reaksi, karena konsentrasi yang tidak sama bahkan dari satu dNTP tunggal menyebabkan kesalahan penggabungan nukleotida oleh DNA polimerase (Lorenz, 2012).

#### 5. Larutan buffer

Larutan buffer adalah bahan-bahan kimia yang berfungsi menyediakan kondisi reaksi agar bisa berjalan lebih optimum dan nantinya dapat menstabilkan DNA polimerase. Buffer umumnya mengandung Tris-Hcl, KCl, dan kadang-kadang  $MgCl_2$  (Hwang et al., 2003).

#### 6. Kation monovalent

Kation monovalen atau Kalium klorida (KCl) biasanya digunakan dalam amplifikasi PCR fragmen DNA pada konsentrasi akhir 50 mM (Shahzad et al., 2020).

#### 7. Kation divalent

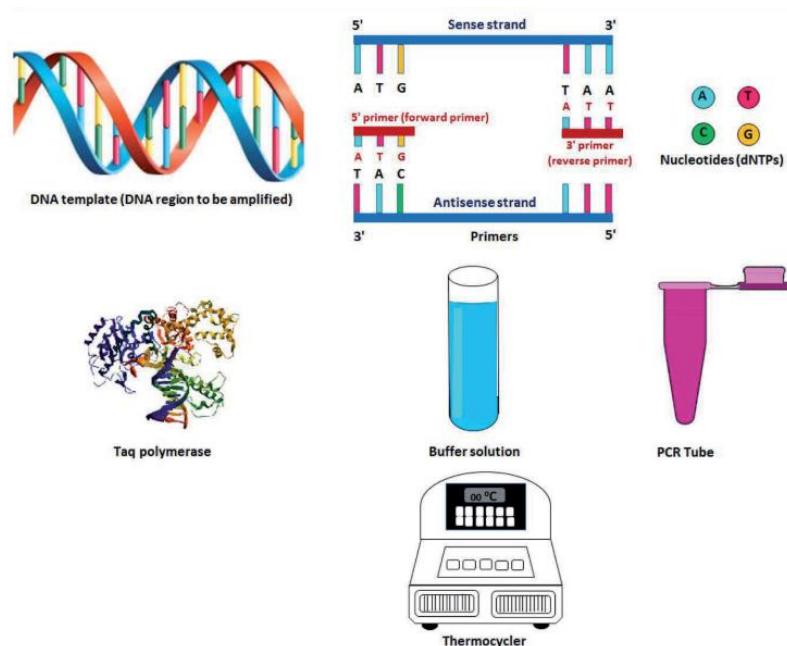
Ion magnesium dibutuhkan oleh enzim DNA polimerase sebagai kofaktor. Itu kation divalen dapat mencakup ion magnesium atau mangan; umumnya,  $Mg^{2+}$  digunakan, tetapi  $Mn^{2+}$  dapat digunakan untuk mutagenesis DNA yang dimediasi PCR, karena konsentrasi  $Mn^{2+}$  yang lebih tinggi meningkatkan tingkat kesalahan selama sintesis DNA (Innis & Gelfand, 1999).

#### 8. PCR tube

PCR dilakukan dalam tabung plastik kecil ber dinding tipis yang disebut tabung PCR. Tabung dirancang khusus untuk memungkinkan keseimbangan konduktivitas termal yang baik selama siklus termal (Shahzad et al., 2020).

#### 9. Thermal cycler

Thermocycler adalah perangkat yang digunakan untuk memanaskan dan mendinginkan tabung reaksi hingga mencapai suhu yang dibutuhkan (Bell, 2008).



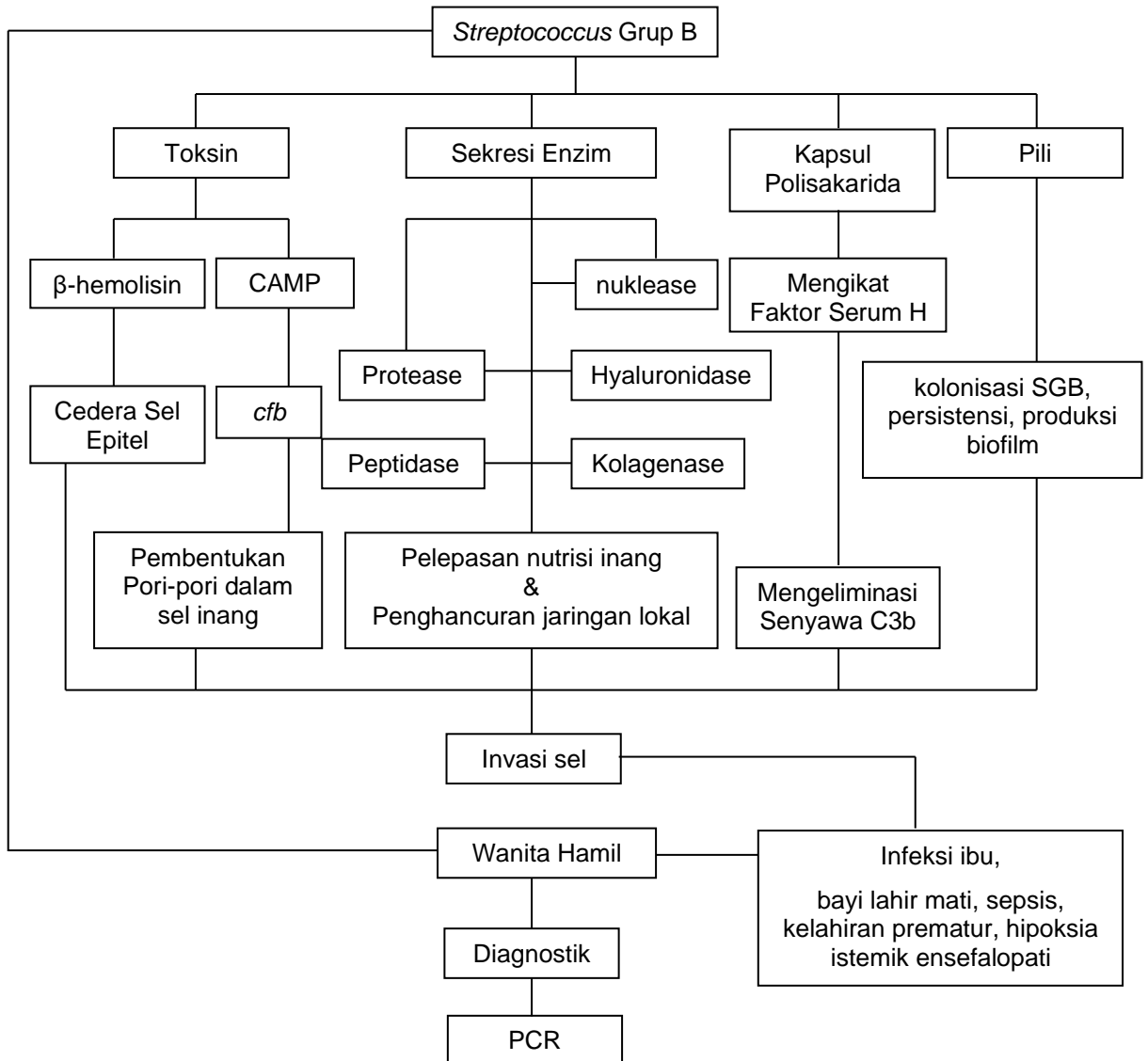
Gambar 4. Komponen PCR (Shahzad et al., 2020)

## 2.4 Elektroforesis gel

Elektroforesis gel adalah metode validasi yang paling sering digunakan. Proses ini menggunakan arus listrik untuk pemisahan molekul bermuatan DNA dengan memanfaatkan gel sebagai saringan molekuler. Agarosa digunakan sebagai agen pembentuk gel (untuk DNA >500 bp) atau poliakrilamida (<500 bp). Gel agarosa terdiri dari agarosa 0,9% dalam 40mM tris-base pH-8,3, asam asetat 20mM, 1mM yang dimurnikan dari gel agarosa 0,9% menggunakan QIA (*quick gel extraction kit*). Setelah dilakukan teknik elektroforesis gel, gel direndam dalam buffer untuk mewarnai DNA (Garibyan & Avashia, 2013). Pewarna DNA (seperti EtBr) diaplikasikan pada gel untuk membantu memvisualisasikan pita DNA menggunakan transilluminator UV. Kehadiran pita DNA ukuran yang benar (dikonfirmasi menggunakan tangga DNA) menunjukkan bahwa urutan target ada dan PCR telah mengamplifikasi produk yang benar. Tidak adanya pita DNA menunjukkan bahwa DNA target tidak ada, sedangkan adanya pita DNA ukuran yang salah menunjukkan produksi produk palsu (Huang et al., 2015).

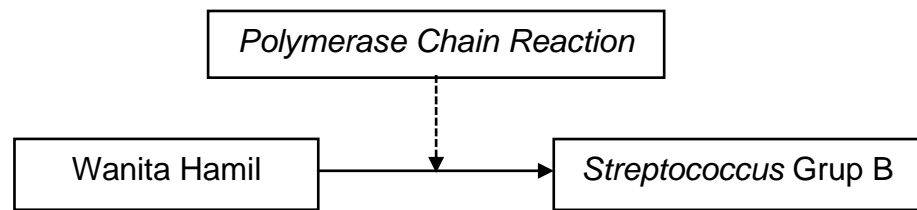
## BAB III KERANGKA PENELITIAN

### 3.1 Kerangka Teori





### 3.2 Kerangka Konsep



Variabel dependen : Wanita hamil  
Variabel independent : *Streptococcus* Grup B  
Variabel antara : *Polymerase Chain Reaction*