

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Mikroorganisme normal yang berada pada vagina merupakan flora normal vagina. Flora normal vagina pertama kali ditemukan oleh Albert Doderlein pada tahun 1982. Jenis dan jumlah flora normal pada wanita, terutama wanita usia subur, memiliki hubungan yang signifikan pada implikasi kesehatan wanita. Normalnya flora normal wanita didominasi oleh genus *Lactobacillus*, seperti *Lactobacillus crispatus* yang berperan untuk menghasilkan asam laktat demi menjaga lingkungan asam dan memberikan perlindungan dari senyawa patogenik (Muzny et al., 2020).

Mikrobiota vagina saat ini dibagi menjadi 5 kelompok utama, yang disebut dengan Community-state type (CST) dimana CST I didominasi *Lactobacillus crispatus*, CST II didominasi *Lactobacillus gasseri*, CST III didominasi *Lactobacillus iners* dan CST V didominasi *Lactobacillus jensenii*, yang semuanya ditemukan pada 73% wanita umumnya, sedangkan sisa 27% terdiri dari mikrobiota yang lebih heterogen, disebut dengan CST IV dan terdiri dari bakteri obligat anaerob seperti *Atopobium*, *Gardnerella* maupun *Prevotella* spp. Adanya gangguan keseimbangan pada mikrobiota akan menyebabkan gangguan, terutama gangguan pada area genital. Di Belanda, diperkirakan 40-50 kasus per 1000 wanita mengeluh adanya keputihan yang abnormal. Infeksi *Trichomonas*, *Candida albicans*, bacterial vaginosis merupakan penyakit 3 teratas penyebab duh tubuh vagina yang abnormal. Jika infeksi tidak diketahui dan dibiarkan, maka akan menyebabkan beberapa komplikasi seperti kelahiran prematur, BBLR, radang panggul, dan risiko tinggi terjadinya infeksi menular seksual (Mendling et al., 2019; Morrill, Gilbert dan Lewis, 2020).

McClelland RS, et al (2018), menyebutkan kelimpahan relatif *Atopobium vaginae* secara signifikan lebih tinggi pada kelompok HIV dibandingkan non-HIV pada pasangan serodiskordan. Mikrobiota *Atopobium Vaginae* pada vagina wanita dengan HIV+ belum banyak dipelajari dan di analisis dengan teknik molekuler terbaru yang mampu mengidentifikasi atau proporsi jumlah relatif dari jenis bakteri ini yang ada dengan cara yang tidak bergantung pada kultur. Hal ini kemudian memunculkan hipotesis bahwa analisis mikrobiota genital menggunakan jenis metode PCR dapat mengungkapkan hubungan yang sebelumnya tidak diketahui antara HIV dan mikrobiota, terutama mengingat bahwa BV adalah serangkaian kumpulan bakteri yang berbeda daripada satu set bakteri tetap. Sebuah penelitian terhadap 174 pekerja seks Rwanda menunjukkan hubungan yang kuat antara struktur mikrobioma vagina dan status

m penelitian terhadap wanita berisiko di Kenya, infeksi BV dan a faktor risiko terkuat yang diukur untuk penularan HIV selama 1 (Chehoud et al., 2017; Chen et al., 2021).

teknik pemeriksaan telah dilakukan untuk melihat mikrobiota dan infeksi. Kultur rutin dari spesimen genital sering hanya bagian dari mikrobiota vagina. Baru-baru ini, metode kultivasi-



independen seperti PCR telah banyak digunakan. Teknik molekuler ini bekerja berdasarkan amplifikasi RNA ribosom 16 S dan ribosom 16 S-23 S Gen RNA dari bakteri residen. Teknik ini dapat digunakan untuk melihat keberadaan mikrobiota vagina baru yang mungkin tidak bisa terlihat dalam pemeriksaan lain, seperti *Atopobium vaginae* dan *Mycoplasma hominis* (Shipitsyna et al., 2013).

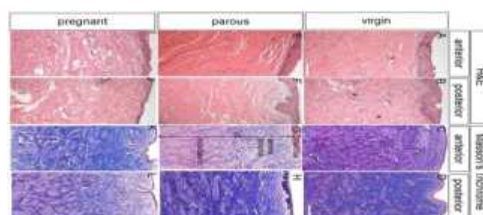
Penelitian ini akan membandingkan mikrobiota *Atopobium vaginae* pada vagina wanita HIV dan non-HIV dengan kuantitatif PCR.

1.2 Teori

1.2.1 Struktur dan Fisiologi Vagina

Vagina merupakan organ reproduksi wanita yang dapat berubah sepanjang umur seorang wanita. Vagina mempunyai banyak fungsi dalam menanggapi perubahan hormonal seperti yang dialami seorang wanita selama pubertas, menstruasi, kehamilan, dan menopause. Vagina secara anatomis merupakan tabung otot elastis dengan panjang 7 sampai 10 cm yang memanjang dari vulva (alat kelamin luar wanita) ke serviks rahim di mana ia berakhir di fornix anterior dan posterior. Kanal vagina terletak di antara uretra dan kandung kemih di anterior, dan rektum di posterior. Lubang vagina berada di bagian posterior vestibulum vulva, di belakang lubang uretra. Dikelilingi di kedua sisi oleh labia minora di medial dan labia mayora di lateral. Lapisan tipis selaput dara berlubang sebagian membentuk pintu masuk lubang vagina. Saluran vagina memiliki adventitia fibrosa luar, lapisan tengah sel otot polos, dan lapisan dalam mukosa. Membran mukosa bagian dalam memiliki lipatan transversal yang disebut rugae, yang dapat dilihat dengan jelas (Monintja dan Anandani, 2020).

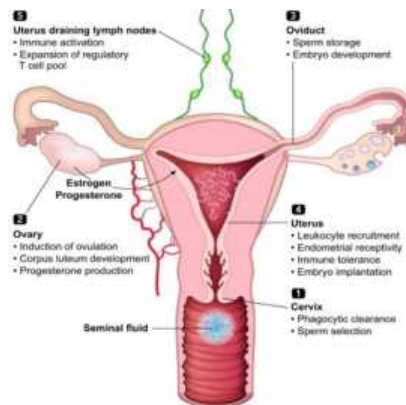
Dinding vagina tersusun atas sel-sel epitel skuamosa yang berlapis-lapis mengandung sitokeratin. Lapisan epitel ini tersusun atas stratum basale yang aktif membelah, lapisan suprabasal, dan stratum korneum. Sel kolumnar turunan Muller mulai bermigrasi ke kaudal ke dalam kanal endoserviks meninggalkan lapisan epitel skuamosa. Fisiologi vagina berubah secara drastis selama masa hidup seorang wanita sebagai respons terhadap perubahan hormon. Saat lahir, vagina sangat diestrogenisasi dari hormon ibu, dan ini menyebabkan vagina menjadi asam dengan dominasi laktobasilus.



Gambar 1.1
Struktur Histologis Dinding Vagina
Sumber: Ulrich et al., 2014



Dinding vagina mengandung proporsi glikogen yang tinggi selama periode ini, ketika kadar hormon ini turun kira-kira empat minggu paskakelahiran, fisiologi vagina akan berubah ke tahap pra-pubertas dengan lingkungan netral hingga basa yang terkait dengan lebih sedikit bakteri penghasil asam. Saat wanita berkembang, vagina akan mengambil karakteristik matang karena pematangan adrenal dan gonad. Selama tahun-tahun reproduksi, bakteri penghasil asam laktat mendominasi sekali lagi. Saat wanita memasuki periode pramenopause dan akhirnya menopause, jaringan vagina mengalami atrofi sekunder akibat ketenangan ovarium dan tingkat estrogen yang rendah secara bersamaan (Graziottin dan Gambini, 2015).



Gambar 1.2
Anatomi Vagina

Sumber: Schjenken dan Robertson, 2020

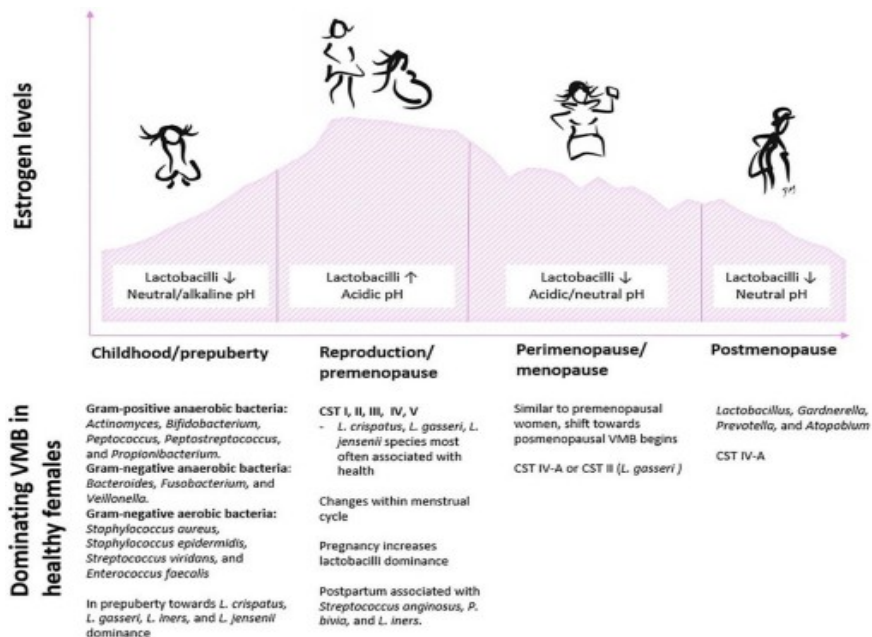
1.2.2 Mikrobiota Vagina pada Wanita Sehat

Mikrobiota vagina bersifat dinamis dan dibentuk oleh perubahan hormonal di setiap tahap pada kehidupan wanita dari pra-pubertas hingga pascamenopause. Dalam banyak penelitian terakhir, eksplorasi mikrobiota manusia semakin terfokus pada komposisi, keragaman, dan dampaknya terhadap kesehatan, reproduksi, dan penyakit. Mikrobiota vaginal diketahui terdiri dari berbagai bakteri, virus, archaea, fungi, dan protozoa (Lehtoranta et al., 2022).

Karakteristik mikrobiota yang sehat di saluran vagina dengan salah satu ciri saluran vagina yang sehat adalah keragaman bakteri yang rendah dan kelimpahan *Lactobacillus* vagina yang tinggi (Eisenstein, 2020). Isolasi *Atopobium vaginae* pada flora vagina wanita sehat, di Giteborg (Swedia), bahwa *Atopobium vaginae* termasuk dalam saprofit normal dari vagina yang sehat, dengan kemungkinan menjadi dominan pada kondisi seperti penurunan flora *Lactobacillus* normal. *Lactobacillus* ini akan mendasar dalam berinteraksi dengan sistem imun bawaan selitian menunjukkan bahwa kelimpahan *Lactobacillus* yang



rendah meningkatkan risiko beberapa infeksi vagina (Amabebe dan Anumba, 2018b). *Lactobacillus* menghasilkan asam laktat yang menciptakan lingkungan mikro asam dan dengan demikian mencegah pertumbuhan berlebih dari bakteri yang berpotensi berbahaya.



Gambar 1.3
Ilustrasi Skema Perubahan *Mikrobiota Vagina* Sepanjang Masa Hidup Wanita

Sumber: Lehtoranta et al., 2022

Karakteristik khas dan gambaran umum tentang bakteri yang mendominasi di vagina dalam konteks dengan tingkat estrogen yang berfluktuasi di seluruh rentang hidup wanita. Komunitas mikroba pada saluran genital bawah berperan penting dalam menjaga kesehatan reproduksi wanita. Mikrobiota vagina wanita terkait usia reproduksi secara konvensional dicirikan oleh teknik berbasis kultur yang didominasi oleh spesies *Lactobacillus*, yang di antara peran lainnya, menghasilkan asam laktat, biosurfaktan, hidrogen peroksida, dan faktor lain yang menciptakan lingkungan yang tidak ramah untuk patogen.



Mendominasi dominasi *Lactobacillus spp* di sebagian besar mikrobiota isi mikrobiota vaginal yang diberikan sangat individual. Selain itu vagina bersifat dinamis dan dapat berubah seiring waktu. Oleh karena itu penting untuk memahami interaksi inang-mikrobioma yang mengatur komposisi dan mendorong individualisasi tersebut. Beberapa faktor host

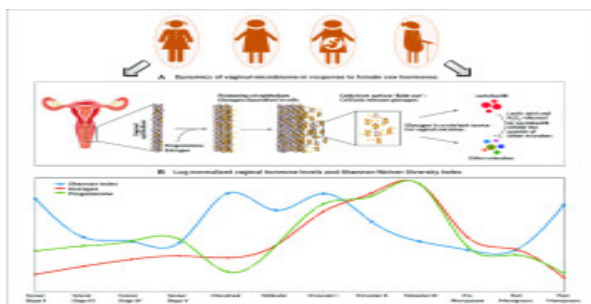
yang mempengaruhi mikrobiota vagina telah diidentifikasi, termasuk menstruasi, hubungan seksual, dan penggunaan kontrasepsi hormonal

1.2.3 Perubahan Hormonal

Penelitian meta analisis baru-baru ini mendukung usulan bahwa pertumbuhan *Lactobacillus* di lingkungan vagina didorong oleh hormon. Sementara banyak laporan telah berfokus pada bagaimana estrogen dapat meningkatkan pertumbuhan *Lactobacillus*. Fokus diarahkan pada estrogen sebagai promotor pertumbuhan *Lactobacillus* didasarkan pada pengamatan epidemiologi dari perubahan mikroba vagina utama yang terjadi sepanjang perjalanan hidup wanita.

Lactobacillus meningkat selama masa pubertas ketika kadar estrogen juga meningkat. *Lactobacillus* sangat mendominasi lingkungan vagina selama kehamilan, juga ketika kadar estrogen tinggi. Sedangkan *Lactobacillus* menurun pascamenopause ketika estrogen menurun, terapi penggantian estrogen mengembalikan tingkat *Lactobacillus*. Mekanisme yang umum diusulkan dimana estrogen dapat meningkatkan jumlah *Lactobacillus* adalah melalui peningkatan ketersediaan glikogen bebas di mukosa vagina, yang pada gilirannya mendukung pertumbuhan *Lactobacillus* (Vitali, Wessels dan Kaushic, 2017)

Sebagai alternatif, penggunaan kontrasepsi berbasis progestin atau adanya BV dapat memulai lingkungan mikro sitokin inflamasi yang menarik sel T dan menginduksi aktivasinya. Peningkatan kadar sel T teraktivasi CD4+CCR5+ dalam jaringan sebagai akibat dari profil genital inflamasi meningkatkan risiko penularan HIV-1 pada wanita.



Gambar 1.4

Dinamika Mikrobioma Vagina Sebagai Respons Terhadap Hormon Seks Wanita

Sumber: Kaur et al., 2020



Estrogen dan progesteron menyebabkan peningkatan deposisi matriks epitel vagina. Karena glikogen berfungsi sebagai sumber energi untuk mikroba vagina, kelebihan jumlah glikogen menyebabkan peningkatan jumlah *Lactobacilli* yang mendegradasi glikogen, yang menghasilkan asam laktat. Pelepasan asam laktat bersamaan dengan hidrogen peroksida oleh *Lactobacilli* menghambat pertumbuhan mikroba lain. Tren kadar

hormon vagina yang dinormalisasi log dan Indeks Keanekaragaman Shannon-Weiner mikrobioma vagina di semua tahap reproduksi dan pasca-reproduksi wanita.

Nilai-nilai estrogen dan progesteron di semua tahap reproduksi dan pasca-reproduksi wanita dikumpulkan dari berbagai sumber literatur. Nilai Keanekaragaman Shannon-Weiner dan nilai hormon yang dikumpulkan dinormalisasi secara log dan diplot bersama. Tahap-tahap yang mengalami gangguan mendadak pada kadar hormon (awal pubertas, yaitu tahap Tanner II, menstruasi, permulaan kehamilan, yaitu trimester pertama) diamati memiliki mikrobioma vagina yang sangat beragam. Sebaliknya, tahap lain diamati memiliki mikrobioma vagina yang stabil dan kurang beragam (Kaur et al., 2020).

1.2.4 Kebiasaan Seksual

Perdebatan tentang apakah bakterial vaginosis dapat diklasifikasikan sebagai PMS yaitu kondisi terkait seksual. Bukti yang telah menunjukkan bahwa vaginosis bakterial dapat ditularkan secara seksual dari wanita ke pasangan pria dan wanita. Studi epidemiologis secara konsisten mengaitkan vaginosis bakteri dengan faktor risiko yang terkait dengan PMS. Hubungan seksual yang lebih sering dikaitkan dengan peningkatan risiko vaginosis bakteri. Peningkatan jumlah pasangan pria sangat terkait dengan vaginosis bakteri dalam beberapa penelitian (Vodstrcil et al., 2015).

Hubungan seks tanpa kondom baru-baru ini telah dibuktikan dengan adanya antigen spesifik prostat dalam cairan vagina telah dikaitkan dengan lebih dari dua kali lipat peningkatan risiko bakterial vaginosis dan vaginosis bakteri berulang dan secara negatif terkait dengan keberadaan dan konsentrasi spesies *Lactobacillus* yang sehat (Forcey et al., 2015).

Ada hubungan yang signifikan antara vaginosis bakteri dan pasangan seks wanita, karena wanita yang berhubungan seks dengan wanita tampaknya berada pada peningkatan risiko bila dibandingkan dengan laki-laki yang berhubungan seks dengan laki-laki saja. Hubungan terbalik yang kuat antara vaginosis bakteri dan penggunaan kondom. Dalam satu penelitian, bakteri terkait vaginosis lebih sering terdeteksi dalam urin dan sulkus koronal pria dengan PMS asimtomatik dibandingkan pada pria sehat (Jespers et al., 2014).

Baik vaginosis bakterial dengan skor Nugent dan deteksi bakteri anaerob terkait vaginosis jauh lebih jarang pada wanita yang tidak berpengalaman secara seksual dibandingkan pada wanita yang berpengalaman secara seksual. Data tentang pengaruh praktik seksual tertentu pada vaginosis bakterial relatif sedikit: dalam satu penelitian, hubungan seks vaginal segera setelah hubungan

aitkan dengan vaginosis bakteri penelitian lain menunjukkan a seks oral reseptif dan vaginosis bakterial.

penelitian lain tidak menunjukkan hubungan dengan seks oral penelitian menemukan hubungan antara vaginosis bakterial dan al reseptif, sedangkan beberapa penelitian lainnya tidak, seks



reseptif (baik vaginal atau anal) tampaknya tidak dikaitkan dengan bakterial vaginosis (Lewis, Bernstein dan Aral, 2017).

1.2.5 Suku dan Ras

Prevalensi vaginosis bakterial bervariasi menurut kelompok etnis pada dasarnya semua populasi yang diteliti hingga saat ini. Akuisisi bakterial vaginosis di Amerika Serikat telah lama dikaitkan dengan ras kulit hitam hubungan ini telah terbukti bertahan bahkan setelah penyesuaian untuk praktik seksual dan pembaur lainnya. Prevalensi bakterial vaginosis di Inggris dan Kanada lebih tinggi di Afro-Karibia dan populasi aborigin, sedangkan di Spanyol dan Cina, Gipsi dan Tibet etnis memiliki prevalensi yang lebih tinggi, masing-masing. Menariknya, semua kelompok ini mewakili populasi minoritas di negara yang diteliti (Kenyon, Colebunders dan Crucitti, 2013).

Studi terbaru tentang mikrobioma vagina wanita kulit hitam dan putih kelahiran AS menunjukkan perbedaan yang signifikan dalam mikrobiota antara kedua kelompok, dengan wanita kulit hitam memiliki lebih banyak keragaman mikroba dan kemungkinan kolonisasi dengan *Lactobacilli* lebih kecil daripada wanita kulit putih. Beberapa studi dilakukan di beberapa negara Afrika sub-Sahara telah menunjukkan proporsi yang jauh lebih rendah dari wanita dengan komunitas vagina yang didominasi oleh *L. crispatus* bila dibandingkan dengan wanita keturunan Eropa atau Asia (Gautam et al., 2015).

Sebaliknya, komunitas wanita Afrika didominasi oleh *Liners* dan campuran variabel bakteri anaerob fakultatif. Komposisi mikrobioma secara signifikan terkait dengan asal etnis dalam sebuah penelitian di Belanda dengan wanita keturunan Afrika yang memiliki prevalensi tertinggi dari kelompok yang didominasi oleh *Gardnerella vaginalis* atau disbiosis (Borgdorff H. Mikrobioma vagina wanita yang tinggal di Amsterdam: asosiasi dengan etnis Kongres HIV/IMS Dunia (Fettweis et al., 2014).

Ada bukti bahwa variasi genetik inang, yang terkadang berkorelasi dengan ras atau etnis, dapat memengaruhi komposisi mikrobioma: satu penelitian besar menggunakan data metagenomik Proyek Mikrobioma Manusia telah menemukan banyak hubungan antara gen inang kunci yang terkait dengan kekebalan dan kelimpahan taksa mikroba spesifik di empat situs tubuh yang berbeda, meskipun vagina tidak dimasukkan (Blekhman et al., 2015).

Pada wanita usia reproduksi, mikrobiota vagina telah terbukti berbeda dalam ras dan etnis yang berbeda. Penelitian Ravel et al. menyoroti variasi antara pH vagina dan komposisi mikrobiota pada wanita usia reproduksi (Godha et al., 2018).



Intravaginal

irching (VD) adalah proses mencuci vagina dengan air atau lainnya. VD dapat dilihat secara luas dalam budaya yang tubuh wanita, menstruasi, dan hubungan seksual sebagai m budaya Turki, wanita mendefinisikan menstruasi sebagai rki, tingkat VD adalah 43,9-64,5%. Dalam sebuah studi tahun

2014 oleh Departemen Kesehatan Republik Turki, 79,20% wanita ditemukan melakukan douching untuk kebersihan (96,26%), keyakinan agama (52,86%), dan pencegahan kehamilan (12,74%) (Yıldırım, Vural dan Koçoğlu, 2020). Para wanita ini menyatakan bahwa douching membantu mereka merasa bersih, sehat, dan baik, mengobati infeksi, memberikan wudhu, meningkatkan daya tarik mereka kepada pasangan, dan mencegah kehamilan. Selain itu, wanita melakukan VD untuk membersihkan vagina setelah koitus untuk melindungi diri dari penyakit, selama menstruasi, merasa bersih sebelum melakukan hubungan seksual dan pemeriksaan ginekologi, untuk mengurangi bau tidak sedap, meniru orang lain yang melakukan VD, untuk mendapatkan pengalaman, atau karena penasaran (Yanikkerem dan Yasayan, 2016).

1.2.7 PH Vagina

Tingkat pH yang terkait dengan vagina disebut nilai pH vagina memainkan peran penting dalam menentukan kesehatan vagina. Keadaan asam dan/atau basa ditentukan oleh skala aktivitas ion hidrogen dan diukur dengan nilai pH. PH netral alami sama dengan 7, tetapi pH normal vagina berkisar antara 3,8 dan 5,0, yang cukup asam. Namun, komposisi ini bisa berubah (Mendling W, 2016). pH pada saluran genital wanita dapat bervariasi. Nilai pH vagina normal untuk wanita usia reproduksi berkisar antara 4,0 hingga 4,5, tetapi nilainya mungkin sedikit lebih tinggi dari 4,5 pada wanita pramenarki dan pascamenopause (Lin et al., 2021).

Meskipun spesies *Lactobacillus* individu hadir dalam jumlah kecil di vagina pada semua usia, pengaruh hormon ovarium dari menarche hingga menopause yang mendukung dominasi dan pentingnya mereka. Spesies *Lactobacillus* mendominasi saluran genital bawah dalam konsentrasi 10⁷-10⁸ unit pembentuk koloni per gram cairan vagina. Di bawah pengaruh estrogen, sel-sel vagina berproliferasi secara substansial dan mempertahankan glikogen, sedangkan progesteron mendorong sitolisis sel-sel ini. Dengan demikian, glikogen dilepaskan untuk *Lactobacilli* untuk dipecah menjadi glukosa dan maltosa. Ini menghasilkan beberapa produk metabolisme, termasuk laktat, dan menciptakan pH fisiologis asam. Produksi asam laktat merupakan ciri mikrobioma vagina normal karena pH vagina yang lebih rendah (~4.0) menciptakan lingkungan yang tidak menguntungkan untuk pertumbuhan bakteri patogen. Asam laktat memblokir histone deacetylases, sehingga meningkatkan transkripsi gen dan perbaikan DNA. Hasil ini menginduksi autophagy dalam sel epitel dan mempromosikan homeostasis. Bakteri yang terlibat dalam bakterial vaginosis dapat dihambat oleh asam laktat tetapi tidak oleh H₂O₂ (Lin et al., 2021).



kelimpahan bakteri penghasil asam laktat mengubah vagina. Wanita Afrika-Amerika telah terbukti lebih mungkin untuk 5, mungkin dihasilkan dari konsentrasi *Lactobacilli* yang lebih sentrasi yang lebih tinggi dari batang variabel Gram kecil dan di lain menunjukkan bahwa wanita Hispanik dan Afrika-Amerika na yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan wanita Asia dan

kulit putih. Perbedaan ini tampaknya tercermin dalam mikrobiota vagina yang dominan pada ras yang berbeda (Godha et al., 2018).

Dalam penelitian lain, wanita Asia dan Kaukasia (80-90%) memiliki mikrobiota vagina yang sebagian besar terdiri dari spesies *Lactobacillus* yang berbeda. Bertentangan dengan wanita Hispanik dan Afrika-Amerika, di mana hanya ~60% wanita memiliki mikrobiota vagina yang serupa. Fettweis dkk. menyimpulkan bahwa wanita Afrika-Amerika lebih mungkin untuk menunjukkan profil mikroba yang beragam dan dua kali lebih mungkin untuk didiagnosis dengan BV bila dibandingkan dengan wanita keturunan Eropa (Godha et al., 2018).

Pekerjaan mereka juga mendukung bukti yang ada bahwa wanita keturunan Eropa lebih cenderung memiliki mikrobiota yang didominasi *Lactobacilli*. Selanjutnya, wanita Hispanik dan Afrika-Amerika dalam penelitian ini memiliki pH vagina yang lebih tinggi (>4,5), yang berhubungan kembali dengan persentase yang lebih rendah dari wanita ini dengan mikrobiota vagina yang dominan *Lactobacilli*.

Sebuah studi yang dilakukan oleh Fiscella et al. menemukan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan dalam pH vagina antara wanita kulit hitam dan kulit putih setelah mengontrol perbedaan mikrobiota vagina. Dengan demikian, perbedaan ras yang diamati pada pH vagina kemungkinan merupakan hasil dari berbagai mikrobiota vagina yang ada di antara berbagai ras (Godha et al., 2018).

1.2.8 Tingkat Pengetahuan dan Higienitas

Bahaya Kurangnya pengetahuan dalam memelihara kesehatan dan kebersihan organ reproduksi wanita dapat menimbulkan risiko fluor albus patologis. Jika pengetahuan seorang wanita tentang fluor albus meningkat maka tindakan pencegahan yang akan dilakukan individu dalam mencegah fluor albus juga akan meningkat. Pengetahuan yang baik dapat dipengaruhi oleh faktor informasi, pendidikan, pengalaman, sosial budaya ekonomi, usia, serta lingkungan. Pengetahuan dan sikap yang baik dapat dipengaruhi oleh faktor informasi, pendidikan, pengalaman, sosial budaya ekonomi, usia, serta lingkungan (Monintja dan Anandani, 2020; Wahyuningsih dan Anandani, 2022).

1.2.9 Tipe Mikrobiota Vagina

Metode yang banyak digunakan untuk mengklasifikasikan data sekuensing dijelaskan oleh Ravel et al, yang menggunakan teknik sekuensing molekuler generasi berikutnya untuk mengkarakterisasi mikrobiota vagina dari 396 wanita Amerika Utara tanpa gejala dari empat kelompok etnis. Penelitian sebelumnya



menunjukkan bahwa komunitas vagina pada wanita ini mengelompok menjadi tiga tipe komunitas, yang mereka sebut tipe komunitas-negara.

Tipe komunitas ini, ditemukan pada 73% wanita yang diuji, spesies *Lactobacillus* yang berbeda (*Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus gasseri*, CST II; *Lactobacillus iners*, CST III; dan *Lactobacillus senii*) (CST V). Sisanya 27% dari masyarakat (CST IV) yang

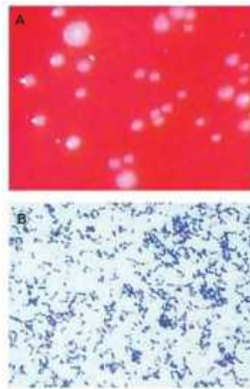
heterogen dan ditandai oleh proporsi yang lebih tinggi dari bakteri anaerob obligat, termasuk *Atopobium*, *Gardnerella*, dan *Prevotella* spp. dan lain-lain. *Community-state* tipe IV telah dibagi lagi dalam beberapa penelitian menjadi sub tipe IV-A dan IV-B, keduanya heterogen dalam komposisi tetapi dengan CST IV-B mengandung lebih sedikit *Lactobacilli* dan lebih banyak taksa bakteri anaerobik termasuk *Gardnerella*, *Atopobium*, *Leptotrichia*, dan *Sneathia* spp (Lewis, Bernstein dan Aral, 2017).

1.2.10 *Atopobium Vaginae*

Atopobium vaginae pertama kali dijelaskan oleh Rodriguez Jovita sebagai bakteri kokus berbentuk elips atau batang gram positif, yang muncul secara tunggal, berpasangan, atau rantai pendek, non-mobile, asporigenous, dan tidak berkapsul. Bakteri ini berukuran kurang lebih 0,6-0,9 µg, membentuk koloni kecil yang jelas dan mirip seperti kepala peniti kecil, yang dikultur pada Columbia blood agar pada suhu 37°, meskipun dideskripsikan sebagai bakteri anaerobik fakultatif, bakteri ini diklasifikasikan sebagai *strict anaerobic* (Wahyuningsih dan Anandani, 2022). Produksi dari asam laktat (sifat umum dari genus *Atopobium*) menyebabkan asimilasi fungsi *Atopobium vaginae* ke *Lactobacilli* sebagai komponen ekosistem fisiologis vagina, yang mencegah pertumbuhan mikroorganisme yang tidak diinginkan. Karakter biokimia lebih lanjut (analytical profile index, API) menyebabkan diskriminasi dari 2 enzim yang diekspresikan secara eksklusif oleh *Atopobium vaginae* yaitu histidine arylamidase dan serine arylamidase (De Backer et al., 2006; Polatti, 2012; Mendling et al., 2019)

Isolasi *Atopobium vaginae* pada flora vagina wanita sehat, di Giteborg (Swedia), menunjukkan bahwa *Atopobium vaginae* termasuk dalam saprofit normal dari flora vagina yang sehat, dengan kemungkinan menjadi dominan pada kondisi- kondisi tertentu, seperti penurunan flora *Lactobacillus* normal. Hipotesis ini didukung dengan kemampuan metabolik dari genus *Atopobium*, yang lebih memiliki habitat kaya protein yang digunakan sebagai sumber energi. Skenario ini dapat terjadi pada wanita pasca menopause, yang menunjukkan penurunan produksi glikogen sel epitel vagina, dengan kemungkinan pergeseran mikrobiota vagina dari *Lactobacillis* ke spesies lain. Pasien dengan terapi hormon diketahui memiliki tingkat *Atopobium vaginae* yang lebih rendah, dan dikatakan bahwa penggunaan estriol vagina dapat menyebabkan penyembuhan dari flora *Lactobacilli*, dan menurunkan risiko terjadinya infeksi (De Backer et al., 2006; Mendling et al., 2019).





Gambar 1.5

(A) Koloni *Atopobium vaginae* berwarna abu-abu putih setelah kultur 48 jam pada kondisi anaerobik (B) Hasil pewarnaan gram menunjukkan bakteri gram positif, dengan *Atopobium vaginae* terlihat sebagai sel single, berpasangan, atau rantai pendek.

Sumber: De Backer et al., 2006

Dari penelitian telah dilaporkan hubungan *Atopobium vaginae* dengan BV, dan banyak penelitian selanjutnya telah mengonfirmasi bakteri ini sebagai komponen penting dari kompleks vagina abnormal pada BV. Meskipun *Atopobium vaginae* dan *Gardnerella vaginalis* terdeteksi pada flora normal vagina (8%- 25%) namun mikrobiota ini lebih banyak ditemukan pada pasien BV (50%-96%). Didapatkan perbedaan antara wanita Afrika dan Kaukasia, dimana prevalensi *Atopobium vaginae* lebih tinggi pada wanita Afrika dibandingkan dengan Kaukasia. Jumlah *Atopobium vaginae* juga didapatkan lebih banyak secara signifikan pada pasien dengan BV positif dibandingkan dengan kelompok kontrol yang sehat. Selain itu, *Atopobium vaginae* juga dikaitkan dengan keputihan khas BV, peningkatan pH dan adanya *clue cells*. Pada penelitian juga diketahui bahwa kombinasi *Atopobium vaginae* dengan *Gardnerella vaginalis* berhubungan dengan abortus dan prematuritas. Penelitian pada model in vitro menyebutkan bahwa *Atopobium vaginae* merangsang respon imun bawaan dari sel epitel, yang mengarah ke IL-6 dan IL-8 yang terlokalisasi dan produksi peptida antimikroba β -defensin yang terjadi setelah memicu reseptor TLR 2, yang mungkin menjadi kontribusinya pada patogenesis BV (De Backer et al., 2006; Mendling et al., 2019).

Penelitian oleh De Backer dkk menyebutkan bahwa 18-38% *A. vaginae* terdapat pada vagina Wanita, de Backer juga mendemonstrasikan kerentanan metronidazole secara signifikan pada berbagai strain *Atopobium vaginae*.

klinis yang diinvestigasi menunjukkan tingkat resistensi yang golongan nitroimidazole seperti *metronidazole* dan *secnidazole*, ada potensi gagal terapi. Percobaan kerentanan metronidazole *Atopobium vaginae* menunjukkan bahwa *Minimum Inhibition Concentration* (MIC) bervariasi, antara 2 µg/ml (sensitif), hingga lebih dari 256



μ /ml (resisten). Sejauh ini lebih dari setengah isolah yang diuji adalah resisten (Beigi et al., 2004).

(Beigi et al., 2004) mendeskripsikan peningkatan signifikan dari resisten klindamisin pada bakteri anaerobik setelah pengobatan, masih belum jelas apakah hal ini secara spesifik menyangkut *Atopobium vaginae*. Namun hal ini menjadi perhatian untuk analisis keefektifan terapi pada pasien dengan BV berulang yang sebelumnya diobati dengan klindamisin data in vitro menunjukkan bahwa klindamisin efektif melawan *Atopobium vaginae* pada konsentrasi rendah. (Taylor-Robinson, 2017).

1.2.11 Mikrobiota Vagina dan HIV

Dampak antara kekebalan genital pada kerentanan HIV memiliki hubungan yang konsisten dan kuat antara mikrobiota vagina dengan risiko HIV, kemungkinan besar dimediasi oleh interaksi kekebalan inang mikrobiota. BV dapat meningkatkan risiko HIV dengan menginduksi peradangan mukosa genital, seperti yang didefinisikan oleh peningkatan sitokin proinflamasi genital. Epitel genital dan sel penyaji antigen memulai respon inflamasi terhadap bakteri Gram-negatif terkait BV, seperti *Gardnerella vaginalis* dan *Prevotella bivia*, setelah merasakan produk bakteri seperti lipopolisakarida.

BV juga dapat meningkatkan risiko HIV dengan merusak pertahanan kekebalan bawaan terhadap HIV, termasuk penghalang lendir serviks, meningkatkan kemampuan HIV untuk mengakses epitel genital. Selain itu, produksi metabolit seperti asam lemak rantai pendek oleh bakteri terkait BV telah dikaitkan dengan peningkatan regulasi jalur gen proinflamasi dalam sel epitel vagina dan peningkatan produksi sitokin proinflamasi (Armstrong dan Kaul, 2021). Price JT, et al (2019), juga menyebutkan *Atopobium Vaginae* paling banyak ditemukan pada kelompok ibu hamil dengan HIV dibandingkan dengan non-HIV.

1.2.12 Pengukuran Mikrobiota dengan PCR

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah teknik laboratorium untuk memproduksi secara cepat (*amplifying*) jutaan hingga miliaran kopi dari segmen spesifik DNA, yang kemudian dapat dipelajari secara rinci. PCR melibatkan penggunaan fragmen DNA sintetis yang pendek yang disebut primer untuk memilih segmen genom yang akan diamplifikasi dan kemudian beberapa putaran sintesis DNA untuk mengamplifikasi segmen tersebut.

Tes PCR dapat dilakukan untuk melihat tingkat keberagaman mikroba dalam vagina yang hanya ditunjukkan dengan munculnya pendekatan berbasis molekuler yang tidak bergantung pada kultivasi, seperti *taxon-directed* PCR, *situ hybridization* (FISH), dan yang banyak digunakan adalah *terial* 16S 16S *rDNA* PCR, dengan pemisahan subsekuens dari NA menggunakan denaturing *gradient gel electrophoresis* amplikon, analisis terminal restriction fragment length (RFLP), kloning produk PCR dengan *direct sequencing* atau *pyrosequencing* (Ravel et al., 2011).



Penggunaan tes *taxon-directed* PCR untuk diagnosis BV telah banyak diteliti dalam beberapa penelitian, dan beberapa spesies bakteri telah terbukti berguna sebagai prediktor BV. Bakteri terkait BV yang berbeda memiliki nilai prediksi yang berbeda untuk diagnosis BV, dan gabungan deteksi beberapa bakteri ini juga dapat meningkatkan nilai-nilai ini. Peningkatan akurasi diagnostik mungkin juga diperoleh dengan menggunakan ambang kuantitatif bakteri terkait BV.6 PCR bakteri diberi skor sebagai positif jika kurva S yang jelas diamati di plot amplifikasi masing-masing.

Tabel 1.1 Urutan Primer yang Digunakan untuk Mendeteksi Daerah 16S rRNA yang Ditunjukkan dari Organisme Target

PCR target	Primer name	Oligo composition (5'-3') ^a	Amplicon size
Multiplex 1			
β-globulin ^b	Forward	GAAGAGCCAAGGACAGGTAC	268 bp
	Probe	[Cy5]TCTGCCGTTACTGCCCTGT	
<i>L. iners</i>	Reverse	CAACTTCATCCACGTTTCACC	166 bp
	Forward	AGTCTGCCTTGAAGATCGG	
<i>L. crispatus</i>	Probe	[FAM]CCAAGAGATCGGATAACACCT	145 bp
	Reverse	CTTTTAAACAGTTGATAGGCATCATC	
	Forward	AACTAACAGATTTACTTCGGTAATGA	
	Probe	[ROX]CCCATAGTCTGGGATACCACTT	
	Reverse	AGCTGATCATGCGATCTGC	
Multiplex 2			
<i>A. vaginae</i>	Forward	TAGGTCAGGAGTTAAATCTG	155 bp
	Probe	[HEX]CTACCAGACTCAAGCCTGCC	
<i>G. vaginalis</i>	Reverse	TCATGGCCCAGAAGACCGCC	206 bp
	Forward	GCGGGCTAGAGTGCA	
	Probe	[ROX]CTTCTCAGCGTCAGTAACAGC	
	Reverse	ACCCGTGGAATGGGCC	
<i>Megasphaera phylotype 1</i>	Forward	GATGCCAACAGTATCCGTCCG	208 bp
	Probe	[FAM]ACAGACTTACCGAACCGCCT	
	Reverse	CCTCTCCGACACTCAAGTTCTGA	

^a Primers and probes were obtained from TIB MOLBIOL GmbH, Berlin, Germany. Cyanine 5 (Cy5), Fluorescein (FAM), X-Rhodamin (ROX) and Hexachlorfluorescein (HEX) were used as the 5'-coupled reporter fluorophores of the hydrolysis probes used in the multiplex PCR reaction, and the 3'-coupled Black Hole Quenchers (BHQ1 and BHQ2) as quenchers

^b β -globulin PCR was used as a sample and DNA/PCR quality control. See the "Materials and methods" section for explanation

Sumber: Cartwright et al., 2012



Tabel 1.2 Tabel Sistem Skoring untuk Mengkategorikan Hasil PCR Bakteri

Marker organism	Cutoff value (log ₁₀ copies/ml)	Assigned score
<i>A. vaginae</i>	≤5.5	0 (low)
	5.5–7.0	1 (moderate)
	>7.0	2 (high)
BVAB-2	≤4.5	0 (low)
	4.5–6.0	1 (moderate)
	>6.0	2 (high)
<i>Megasphaera</i> -1	≤6.0	0 (low)
	>6.0	2 (high)

Sumber: Sha et al., 2005

Tabel 1.3 Cut-off Log 10 bakterial untuk *M. Hominis* (MH), *G. Vaginalis* (GV), *Lactobacilli* (L) dan Kombinasinya

Log ₁₀ bacteria	Cut points ^a identified to diagnose BV	Sensitivity (%) ^c	Specificity (%) ^c
MH	MH > 4.82 ^b	81 (80)	69 (72)
GV	GV > 6.81	83 (82)	70 (71)
L	L < 8.50	58 (56)	58
MH + GV	0.72MH + 0.28GV > 5.38 ^d	80 (79)	70 (72)
MH + L	-0.54MH + 0.46L < 1.30	79	78
GV + L	-0.44GV + 0.56L < 1.73	80	74
MH + GV + L	-0.31MH -0.29GV + 0.40L < 2.0	83 (82)	78 (79)

Sumber: Ravel et al., 2011

1. 3 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas maka diambil rumusan masalah “Bagaimana perbandingan mikrobiota Atopobium vaginae pada vagina Wanita HIV dan non-HIV dengan kuantitatif PCR?”

1.4 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan Umum



membandingkan jumlah mikrobiota Atopobium vaginae pada wanita HIV dan non-HIV di RS Wahidin Sudirohusodo Makassar jaringnya dengan kuantitatif PCR.

1.4.2. Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui jumlah *Atopobium* vagina dan pH pada vagina Wanita HIV di RS Wahidin Sudirohusodo Makassar dan RS jejaringnya dengan kuantitatif PCR
2. Untuk mengetahui jumlah *Atopobium* vagina dan pH pada vagina Wanita non-HIV di RS Wahidin Sudirohusodo Makassar dan RS jejaringnya dengan kuantitatif PCR
3. Untuk mengetahui hubungan antara usia, tingkat pendidikan, kebiasaan seks dengan jumlah *atopobium* vagina pada vagina Wanita HIV dan non-HIV di RS Wahidin Sudirohusodo Makassar dan RS jejaringnya dengan kuantitatif PCR
4. Untuk mengetahui perbandingan jumlah mikrobiota *Atopobium* vagina pada vagina Wanita HIV dan Non-HIV di RS Wahidin Sudirohusodo Makassar dan RS jejaringnya dengan kuantitatif PCR
5. Untuk mengetahui pengaruh pH vagina terhadap jumlah mikrobiota *Atopobium* vagina pada vagina Wanita HIV dan Non-HIV di RS Wahidin Sudirohusodo Makassar dan RS jejaringnya dengan kuantitatif PCR

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Manfaat di Bidang Pendidikan

Diharapkan penelitian ini dapat menambah pengetahuan mengenai mikrobiota *Atopobium vaginae* pada vagina wanita HIV dan non-HIV dengan kuantitatif PCR.

1.5.2 Manfaat di Bidang Penelitian

Hasil Diharapkan penelitian ini dapat menjadi masukan untuk penelitian selanjutnya, terutama penelitian untuk identifikasi pengukuran jumlah mikrobiota *Atopobium vaginae* pada vagina wanita HIV dan non-HIV yang lebih efektif dan efisien.

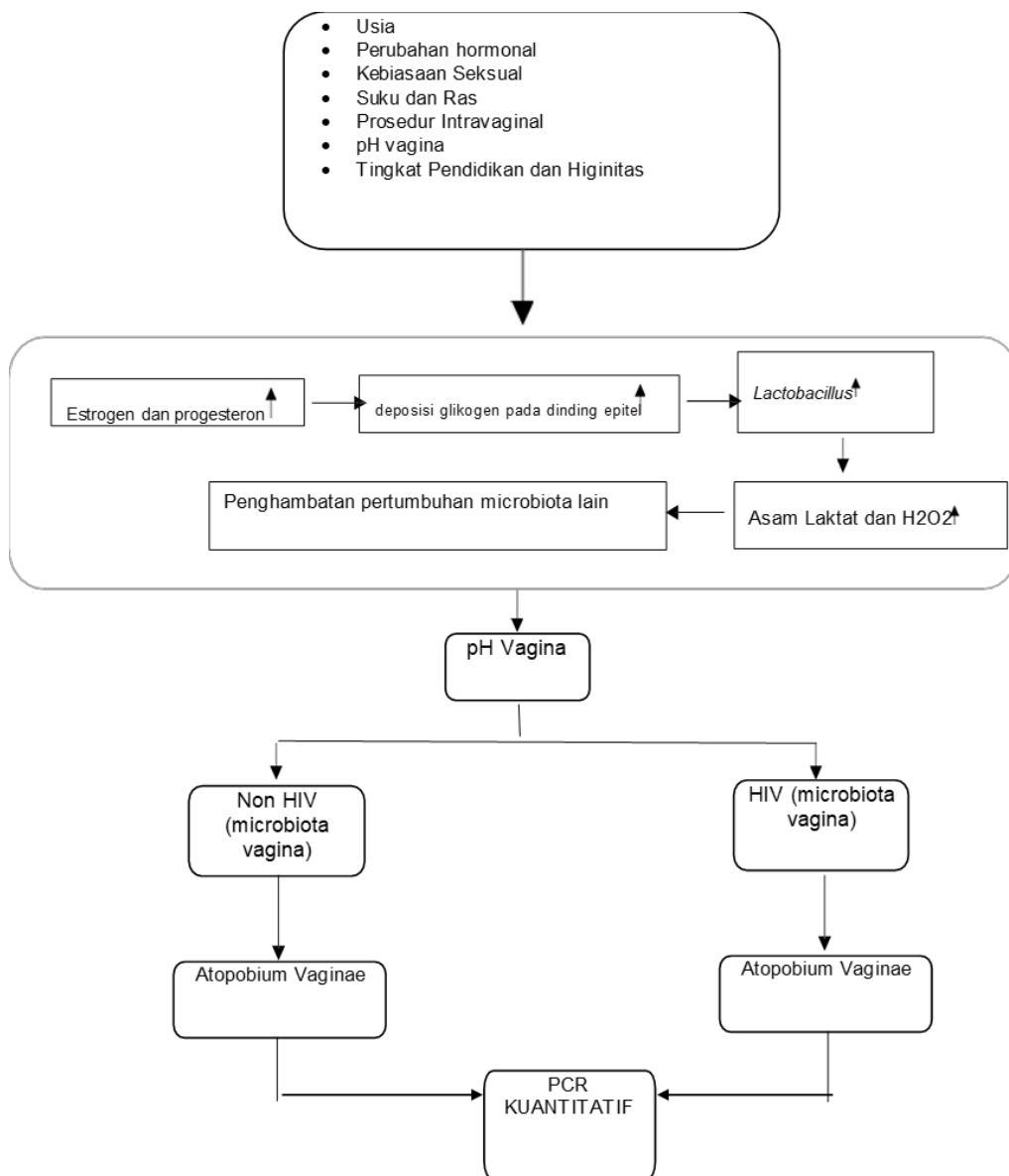
1.5.3 Manfaat di Bidang Pelayanan

Diharapkan jika hasil pengukuran jumlah mikrobiota *Atopobium vaginae* pada vagina wanita HIV dan non-HIV dengan kuantitatif PCR ini efektif, maka dapat dipertimbangkan untuk menjadi salah satu metode diagnosis rutin dalam pelayanan.



1.6 Kerangka Teori

Flora Normal Wanita dipengaruhi:

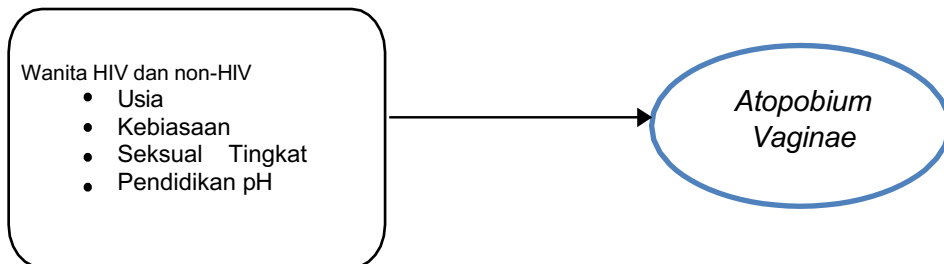


Gambar 1.6
Kerangka Teori



1.7 Kerangka Konsep

Untuk membuktikan hubungan antar variabel dalam penelitian ini dapat dilihat bagan konsep penelitian sebagai berikut:



Keterangan :



Variabel bebas

Variabel tergantung

Gambar 1.7 Kerangka Konsep

1.8 Hipotesis Penelitian

Hipotesis adalah dugaan sementara yang masih dibuktikan kebenarannya melalui penelitian. Berdasarkan beberapa pemaparan di atas maka pada penelitian ini diuraikan beberapa hipotesis:

- H1 Jumlah mikrobiota *Atopobium Vaginae* lebih banyak ditemukan pada vagina Wanita HIV dibandingkan pada vagina Wanita non HIV.
- H2 Ada hubungan antara usia, tingkat pendidikan, kebiasaan seksual terhadap mikrobiota *Atopobium Vaginae* pada vagina Wanita HIV dan non-HIV.
- H3 Ada hubungan antara pH vagina dengan jumlah *Atopobium Vaginae* pada Wanita HIV dan Wanita Non-HIV.

1.9 Definisi Operasional

1.9.1 Usia

Usia merupakan lamanya pasien hidup, sejak dilahirkan sampai dengan yang dinyatakan dalam satuan tahun. Usia dalam penelitian akan sesuai dari anamnesis. Usia disajikan dalam skala data



1.9.2 Suku

Suku ditentukan berdasarkan anamnesis. Suku disajikan dalam bentuk skala data nominal.

1.9.3 Tingkat Pendidikan

Tingkat pendidikan berdasarkan riwayat pendidikan terakhir pasien. Tingkat pendidikan dibagi menjadi SD, SMP, SMA, Perguruan Tinggi. Tingkat pendidikan disajikan dalam skala data nominal.

1.9.4 Jumlah Pasangan Seksual Seumur Hidup

Jumlah pasangan seksual seumur hidup didapatkan berdasarkan data anamnesis. Jumlah pasangan seksual seumur hidup dibagi menjadi kategori 1 dan > 1. Jumlah seksual seumur hidup disajikan dalam skala data nominal.

1.9.5 Frekuensi Berhubungan Seksual

Frekuensi berhubungan seksual merupakan frekuensi berhubungan seksual tiap minggu. Frekuensi berhubungan seksual dibagi menjadi <3 kali seminggu dan ≥3 kali seminggu. Frekuensi berhubungan seksual disajikan dalam skala data nominal.

1.9.6 Penyakit Komorbid

Penyakit komorbid merupakan penyakit lain yang menyertai pasien. Kondisi komorbid disajikan dalam bentuk skala data nominal.

1.9.7 pH Vagina

Variabel ini menilai pH vagina pasien berdasarkan pengukuran dengan pH indicator. pH vagina disajikan dalam bentuk skala data numerik.

